T.C.
HARRAN ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİMDALI

COVİD-19 HASTALARIN SERUMUNDA NEOPTERİN ENDOTELİN-1 ve NİTRİK OKSİT SEVİYELERİNİN İNCELENMESİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Osman ÇOBAN

DANIŞMAN

Doç. Dr. Nihayet BAYRAKTAR

ŞANLIURFA
2022

T.C.
HARRAN ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ BİYOKİMYA ANA BİLİM DALI

COVİD-19 HASTALARIN SERUMUNDA NEOPTERİN ENDOTELİN-1 ve NİTRİK OKSİT SEVİYELERİNİN İNCELENMESİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Osman ÇOBAN

DANIŞMAN
Doç. Dr. Nihayet BAYRAKTAR

ŞANLIURFA
2022

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim süresince bilgi ve deneyimlerini benden esirgemeyen, çalışmalarımın başından bitimine kadar bilgi ve deneyimlerinden istifade ettiğim, laboratuvar ve klinik çalışmalarının yürütülmesinde gerekli olanakları tüm desteği bana sağlayan ve yol gösteren değerli danışman hocam; Doç. Dr. Nihayet BAYRAKTAR'a, akademik çalışmalarda, laboratuvarda ve klinik deneyimlerinden faydalandığım, yüksek lisans yapmama vesile olan her zaman bana yardımcı olan değerli ve kıymetli hocamlarım Doç. Dr Ataman GÖNEL ve Doç. Dr İsmail KOYUNCU' ya Covit-19 pandemisi boyunca klinik çalışmalarda tercübesinden faydalandığım değerli hocam Dr. Öğr. Üyesi Mehmet Reşat CEYLAN 'a, ve tez süresi boyunca sürekli yanımda olan ve bana sabır gösteren sevgili eşim Aytül ÇOBAN'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Osman ÇOBAN

2022

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

TEŞEKKÜR ..... **.i**
İÇİNDEKİLER ..... **ii**
ŞEKİLLER DİZİNİ ..... **iv**
TABLOLAR DİZİNİ ..... **v**
SİMGELER DİZİNİ ..... **vi**
ÖZET ..... **vii**
ABSTRACT ..... **viii**
1.GİRİŞ **1**
2. GENEL BİLGİLER **4**
2.1. Koronavirüsler 4
2.2. SARS-COV-2'nin Virolojik Özellikleri 5
2.3. COVİD-19 Patofizyolojisi 7
2.3.1. SARS-COV-2'nin Konak Hücrelere İnvazyonu 7
2.4. Konağın SARS COV-2'ye Karşı Yanıtı 9
2.4.1.İmmun Yanıtlar 9
2.4.2. Antikor Yanıtlar 12
2.5. Tanı Bulgular ve Klinik 15
2.5.1. Numune Alınması 17
2.5.2. Mikrobiyolojik Testler 18
2.5.3. Serolojik Testler 19
2.5.4. Bilgisayarlı Tomografi Bulguları 20
2.5.5. Genel Klinik Özellikleri 23
2.5.6. Klinik Bulgular 26
2.6. Covid-19'da solunum Sistemi Genel Klinik Seyri ve Ciddi Solunum Yetmezliği Gelişimi 27
2.6.1. Ciddi Solonum Yetmezliği 28
2.6.2. Hiperkoagülasyon 28
2.7. SARS COV-2 Enfeksiyonuna Bağlı Kardiyovasküler Komplikasyonlar 30
2.7.1. Nörolojik 30
2.8. Covid-19 Hastalığının Tedavisi 31

2.8.1. Spesifik Tedaviler 31
2.8.2. Konvelesan Plazma ile Tedavi Desteği 34
2.8.3. Aşı Geliştirme Çalışmaları 34
2.9. Neopterin 37
2.10. Endotelin 39
2.11. Nitrik Oksit 40
2.11.1. Nitrik Oksitin Biyokimyası ve Özellikleri 40
2.11.2. Nitrik Oksit Sentezi 40
2.11.3. Nitrik Oksitin Yıkımı 41
2.11.4. Nitrik Oksitin Etkileri 41
3. GEREÇ ve YÖNTEM 42
3.1. Etik Kurul İzni 42
3.2. Çalışma Gruplarının Oluşturulması 42
3.3. Örneklerin Hazırlanması 42
3.4. Kullanılan Araç ve Gereçler 43
3.5. Neopterin Analizi 43
3.6. Nitrik Oksit Analizi 45
3.7. Endotelin Analizi 46
4. BULGULAR ve SONUÇLAR 49
5. TARTIŞMA ve SONUÇ 56
KAYNAKLAR 74
EKLER 89
- Etik Kurul .....
- Orjinallik Raporu .....
- Turnitin .....
- Tez Veri Giriş Formu .....

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa No

Şekil 2.1. Coronavirus'un Şematik Yapısı 4
Şekil 2.2. SARS-CoV-2 Virüsünün Elektron Mikroskobu Görüntüsü 6
Şekil 2.3. Sars Cov-2' nin Patogenezi 8
Şekil 2.4. Serolojik Test Şematik Gösterimi 20
Şekil 4.1. Değişkenlerin Ortalama Değerleri 52
Şekil 4.2. Nitrik Oksit Ölçüm Ortalamaları 53
Şekil 4.3. Nitrik Oksit Ölçüm Ortalamalarının Çizgi Grafiği 53
Şekil 4.4. Endotelin Ölçüm Ortalamaları 54
Şekil 4.5. Endotelin Ölçüm Ortalamalarının Çizgi Grafiği 54
Şekil 4.6. Neopterin Ölçüm Ortalamaları 55
Şekil 4.7. Neopterin Ölçüm Ortalamalarının Çizgi Grafiği 55

TABLOLAR DİZİNİ

Sayfa No

Tablo 2.1. Şiddetli COVID-19 Hastalarında Kanda Çalışılan Laboratuvar Testlerinde Gözlenen Değişimler ve Klinik Önemleri……..25

Tablo 2.2. Ayakta İzlenen Semptomatik Olmayan Fakat Kesin Tanılı Olgularda ve Nonkomplike/Hafif Pnömonili Olası/Kesin Olgularda Tedavi Yöntemleri……..……..32

Tablo 4.1. Değişkenlerin Tanımlayıcı İstatistikleri……..…49

Tablo 4.2. Sürekli Değişkenler Açısından Üçlü Grupların Karşılaştırılması…..50

Tablo 4.3. Değişkenler Arasındaki Korelasyonun Değerlendirilmesi…….51

Tablo 4.4. Tedavi Öncesi Grubunda Klinik Değişkenler Arasındaki Korelasyonun Değerlendirilmesi…….....51

Tablo 4.5. Tedavi Sonrası Grubunda Klinik Değişkenler Arasındaki Korelasyonun Değerlendirilmesi……...52

Tablo 4.6. Kontrol Grubunda Klinik Değişkenler Arasındaki Korelasyonun Değerlendirilmesi…….……..52

SİMGELER DİZİNİ

CoV	Koronavirüsler
RNA	Ribonükleikasit
RT-PZR	Gerçek Zamanlı-Polimeraz Zincir Reaksiyonu
GTP	GuanozinTrifosfat
IFN-gama	İnterferon Gama
ELISA	Enzim Linked İmmunosorbent Assay
HPLC	High Performance Liquid Chromatography
NO	Nitrik Oksit
NOS	Nitrik Oksit Sentaz
NADPH	Nikotin Amid Adenin Dinükleotid Fosfat
FMN	Flavin Mononükleotid
BH4	Tetra-Hidro-Biyopterin
SARS	Şiddetli Akut Solunum Sendromu
MERS	Orta Doğu Solunum Sendromu
ADE	Antibody-Dependent Enhancement
SARS-CoV-2	Ciddi Akut Solunum Sendromu Koronavirüs-2
MCP1	Monosit Kemoatraktan Protein 1
MYD88	Miyeloid Farklılaşması Birincil Yanıt Proteini 88
IRAK	İnterleukin-1 Receptor-Associated Kinase
RBD	Reseptör Bağlanma Bölgesine
PCR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
PAMP	Patojen İlişkili Moleküler Model
IRF-3	İnterferon Regulatory Factor 3
NF-κB	Nuclear Factor Kappa B
GM-CSF	Granülosit-Makrofaj Koloni Uyarıcı Faktör
TNF	Tümör Nekroz Faktörü
NAAT	Nükleik Asit Amplifikasyon Testleri
RAS	Renin-Anjiyotensin Sistemini
CDC	ABD Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezi
CPK	Kreatin Fosfokinaz

ÖZET

COVİD-19 HASTALARIN SERUMUNDA NEOPTERİN, ENDOTELİN-1 ve NİTRİC OKSİT SEVİYELERİNİN İNCELENMESİ

Osman ÇOBAN

Tıbbı Biyokimya Yüksek Lisans Tezi

Koronavirüs-19 hastalığı ilk olarak Çin'in Wuhan şehrinde tanımlanmış ve bu hastalık için en önemli bulaş yolu solunumsal çıkartılarla, damlacık yoluyla veya direkt olarak temastır. Covid-19 hastalığında semptomatik enfeksiyon, hafif seyirli klinik, orta şiddetli klinik ya da kritik hastalık arasında değişken spektrumda seyretmektedir. Neopterin; Guanozin trifosfattan sentezlenen unkonjuge bir pteridin türevidir ve hücresel immünitenin bir göstergesi olarak görülmektedir. Tüberküloz ve Romatoid Artrit gibi pek çok iltihabi hastalıklarda hücre aracılı bağışıklığın bir belirteci de olmuştur. Endotelinler çok geniş etki mekanizmasına ve fizyolojik etkilere sahiptirler. Güçlü vazokonstrüktördürler ve nöroendokrin fonksiyonların düzenlemesinde, aldosteron ve natriüretik hormon salınımının arttırılmasında, hücre büyümesinin ayarlanmasında etkili roller alırlar. NO, çok sayıda düzenleyici fonksiyonlar göstermesinin yanısıra, yaşamı tehdit edebilecek derecede ciddi toksik etkiler de göstermektedir. Bu özelliklerine ve fonksiyonlarına dayanarak; bu çalışmada neopterin, endotelin ve nitrik oksitin Covid-19 hastalık patofizyolojisi üzerindeki etkilerini anlamayı ve hastalığın gelişim mekanizmalarını araştırmayı amaçladık.

Çalışmaya Harran Üniversitesi Hastanesi Enfeksiyon Hastalıkları polikliniğine Covid-19 tanısı ile gelen 30 tedavi öncesi hasta, 30 tedavi sonrası hasta ve 30 sağlıklı gönüllü birey olarak 3 grup dahil edilmiştir.

Hastalardan alınan venöz kan örnekleri santrifüj edilip ayrılmış ve elde edilen örnekler ELİSA metodu ile çalışılmıştır.

Elde edilen sonuçlarda tüm gruplar için çalışmada araştırılan neopterin, endokelin ve NO düzeyleri sırasıyla yüksekten düşüğe: tedavi öncesi, tedavi sonrası, kontrol olarak sıralanmıştır. Bakılan parametrelerin tedavi öncesi grubunda tedavi sonrası gruba göre yüksek olması hastalığın immün sistemi aşikâr olarak uyardığı ve hastalık mekanizmasında inflamasyonun şiddetli rol oynadığını destekler niteliktedir. Ayrıca yine aynı şekilde tedavi sonrası grubun da tedavi öncesi grubuna göre daha düşük değerlere sahip olması da uygulanılan tedavilerin hastalığın inflamatuar sürecine ve patojenitesine etkili olduğunu desteklemektedir.

Aynı parametrelerin kontrol grubunda diğer iki gruba nazaran daha düşük olması da hastalığın neopterin, endotelin ve NO düzeylerinde belirgin artışa neden olduğunu kanıtlar niteliktedir. Ayrıca bu parametrelerin hastalığın tedavisi sırasında da etkin rol oynamaya devam ettiğini göstermektedir. Yaptığımız çalışmayla bilim dünyasına katkıda bulunmayı ve Covid-19 tedavisinin daha anlaşılır olmasını hedefledik. Ve bakılan parametrelerin Covid-19 hastalığında takip edilebilir olduğunu tespit ettik.

Anahtar kelimeler: Covid-19, Neopterin, Endotelin, Nitrik Oksit

ABSTRACT

INVESTIGATION OF NEOPTERIN, ENDOTHELIN-1 and NITRIK OKSIT LEVELS IN SERUM OF COVID-19 PATIENTS

Osman ÇOBAN

Department of Medical Biochemstery, Master's Thesis

The coronavirus-19 disease was first identified in the city of Wuhan, China, and the most important mode of transmission for this disease is contact with respiratory tracts, droplets, or directly. Symptomatic infection in Covid-19 disease varies between mild clinical, moderate clinical or critical illness. Neopterin; It is an unconjugated pteridine derivative synthesized from guanosine triphosphate and is seen as an indicator of cellular immunity. It has also been a marker of cell-mediated immunity in many inflammatory diseases such as tuberculosis and rheumatoid arthritis. Endothelins have a very broad mechanism of action and physiological effects. They are potent vasoconstrictors and play an effective role in regulating neuroendocrine functions, increasing aldosterone and natriuretic hormone secretion, and regulating cell growth. In addition to showing many regulatory functions, NO also shows serious toxic effects that can threaten life. Based on these features and functions; In this study, we aimed to understand the effects of neopterin, endothelin and Nıtrık oksıt on Covid-19 disease pathophysiology and to investigate the development mechanisms of the disease.

Three groups, 30 pre-treatment patients, 30 post-treatment patients, and 30 healthy volunteers, who came to the Harran University Training, Research and Application Hospital Infection out patient clinic with the diagnosis of Covid-19 were included in the study.

Venous blood samples taken from the patients were centrifuged and separated and the obtained samples were studied by ELISA method.

In the results obtained, the neopterin, endotelin and NO levels investigated in the study for all groups were listed from high to low: before treatment, after treatment, and control. The fact that the measured parameters were higher in the pre-treatment group compared to the post-treatment group supports that the disease overtly stimulates the immune system and inflammation plays a severe role in the disease mechanism. In addition, the fact that the post-treatment group had lower values compared to the pre-treatment group also supports that the treatments applied are effective on the inflammatory process and pathogenicity of the disease.

The fact that the same parameters were lower in the control group than in the other two groups proves that the disease causes a significant increase in neopterin, endothelin and NO levels. It also shows that the separameters continue to play an active role during the treatment of the disease. With our study, we aimed to contribute to the world of science and to make the treatment of Covid-19 more understandable. And we found that the parameters looked at are traceable in Covid-19 disease.

Keywords: Covıd-19, Neopterın, Endothelın, Nıtrık Oksıt

1. GİRİŞ

Koronavirüsler (CoV), Coronaviridae'nin Orthocoronavirinae alt familyasına dahil tek zincirli, pozitif polariteli (RNA bağımlı RNA polimerazı olmayan) ve zarflı RNA virüsleridir. Sahip oldukları genom 26 kb ila 32 kb arasında değişmektedir, ortalama çapı 60-140 nm ve yüzeylerinde çubuksu uzantıları mevcuttur (1-3).

COVİD-19 Çin'in Wuhan kentinde tanımlanmış bir hastalıktır ve virüs 2019' da CoV adını almıştır. Sonrasında ise virüs SARS-CoV'eçok benzediği için SARS-CoV-2 olarak isim değişikliğine gidilmiştir. Bu hastalık için en önemli bulaş yolu solunumsal çıkartılarla, damlacık yoluyla veya direkt olarak temastır. Ayrıca daha önceki Corona viruslarin ölüm oranları daha yüksek olup yeni karşılaştığımız SARS-CoV-2'nin ölüm oranı ise % 3-4 civarında olacağı tahmin edilmektedir (1-4).

SARS-CoV-2 enfeksiyonunun mikrobiyoloji laboratuvar tanısında altın standart, doğru şartlar ve şekilde alınmış numunelerde viral RNA'nın RT-PZR (gerçek zamanlı revers transkriptaz-polimeraz zincir reaksiyonu) ile tespitidir. Klinikte antijenlere dayanan testlerin kullanımı özgüllük ve duyarlılıklarının düşük olması sebebiyle önerilmemektedir. COVID-19 tanısının laboratuvar şartlarında erken ve doğru konulması, hasta ve/veya taşıyıcı kişilerin çabuk tanımlanması, tedavi ve izolasyonun sağlanması, temaslıların takibini de içeren hasta/hastalık yönetimi, viral bulaşın olabildiğince engellenmesi, enfeksiyon kontrol stratejileri geliştirilmesi, genel olarak pandeminin yavaşlatılması gibi birçok konuda büyük öneme sahiptir.

Semptomatik enfeksiyon, hafif seyirli klinik (pnömoninin olmaması veya hafif gelişmesi), orta şiddette klinik (hipoksi, dispne, ilk 48 saat içinde görüntülemede %50'yi aşan akciğer tutulumu vb), ya da kritik durum (şok, solunum yetmezliği veya çoklu organ hasarı vb) arasında değişken spektrumda seyretmektedir. Bununla birlikte; enfeksiyonların çoğu şiddetli seyretmemektedir. Şiddetli veya ölümcül enfeksiyonların oranı bölgeye göre değişmektedir çünkü her bölge farklı yaşam tarzına ve farklı demografik yapıya sahiptir. Tedavide ise hastanın semptomları ve durumu göz önüne alınarak farklı kombinasyonlar verilmektedir. Ayaktan tedavi edilecek hastalara

hidroksiklorokin önerilmiş; yatarak tedavi gören hastalarda ise hidroksiklorokin, azitromisin, favipavir, lopinavir, ritonavir vb. ilaçlar önerilmiştir (1,2)

Neopterin; Guanozintrifosfattan (GTP), GCH-1 enzimiyle sentezlenen unkonjuge bir pteridin türevidir (6). GCH-1 enziminin aktivitesi, T lenfositlerden salıverilen interferon gama (IFN-gama) ile stimüle edilir (7). Bu sebeple Neopterin hücresel immünitenin bir göstergesi olarak görülmektedir. Aktive edilmiş T lenfositlerden salıverilen IFN-gama, makrofajların neopterin üreterek, vücut sıvılarında yoğunluğunun artmasına sebep olur ve ayrıca bu artış, tüberküloz ve Romatoid Artrit gibi pek çok iltihabi hastalıklarda hücre aracılı bağışıklığın bir belirteci de olmuştur. Neopterinle yine bu hücrelerden serbest oksijen radikallerinin üretimi arasında da bir ilişki mevcuttur (5-7).

Neopterin düzeyleri vücutta protein içeren her türlü sıvıda ölçülebilir ve bu ölçümler tercihen Enzim Linkedimmuno Sorbent Assay (ELISA), Radyo İmmun Oassay (RIA) ve High Performance Liquid Chromatography (HPLC) gibi immünolojik yöntemlere dayanan testlerle yapılmaktadır (8,9). Neopterin böbrekler sayesinde elimine edilerek vücuttan idrar yoluyla atılır (10). Klirensi inülin klerensinden daha yüksek olmasından dolayı, neopterin muhtemel olarak sadece glomerüler filtrasyon yoluyla değil, ayrıca tübüler sekresyon yoluyla da atılabilir (11).

Endotelinler çok geniş etki mekanizmasına ve fizyolojik etkilere sahiptirler. Güçlü vazokonstrüktördürler ve nöroendokrin fonksiyonların düzenlemesinde, aldosteron ve natriüretik hormon salınımının arttırılmasında, hücre büyümesinin ayarlanmasında etkili roller alırlar. ET'ler ayrıca ET-A reseptörü üzerinden osteoblastik hücre mineralizasyonunu da inhibe ederek kemik metabolizmasında da yer alırlar (12).

Nitrik oksit, son yörüngesinde eşleşmemiş bir elektron bulundurması nedeniyle, diğer moleküllerle kovalan olarak bağlanabilen bir serbest radikaldir (13). Çok ciddi derecede toksik bir gaz olan NO serbest radikal yapısında olduğu için yarı ömrü çok kısadır. Diğer serbest radikallerden farkı ise NO'in düşük konsantrasyonlarda önemli

fizyolojik fonksiyonlarda rol alıyor olmasıdır. NO, normal koşullarda sabit anyonik ürünleri olan nitrit ve nitrata okside olmaktadır.

Serbest bir radikal olan NO, nitrik oksit sentaz (NOS) enzimlerince, L-arginin aminoasitinin merkezi guanidin grubunun NO molekülüne çevrilmesi yoluyla sentez edilir. Sözü edilen dönüşüm esnasında moleküler oksijenle birlikte redükte nikotin amiddenin dinükleotid fosfat (NADPH), flavin adenin dinükleotid (FAD), flavinin mono nükleotid (FMN) ve tetra-hidro-biyopterin (BH4), kalmodulin ve hem molekülüne ihtiyaç duyulmaktadır (13).

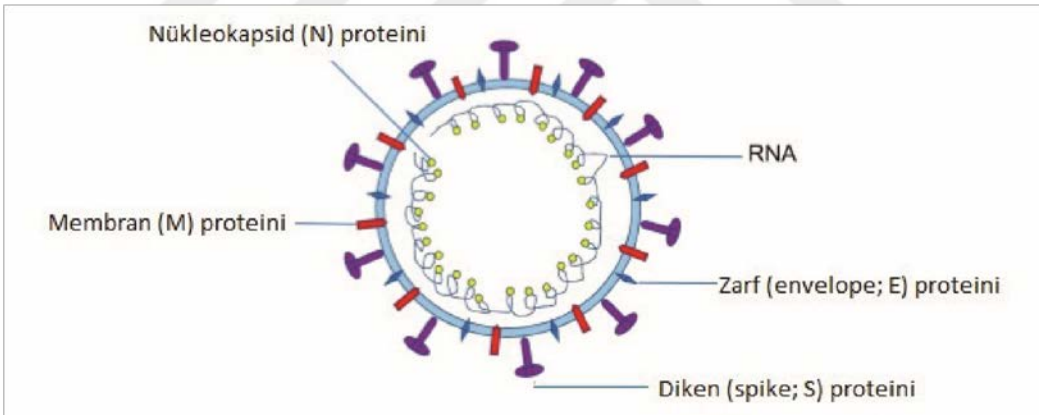
NO, çok sayıda düzenleyici fonksiyonlar göstermesinin yanısıra, yaşamı tehdit edebilecek derecede ciddi toksik etkiler de göstermektedir (14). Bu özellikler kısaca antioksidanların tüketilmesi, bazı enzimlerin inhibisyonu (Akonitaz, katalaz, sitokrom-p450 vb), DNA hasarı, lipid peroksidasyonu ve diğer toksik etkenlere duyarlılığın artırması vb. olarak sıralanabilir.

2019 yılında ortaya çıkan SARS-CoV-2 ve COVİD-19 hastalığı henüz tam anlamıyla anlaşılamamış ve her yöntem tanımlanmamıştır (15). Yaptığımız araştırmada bu konuda COVİD-19 için neoptrein, endotelin ve NO'in etkileri araştırılmamış olup araştırmaya değer görülmüştür. Bu konuda çalışma yaparak bilim dünyasına ve Covid-19 tedavisine yönelik katkılar sunmayı ve neopterin'in, endotelin'in ve NO'in Covid-19 hastalığındaki etkilerini ve hastalık mekanizmasında rol alıp almadıklarını; rol alıyorlar ise nasıl birer rol oynadıklarını anlamak için bu çalışmayı amaçladık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Koronavirüsler

Koronavirüsler, Coronaviridae ailesinden Orthocoronavirinae alt familyasına mensupzarflı, tek zincirli, pozitif polaritel sahip RNA virüsleridirler ve polaritelerinden dolayı RNA bağımlı RNA polimeraz enzimine sahip değillerdir, ancak yine de genetik yapılarında bu enzimi kodlamaktadırlar. Bu genomun boyutu 26 kb ila 32 kb arasında değişmektedir (1-3). Virüsün, ortalama çapı 60-140 nm veyüzeylerinde çubuğa benzeyen uzantılar bulunur ve bunlardan ilhamla Latince'de taç anlamına gelen "corona" kelimesinden ilhamla bu virüsler Coronavirus (yani taçlı virüsler) olarak adlandırılmıştır (2).



Şekil 2.1. Coronavirus'un şematik yapısı**(2)**

Orthocoronovirinaea familyası Alfa, Beta, Gama ve Delta Coronavirus olarak dört cinse ve birçok alt cinse daha ayrılmaktadır. Sözü edilen cinslere dâhil olan virüsler domuz, yarasa, köpek, kedi, kemirgen, kanatlılar ve insanlara bulaşabilmektedir (2). Bu cinsler arasındaki genom benzerliği yaklaşık %55 kadar olup yapının kodlandığı gen lokusları birbirlerinden oldukça bariz farklıdır. Bu durum koronavirüslerin çeşitli konaklarda uyum sağlayıp yaşayabilmesine imkan verir (3).

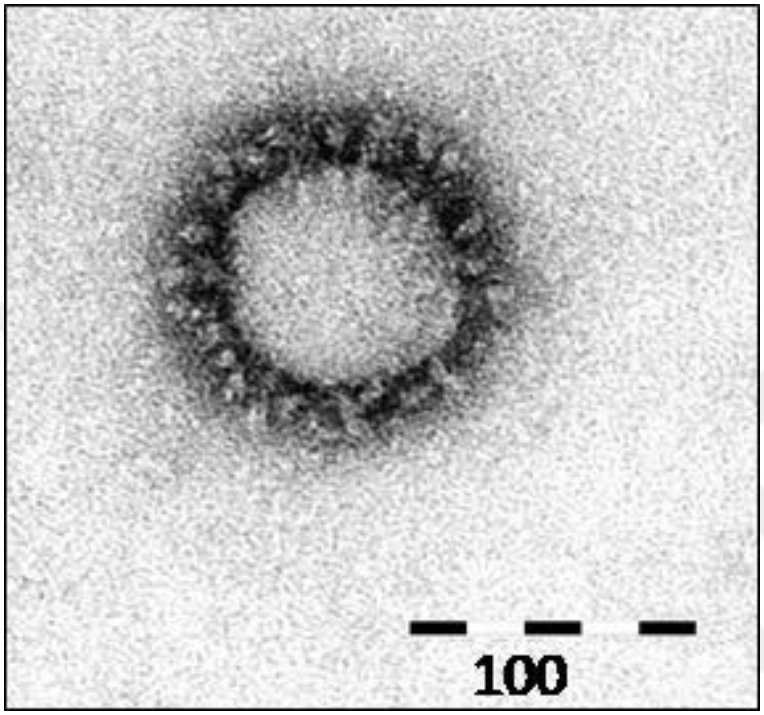
Hem alfa hem de beta coranavirusların memeli canlılara bulaşabildiği bildirilmiştir; beta coronavirusların sebebiyet verdiği bilinen yakın zamandaki pnömoni salgınları, SARS (şiddetli akut solunum sendromu) ve MERS (Orta Doğu Solunum Sendromu)'tir. SARS-CoV'un yayılımı 2002 yılında Çin'den başlamış ve ardından hızla dünyaya yayılarak %10-11 oranında mortaliteye neden olmuştur. 2012'de ise %37 mortaliteye sahip Suudi Arabistan'da ortaya çıkan MERS-CoV, yine Arabistan'dan başka ülkelere sıçramıştır. (1) Coronavirus türleri genellikle dış ortam şartlarına dayanıksızdır. Ortamdaki nem oranına, sıcaklığa vb faktörlere oldukça duyarlıdırlar (1,2).

2.2. SARS-COV-2'nin Virolojik Özellikleri

COVID-19 ilkin Çine bağlı Hubei eyaletindeki Wuhan'da saptanmıştır. Etiyolojisi anlaşılamayan ve hastalar arasında ortak semptomlar taşıyan pnömoni şikâyetiyle hastanelere başvuranların sayılarındaki artışın farkına varılması ve viral etkenin tanımlanması 25-30 günlük bir süre içinde gelişmiştir. İlkin 2019'da CoV adıyla anılan hastalık daha sonraları isim değişikliğine gidilerek COVID-19 olarak anılmış, etken de SARS-CoV'a çok benzediği için SARS-CoV-2 diye adlandırılmıştır. COVID-19 hastalığı için en önemli bulaş yolu semptom göstermeyen taşıyıcıların ve semptomatik hastaların solunumsal çıktıları, damlacıkları veya direkt olarak temasıyla. İnsanlar arası hızlı ve kolay bulaşı hastalık kontrolündeki en büyük güçlüktür. Yayılımına engel olmak amacıyla tüm dünyada çok büyük tedbirler alınmış olmasına rağmen bu hastalık, sağlık sistem işleyişi ve insanların sağlık ve hayatları için tehdit haline gelmiştir. COVID-19 solunum sisteminin yanında diğer sistemlerin tutulumuyla giden bir tablodur (2-4).

COVID-19'a sebebiyet veren SARS CoV-2, koronavirüs ailesine bağlı olan, ciddi solunum yetmezliğine sebep olanbir zarflı RNA virüsüdür. Sanger, Illumina ve nanopore sekanslama yöntemlerinin kombinasyonuyla bronkoalveoler lavaj örneklemelerinde SARS-CoV-2ilk tam genomu ve üç farklı suşu tespit edilmiştir. SARS-CoV-2, Coronaviruslerin tipik özelliklerine sahip olup sınıflamada Betacoronavirus 2b soyunda bulunmaktadır. Ayrıca bu suşların ve Betacoronavirus

genomlarının, yarasa SARS benzeri Coronavirus izolatı olan Bat-SL-CoVZC45 benzerlikleri gösterilmiştir. Daha önceki Coronavirusların ölüm oranları daha yüksektir, yeni karşılaştığımız SARS-CoV-2'nin ölüm oranı ise % 3-4 civarında olacağı tahmin edilmektedir (1-4).



Şekil 2.2. SARS-CoV-2 virüsünün elektron mikroskobu görüntüsü (16).

SARS-CoV-2, ortalama 60-140 nm çapı olan yuvarlağımsı ve etrafı çıkıntılarla sarılı zarflı bir RNA virüsüdür. Koronavirüs genom boyutu 40 kb olup, RNA virüsüne göre büyük sayılabilir. SARS-CoV-2'nin genom ve özellikleri diğer beta-koronavirüslerle benzerlik gösterir ve 10 farklı ORF (open reading frame) barındırır. ORF1a/b; poliprotein/1a-1ab adlı iki yapısal olmayan poliproteini kodlamaktadır. Bu poliproteinler, daha sonra replikasyon-transkripsiyon sistemine ait 16 yapısal olmayan proteine (nsp1-nsp16) dönüşür. (3,4)

Nsp1-16, ER'dan gelişen membranları, viral yapının çift katmanlı zarfını oluşturan veziküllere dönüştürür. Viral replikasyon-transkripsiyon olayları veziküllerin içerisinde yapısal olmayan proteinlerin geliştirdiği replikasyon-transkripsiyon sistemi

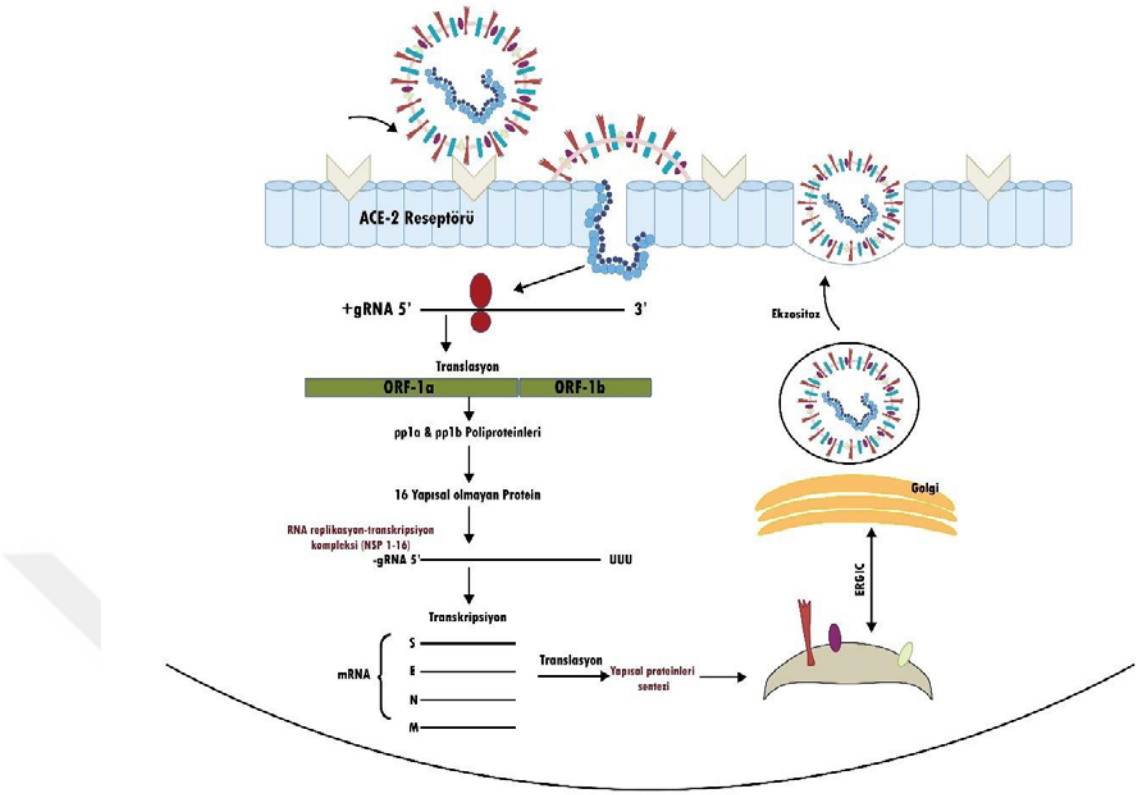
aracılığıyla sağlanır. Kalan ORF'lerse yapısal ana 4 protein kodlar; bunlar nükleokapsid (N), spike (S), membran (M) ve envelop (E) proteinleridir. (3,4)

Koronavirüsün yapısal 4 farklı proteini viral yaşam döngüsünde ciddi işlevlerde rol alır. Viral dış yüzeydeki çıkıntı alanları sağlayan S-protein homo trimeri hedef hücrenin membran yüzeyine bağlanmadan sorumlu proteindir. Viriona şekil vermede ve nükleokapsid bağlanmada M proteini rol alır; viral parçacığın oluşturulup tomurcuklanmayla yapıdan ayrılma olayından da sorumludur. E proteini ise virüsün toparlanması ve salınmasında ayrıca en önemlisi patogenezden sorumludur. Viral N proteini de birçok işlevde yer almaktadır. N proteini iki farklı bölge üzerinden viral RNA'ya bağlanabilme yeteneğine sahiptir. Nsp3 sayesinde genomun birleştirilip virion içinde paketlemesini sağlar. Bunların yanısıra çeşitli hücreiçi defans sistemlerine rağmen viral yapının bütünlüğünü korumada ciddi önem taşır (16).

2.3. COVİD-19 Patofizyolojisi

2.3.1. SARS-CoV-2'nin Konak Hücrelere İnvazyonu

SARS-CoV'da olduğu gibi SARS-CoV-2 de pek çok değişen mekanizmayla hücre içine sızabildiği izlenmiştir. Sızma mekanizmalardan ilki ve de en önemlisi SARS-CoV-2'nin ACE2 reseptörleri sayesinde yaptığı direkt membran füzyonudur. (3) Virüs ile konakçı arasındaki hayat döngüsü bağlanma, penetrasyon, biyosentez, olgunlaşma ve salıverme olarak 5 adımdan oluşur. Virüs konağın reseptörlerine bağlandığında (bağlanma), endositoz ya da penetrasyon (membran füzyonu) yoluyla konakçı hücrelere sızar. Virüsün içeriği konakçı hücrenin içine bırakıldığı zaman, viral RNA replikasyonu gerçekleştirmek amacıyla hücre çekirdeğine sızar. Viral mRNA, virüs proteinlerinin biyosentezi için kullanılır ve ardından yeni viral parçacıklar olgunlaşır sonrasında salınır (3,16,17).



Şekil 2.3. Sars cov-2' ninpatogonezi(19)

Koronavirüsler dört yapısal proteine sahiptirler; Spike (S), zarf (E), membran (M) ve nükleokapsid (N). S protein, virüslerin, konak tropizminin çeşitliliğini belirleyen, çıkıntı yapan bir transmembran trimetrik glikoproteindir. Spike'ın iki işlevsel alt birime sahiptir; S1 birimi, konak hücre reseptörüne bağlanmadan, S2 birimi ise membranların füzyonundan sorumludur. Anjiyotensin dönüştürücü enzim 2'nin (ACE2), SARSCoV'de işlevsel bir reseptör olarak önemi ve viral yükün çoğalmasında da rol aldığı gösterilmiştir. ACE2, akciğer epiteli, kalp, ileum, böbrek ve mesanede yüksek oranda eksprese edilen bir enzimdir (3,16,17).

SARS-CoV-2, hücrenin yüzeyine temasının ardından, viral inklüzyon cisimcikleri halinde hücre içine girer. Membran füzyonunun dışında klatrin bağımlı/bağımsız olarak endositoz mekanizmalarının varlığı gösterilmiştir. Hücre içine dahil olan tek zincirli pozitif polariteli RNA genomu sitoplazmaya salınır ardından virüse ait ürünlerin transkripsiyonu-translasyonu gerçekleştirilir (3,16,17).

SARS-CoV-2'nin hücre içine başka giriş yoluysa ADE (antibody-dependent enhancement/antikor-bağımlı güçlendirme) olabilir. ADE, daha önceleri dengue, insan immün yetmezlik (HIV), ebolave SARS-CoV gibi bazı viralin feksiyonlarında tanımlanmıştır. SARS-CoV-2, anti-Spike antikorları varken, yüzeyinde Fc-γ-2 (CD32) reseptörü olan hücrelere antikor-virüs kompleksi olarak girer; bu olayı takiben sitopatik etki görülür. ADE sayesinde monosit-makrofaj hücrelere giren SARS-CoV, sitokin/kemokin salınımına ve apopitoza etkiler gösterebileceği düşünülmektedir (3,17).

2.4. Konağın SARS-CoV-2'ye Karşı Yanıtı

2.4.1. İmmün Yanıtlar

Koronavirüs infeksiyonunda immün yanıt çeşitli mekanizmalarla gerçekleşmektedir. Doğal immün yanıttaki en mühim faktör virüsün lipid, protein ve nükleik asit formundaki PAMP (pathogen-associated molecular pattern) yapılarının TLR (toll-benzeri reseptörlerce) tanınmasıdır. Viral S proteininin TLR4, ssRNA'nın TLR7/8 ve replikasyonda esnasında ortaya çıkan dsRNA'nın ise TLR3 ile tanınabileceğii düşünülmektedir. TLR-3 ve 4, TRIF (toll-interleukin 1 receptor domain-containing adapter-inducing interferon-β) ve TRAM (TRIF-related adapteur molecule) molekülleriyle IRF-3 (interferon regulator yfactor 3)'ü uyarmakta ve ardından IRF3, çekirdeğe ulaşarak interferon (IFN) üretimini başlatmaktadır (3,17).

TLR7/8 ve TLR4 ise MYD88 (myeloid differentiation primary response 88) molekülüyle IRAK (interleukin-1 receptor-associated kinase)'ı uyarmaktadır. IRAK; NF-κB (nuclear factor kappa B) aracılığıyla pro-inflamatuvarsitokin ve kemokin üretimini başlatmaktadır. Özetlersek, hücreler içlerindeki başka kaynaklı ya da bozuk yapıları saptayabilmekte ve bu hatanın düzeltilibilmesi amacıyla komşu hücrelere uyarı göndermektedir. Anlatılan mekanizmalar, enfeksiyöz ajana karşı uyarılan doğal immün sistem yanıtının birer bileşenleridir (3,17).

Koronavirüsler, tanınmamak için PAMP yapılarını gizleme yeteneğine veya hücreiçindeki reseptörlerce tanımanmayı engelleyen çeşitli mekanizmalara sahiptir. Bu

engelleyici mekanizmalardan bir kaçı çift katmanlı endozomal yapılar arasında saklanmak, infeksiyon gelişimine bağlı IFN yanıtının düzey ve zamanlamasını bozmak olarak sayılabilir. Antijenlerin sunumu immün yanıtta kilit bir uyarıcıdır (3,17).

Geçmişteki SARS ve MERS salgınlarından elde edilen bilgi ve tecrübelere bakılacak olursa, SARS-CoV'ün antijen sunumu temelde MHC Class1 aracılığıyla yapılmaktadır. SARS-CoV'a yatkınlığı arttırmasıyla bilinen MHC tipleri, HLA-B*0703, HLA-B*4601, HLA-Cw*0801 ve HLA-DR B1*1202 olarak tespit edilmiş; HLA-Cw1502,HLA-DR0301 ve HLA-A*0201 allellerini taşıyan bireyler bu hastalığa karşı dirençli olmuştur. Yine antijen sunumuyla alakalı olarak MBL (mannoz bağlayan lektin) geninin lokusundaki polimorfizmler, aynı şekilde SARS-CoV'a yatkınlık oluşturabilmektedir. MERS-CoV için yatkınlığa neden olan genler ise HLA-DRB1*11:01-HLA-DQB1*02:0 olarak saptanmıştır (3).

Koronavirüsler, her ne kadar kendilerine özgül IFN aracılı immün cevaplara duyarlı olsalar da tip I IFN aracılı ölmeye dirençli olmak için çeşitli mekanizmalara sahiptirler. Bunlar sayesinde konağın immün denetiminden kaçar ve ağır hasarlar bırakabilirler. IFN cevabı SARS-CoV-2 infeksiyonu sınırlandırmak amacıyla önemli olsa da birçok sebepten dolayı IFN yanıtları gecikmektedir. Geciken IFN yanı sitokin fırtınası ile ilintili olabilir. Beyaz kan hücreleri de virüsten kaynaklanan hasarın sınırlandırılması açısından önemli rol oynamaktadırlar (3,17).

SARS-CoV-2 ile enfekte olan hastalarda, minimal semptomlar gelişiminden çoklu organ yetmezliğiyle birlikte ciddi solunumsal yetmezliğe kadar değişen tablolar görülmekte. BT taramasında, akciğerlerde karakteristik buzlu cam opasifikasyonu semptom göstermeyen hastalarda bile görülebilir. ACE2, akciğerde alveolar boşlukta yer alan hücreler olan epitellerin apikal yüzeylerinde yüksek miktarda eksprese edildiği için, SARS-CoV-2 epitel hücrelerine sızabilir ve onları yok edebilir. Bu durum da erken akciğer hasarının genellikle distal hava yolunda görülmesi olgusuyla örtüşmektedir (16,17).

Epitelyal hücreler, alveolar makrofajlar ve dendritik hücreler (DC'ler), solunum sisteminde doğuştan gelen bağışıklığın üç ana elemanıdır. DC'ler epitelin altında makrofajlar ise epitelin apikal tarafında bulunurlar. DC ve makrofaj hücreleri, edinsel bağışıklık hazır olana dek virüslerden korunma için doğuştan gelen bağışıklık elemanları göreviyle hareket ederler (16,17).

Edinsel bağışıklıkta rol oynayan T lenfosit yanıtları, DC'ler ve makrofajlar aracılığıyla antijen sunumuyle başlatılır. SARS-CoV ayrıca ACE2'ye ek olarak dendritik hücreye özgü hücreler arası adezyon molekülü-3'ü yakalayan non-integrin (DC-SIGN) ve DC-SIGN ile ilişkili proteine (DC-SIGNR, L-SIGN) de bağlanabilmektedir. DC-SIGN, dendritik hücreler ve makrofajlarda yüksek oranda ekspresyon gösterir. Antijen sunan hücreler (APC), viral antijenleri T hücrelerine sunmak için lenfatik sisteme katılmak üzere lenf düğümlerine doğru hareket ederler. CD4+ ve CD8+ T lenfositler de kritik öneme sahiptir. CD4+ T lenfositler, virüse karşı spesifik antikor üretimini teşvik etmek için B lenfositleri aktive ederken, CD8+ T lenfositleri de virüs ile enfekte hücreleri öldürmekle sorumludur (3,16,17).

SARS-CoV infeksiyonunda akciğeri infiltre eden hücrelerden büyük çoğunluğu CD8 (+) sitotoksik T lenfositlerdir. SARS-CoV-2 infeksiyonunda da T hücre yanıtları önemli olup COVID-19'da lenfopeni gelişen hastalarda, bu durumun prognoz için önemi bilinmektedr. Ayrıca hastalarda periferik CD4/CD8 (+) hücrelerin oranı değişkenlik göstermemektedir (3,16,17).

İnsanlarda, SARS-CoV'a özgü bellek T lenfositler, infeksiyon sonrasında altı yıla dek kanda tespit edilebilmiştir bununla beraber spesifik bellek B lenfosit yanıtında bir eksiklik göze çarpmaktadır. SARS-CoV-2 açısından uzun dönemi kapsayan verilerin elde edilmesi elzem olsa da eldekiler günümüz için T lenfosit aracılı immün cevabın tekrar viral infeksiyon oluşumundan korunmada önem taşıdığını göstermektedir (3).

Yapılan çalışmalarda ağır hastalarda lenfopeni, özellikle periferik kan T lenfositlerinde azalma; interlökin (IL)-6, IL-10, granülosit-koloni uyarıcı faktör (G-CSF), monosit kemoatraktan protein 1 (MCP1), makrofajının flamatuar protein dahil

olmak üzere proinflamatuar sitokinlerin plazma konsantrasyonlarında artış tespit edilmiştir. Semptomlar ağırlaştıkça IL-6 seviyeleri yükselmiştir. CD69, CD38 ve CD44'ün daha yüksek ekspresyonunun görüldüğü bu hastalarda CD4+ ve CD8+ T lenfosit uyarımı artmıştır. Ayrıca T lenfosit sayılarının giderek azalması, hastalığın seyrinin ağırlaşmasına yol açmış olabilir. Bir başka ilginç bulgu ise ağır durumda olan bu hastalarda interferon (IFN)-y ve granülosit-makrofaj koloni uyarıcı faktör (GM-CSF) eksprese eden anormal patojenik CD4+ T hücrelerinin görülmüş olmasıdır. (16) Daha önce viral enfeksiyonunlarda bir yanıt olarak T hücrelerinden GM-CSF eksprese edildiği bilinmektedir. GM-CSF, primer bağışıklık hücrelerini farklılaştırmaya ve T hücre fonksiyonunu artırmaya yardımcı olan, fakat aşırı miktarda üretildiğinde doku hasarını başlatan bir faktördür (3,16,17).

Şiddetli vakalarda solunum semptomlarına ek olarak tromboz ve pulmoneremboli gözlenmiştir. Bu, ağır hastalarda yüksek d-dimer ve fibrinojen düzeylerinin varlığıyla uyumludur. Endotelin işlevi vazodilatasyon, fibrinoliz ve anti-agregasyonun teşvik edilmesidir. Endoteltrombotik düzenlemede önemli birfonksiyona sahip olduğu için, ağır seyreden hastalıklarda görülen hiper pıhtılaşma durumları muhtemel olarak ciddi endotel hasarına işaret eder. Ayrıca endotel hücreleri de ACE2 eksprese eder ve akciğer hücrelerinin üçte biri kadardır. ACE2'nin virüsün invazyonu esnasında hücre içine alınması ve parçalara ayrılması renin-anjiyotensin sistemini (RAS) etkileyip, AT-2 miktarında artışa neden olmaktadr. Endotel hücrelerinin infekte olması sonucunda oluşan endotelit, apoptoz ve RAS arasındaki dengede oluşan bozulma; ödem,iskemi, hiperkoagülabilite ve benzeri pek çok soruna neden olmaktadır. Bunun yanında SARS-CoV-2, hastalardaki hipertansif kriz ve inme gibi bulgularla ilintili olabilir (3,16).

2.4.2. Antikor Yanıtları

Bilimsel çalışmalar, hümoral bağışıklığın persistan korona virüsin feksiyonununa karşı korunmada gerekli olduğunu ortaya koymuştur. Geçmişte MERS geçirip iyileşen hastalarda birçok farklı antikor tespit edilmiştir. MERS-CoVhakkında yapılan çalışmalarda fareler üzerinde en azından 20 farklı antikorın etki gösterebileceği tespit edilmiştir. Blokör etkili bu antikorlar genel olarak virüsün Spike protein ve virüsün

hücre içine girerken kullandığı bölgeye özel oluşturulan antikorlardır. MERS-CoVla infekte olan bazı primatlarda monoklonalantikor tedavisinin hastalığın şiddetinde azalmaya neden olduğu; yüksek titrasyon dahi perimmn plazmanın uygulamasıyla solunum yollarında viral yükün azaldığı ve hastalığın şiddeti üzerinde azalma sağladığı görülmüştür. Monoklonal antikorlarınsa hastalık şiddetinde azalma sağlamasına rağmen solunum yollarındaki etken yüküne anlamlı etki bırakmadığı anlaşılmıştır (3,16,17).

SARS-COV-2 enfeksiyonu geçirilirken, IgM ve G antikorlar oluşmakta ve enfeksiyonun ikinci haftasını takibençoğu hastada saptanabilmektedirler. Antikorların gelişip ve hastalık iyileşmesi eşzamanlı gerçekleşmektedir. SARS-CoV üzerinde yapılan araştırmalarda ateşin çıktığı zaman orijin alınarak IgM ve G antikorların düzeyleri sürekli olarak izlenmiş ve ilk haftadan pozitifleşme başladığı saptanmıştır. Semptomların başlangıcından sonra, ikinci haftada hastaların yarısına yakınında Ig M ve G tipi antikorlar tespit edilmiştir. IgM antikorların hastalığın tanısından sonraki 30 gün yükselmeye eğilimli oldukları ve ilk ay içinde hastaların %70'inde pozitif antikorların varlığı görülmüştür (3,17).

IgG antikorlarsa 36.günden itibaren hastaların neredeyse tamamında pozitif saptanmıştır. Fakat taburcu edilmelerinin ardından da takip edilen hastalarda IgM antikorların düzeyleri beşinci haftadan itibaren önemli ölçüde azalma göstermiş ve 11. Hafta itibariyle tespiti sağlanamamıştır. IgG antikorlar takip edildikleri süre zarfında hastalarda tamamen pozitif kalmıştır. SARSCoV-2'nin bir yeni virüs oluşundan kaynaklanan uzun dönemki antikor yanıtları yakın zaman için bilimsel temelde bir tahmin olarak hesaplanamaz kalacaktır. Elde edilmiş olan verilerse kısa dönem için şunları ön görmektedir: medyan serokon versiyon muhtemel olarak hastalığın başlamasından itibaren IgM için 12, IgG için 14 gündür. Hastaların %40'ından azında birinci haftada antikorlar rastlanmıştır. İlk iki hafta içindeyse antikora rastlama oranı IgM için %94,3 ve IgG için %79,8 olarak gözlenmiştir (3,17).

SARS-CoV tecrübelerinden hareketle SARSCoV-2 için geliştirilen bakış açısı, oluşagelen antikor yanıtı hem korunmada hemde immün aracılı yıkım için önemli rol oynayabilecek olduğudur.Virüse spesifik, nötralizan olmayan, düşük konsantrasyondaki

antikorlar, ADE aracılığıyla monosit, makrofaj ve B-lenfositler gibi FcR ekspresyonu gösteren hücrelere virüs girişini arttırabilir. ADE etkisi ise antikor miktarı arttıkça azalır. ADE sayesinde hücreye girişi sağlanan virüs, hücrelerde replike olamasa dahi endozomdaki immün kompleks ve serbest viral RNA üzerinden TLR3, TLR7 ve/veya TLR8'i uyarır. TLR aktivasyonu da proinflamatuvar ve antiinflamatuvar sitokinlerin salınımına yol açar. Ayrıca ADE ile makrofaj içine alınan virüsün tümör nekroz faktörü (TNF) ve IL-6 salınımını artırabildiği gözlemlenmiştir. Bunların yanısıra, ADE'nin IL-10 ve "transforming growth factor" (TGF)-β gibi antiinflamatuar sitokinler üzerinde azaltıcı; CCL2 ve CCL3 gibi proinflamatuar kemokinler üzerinde ise artırıcı etki gösterdiği gözlemlenmiştir (3,16,17).

S ve N proteinlerini barındıran viral vektör aşıların etkilerine ayrı ayrı bakıldığında farklı antikorlarda olumlu/olumsuz farklı etkiler gösterebileceği saptanmıştır. N proteiniyle immünize edilmiş ratlarda pro-inflamatuvar sitokinlerin sekresyonunda, nötrofil ve eozinofillerce infiltre edilmiş bir akciğer ve akciğerde ciddi bir patoloji gözlenmiştir (3,17).

S proteininin farklı epitopları birbirlerinden farklı etkilere sahip olabilmektedirler. Primatlarda, S proteinine ait RBD ve HR2 domainlerine karşı gelişen antikorlarının protektif etkilerinin daha fazla olabileceği gösterilmiştr. Bunun yanında diğer bazı S protein epitopları için gelişen antikorlarda ise ADE saptanmıştır. Özellikle HR2 bölgesine hedeflenen nötralizan antikorlar, S protein aracılı virüs füzyonunu engelleyebilmektedir (3,17).

Nötralizan antikorlar; fagositler, kompleman ve NK hücrelerle pek çok immün bileşenle etkileşime girmektedir. IgM antikorlar ekseriyetle komplemanların aktivasyonuyla ve pro-inflamatuar sitokinlerin salınımıyla ilişkiliyken, IgG antikorlar saekseriyetle FcR eksprese eden hücreler üzerinden immün cevap oluşumunda yer almaktadır. Zayıf IgG yanıtının yüksek viral klirensle uyumlu olduğu ve bu verilerin ışığında güçlü antikor oluşumunun hastalığın şiddetiile, zayıf antikor oluşumunsa viral klerensle ilişkili olduğu sonucuna varılabilmektedir. SARS-CoV-2'nin nükleokapsid proteinine yönelik oluşan IgG ve M tipi antikorlar başka bir araştırmada incelendiğinde;

bu antikorların güçlü, erken yanıtının ve yüksek titrasyonlarının şiddetli hastalık gelişimiyle anlamlı olarak uyumu gösterilmiştir (3,17).

S proteininin reseptör bağlanma bölgesine (RBD) karşı gelişmiş RBD-spesifik antikorlar, semptomların başlamasından sonraki ikinci haftada çoğu hastada tespit edilebilmiştir. Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) doğrulamasını takiben ilk haftada bütün hastalarda RBD-spesifik IgG tespit edilebilmiştir. Nötralizan antikor yanıtlarının RBD-spesifik IgG titreleri ile korelasyon gösterdiği anlaşılmıştır. Güçlü hümoral yanıt; ciddi ve orta dereceli COVID-19 infeksiyonu esnasında daha erken gelişmektedir. Özellikle RBD-spesifik antikorların virüs nötralizasyonunda önemli role sahip olduğu düşünülmektedir (3,17).

2.5. Tanı, Bulgular ve Klinik

Genel olarak enfeksiyonlar, enfektelerde enfeksiyonnun bulunduğu alandan uygun olarak klinik materyal ile uygun örneğin alınması ve etkenin mikroskopide gösterilmesi, çoğaltılması, antijenlerinin veya genetik materyalin eldesini sağlayan yöntemler sayesinde doğrudan ya da hastanın kanında etkene yönelik oluşan spesifik antikor varlığının gösterilmesiyle dolaylı olarak tanı alabilirler.

SARS-CoV-2 enfeksiyonu için rutin mikrobiyolojik tanıda altın standart, uygun alınmış örneklerde viral RNA varlığının gerçek zamanlı revers-transkriptaz-polimeraz zincir reaksiyonu (RT-PZR) ile gösterilmesidir. Klinik örneklerde antijen varlığını araştıran testler de vardır fakat bu testler, duyarlılık ve özgüllüklerinin düşük olması sebebiyle klinik tanıda kullanımı önerilmemektedir. Hastalarda IgM ve/veya IgG tipi özgül antikorların araştırılması, kuvvetli klinik şüphe olmasına rağmen tekrarlayan RT-PZR negatifliği gösteren hastalarda ve epidemiyolojik araştırmalarda fayda sağlamaktadır. COVID-19'un erken ve doğru laboratuvar tanısının konması, enfekte bireylerin çabuk tanımlanması, tedavisi, izolasyonu ve temaslı sürveyansını da içeren hasta yönetimi, viral bulaşın yavaşlatılması, enfeksiyon kontrol stratejilerinin belirlenmesi, dolayısıyla pandeminin yavaşlatılması gibi birçok konuda büyük öneme sahiptir.

Enfeksiyonun klinik tanısı, hastaların semptomları ile laboratuvar ve radyolojik bulgularının beraber değerlendirilmesi yoluyla konulabilse de COVID-19 semptom ve radyolojik bulgularının spesifik olmaması sebebiyle, SARS-CoV-2 enfeksiyonunun, RT-PZR gibi nükleik asit amplifikasyon testleri (NAAT) kullanılarak virüse spesifik bir veya birden fazla gen bölgesinin in-vitro ortamda çoğaltılması ile laboratuvar tarafından doğrulanması gerekmektedir. Bununla beraber, moleküler tanı için ideal örnekleme yöntemi ve miktarı, örneğin alınması gereken ideal zaman, konaklar arası immün yanıt farkı, farklı yaş gruplarında ve farklı komorbiditeleri olan hastalarda hastalığın genel ilerleyişi ve virüs dinamikleri, viral yük-hastalık ilişkisi, virüs atılım yolları ve miktarı ile klinik evre ilişkisi, viral evrim ve bunun tanı yöntemleri üzerine etkisi gibi pek çok bilinmeyen sebebin mevcut olması, enfeksiyonun mikrobiyolojik tanısının konmasını oldukça zorlaştırmaktadır (18).

COVID-19'a ek olarak viral veya bakteriyel ko-enfeksiyonlar meydana gelebileceğinden, şüpheli vaka tanımını karşılayan tüm hastalarda, başka bir solunum yolu patojeninin var olup olmamasına bakılmaksızın SARS-CoV-2 açısından test yapılması gerekmektedir.

Gerekli görülen hastalarda, toplum kökenli pnömoni için kılavuzların önerdiği şekilde rutin laboratuvar prosedürleri kullanılarak diğer havayolu patojenleri araştırılmalıdır. Hastalara yapılan bu ilave testler SARS-CoV-2 araştırılmasını geciktirmemeli veya engellememelidir.

Olası vaka tanımına uyan ve semptomları giderek ağırlan ve hastalığın seyri devam edenlerden alınan bir veya birden fazla RT-PZR testi sonucunun negatif olması; COVID-19 enfeksiyonu şüphesini dışlamaz. Bu hastalarda klinik, radyolojik ve laboratuvar bulguları eşliğinde durum değerlendirmesi ve vaka yönetimi sağlanmalıdır.

2.5.1. Numune Alınması

Sağlık bakanlığı'nın SARS-CoV-2 enfeksiyonu rehberine göre;

Alt solunum yollarından alınan numunelerde trakeal aspirat veya bronkoskopik örnekler tercih edilmelidir. Alt solunum yollarından alınamadığı zamanlarda veya alt solunum yolu semptomları göstermeyen vakalardan nazofaringeal yıkama örneği ya da nazal ve/veya orofaringeal sürüntü beraber gönderilmelidir. İdeal olarak ilk önce orofaringeal sürüntü alınmalı ve daha sonra da aynı swab kullanılarak burundan da örnek alınması ve aynı taşıma besiyerine konulması önerilmektedir. Hastadan alınan orofaringeal ve nazal sürüntü örneği farklı besiyerlerinde gönderilmemelidir.

Olası vaka tanımına uyan ve semptomları ağırlaşarak ilerleyen kişilerden alınan ilk numunenin üst solunum yolu örneği olması ve test sonucunun negatif olması; COVID-19 enfeksiyonu şüphesini dışlamaz.

Numune Alımında ve Gönderiminde Uyulması Gereken Güvenlik Prosedürleri:

- Alınan tüm örnekler potansiyel bir enfeksiyon kaynağı olarak düşünülmeli, numune alma işlemleri damlacık/aerosoizasyona sebep olan işlemler olarak kabul edilip personellerin buna yönelik kişisel koruyucu ekipmanlara (N95/FFP2 maskeler, koruyucu gözlük veya yüz koruyucu) sahip olması gerekmektedir. Aldıkları numuneleri üçlü taşıma sistemiyle soğuk zincir uygulamalarına uyarak uygun şartlarda olarak göndermelidirler.
- Numunelerin doğru etiketlendiğinden, istem formları doğru olarak doldurulduğundan ve klinik bilgiler doğru olduğundan emin olunmalıdır.
- Laboratuvar ile iyi bir iletişim sağlanmalı ve ihtiyaç anında bilgi edinilmelidir.
- Numune gönderilmeden kesinlikle laboratuvar bilgilendirilmelidir.
- Numuneye ait atıklara tıbbi atık yönetmeliğinin kurallarına uyulmalıdır.

Kaydedilmesi Gereken Bilgiler:

- Hastanın bilgileri: (isim, cinsiyet, doğum tarihi, iletişim bilgileri, adres, vb.)
- Ziyaret ettiği riskli yerlerin adı ve adresleri
- Numune alım tarihi ve saati
- Numune alınan anatomik bölge veyalokasyon
- İstenen tanı ve diğer testler
- Klinik semptomları ve ilgili hasta özgeçmişi

2.5.2. Mikrobiyolojik Testler

- **Nükleik Asit Amplifikasyon Testleri (Naat)**

Solunum sisteminden alınan örneklerde SARS-CoV-2 RNA'sının RT-PZR ile gösterilmesi enfeksiyon tanısında ve doğrulamada altın standart yöntemdir.

Etiyolojisi anlaşılamayan pnömoni olgularının DSÖ'ye ilk bildirildiği tarihin bir hafta sonrasında etkenin yeni bir tip koronavirüs olduğu açıklanmış ve kısa bir süre sonraviral genom elde edilerek genom dizisi açıklanmış açık erişimde yayımlanmıştır. Akabinde virüsü tanımlama amacıyla RT-PZR'a dayanan testler geliştirilmeye başlanmış ve ekseriyetle hedeflenen gen bölgeleri genomda RdRp, E, N ve S protein genleri üzerinde yeralmaktadır. Tüm gen hedeflerine karşı testler yüksek duyarlılığa sahip olmakla beraber eniyi sonuçlar E ve RdRp genlerin de alınmıştır. Testlern tümü, oligonükleotidlerin bağlanma bölgelerinde polimorfizm bulundurmayan SARS-CoV-2 suşlarını doğru olarak tanımlamaktadır (1,2,19).

- **Sekans Analizi**

Bilhassa RT-PZR testinde şüphelenilen pozitiflerde sekanslama yapılması, COVID-19 tanısını doğrulanmasında yardımcı olabilir. Sekans analizi ayrıca, virüsün kaynağını saptamada ve yayılma yollarını izlemede, zamanla geçirdiği değişiklikleri tanımlamada işe yarar. Ayrıca enfeksiyon seyri, reseptöre tutunma, bulaşıcılık, virülans,

tedavi alternatifleri vs. enfeksiyonu etkileyecek hastalık parametrelerine etki edebilecek olan mutasyonların belirlenmesini sağlayacağı için, düzenli olarak elde edilen numuneler leviral sekans analizleri yapılması önerilmektedir (1,2,19).

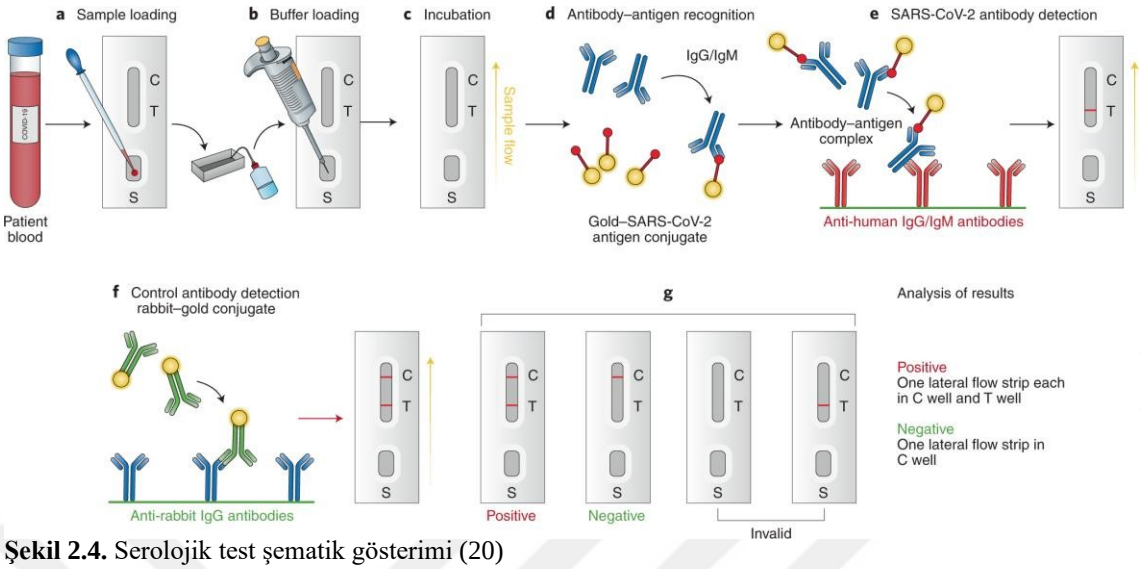
- **Kültür**

Rutin tanı testlerinde virüslerin kültürleri önerilmemekte. Yüksek yoğunlukta canlı virüsleri içerdiği için kültürün ve tüm gerekli işlemlerin eğitimli ve tecrübeli personelce ayrıca biyo güvenlik düzeyi 3 olan şartları sağlandığı labaratuarlarda yapılması gereklidir (1,2,19).

2.5.3. Serolojik Testler

Artış gösteren vaka oranları, moleküler test kapasiteleri ve her laboratuvar için moleküler tanıya hakim olması gereken personelin ve yeterli teknolojik donanım olmadığı düşünülürse; tanıda hızlıca ve kolayca kullanılabilecek testlere gerek duyulmaktadr. Böyle testler çoğunlukla, solunum sisteminden alınan örneklerde (nazofaringealsürüntü, balgam, boğaz sürüntüsü, vb) SARS-CoV-2nin proteinlerini ya da enfeksiyonda immüncevap olarak hastanın ürettiği antikorların örneklerde saptanması esasına dayanmaktadır (1,2,19).

COVID-19 tanısında hasta başı kromatografik testler ve immünoassay yöntemlere dayalı testler olmak üzere iki tip serolojik tanı testi mevcuttur.



Şekil 2.4. Serolojik test şematik gösterimi (20)

Geliştirilmesi daha uzun süren enzim immünoassay (EIA) testler, moleküler yöntemlere göre daha az duyarlı ve özgül olmakla beraber, kolay kullanıma ve daha kısa sonuç süresine sahiptirler. Fakat, validasyonları sırasında elde edilen sonuçların klinik ortamlarda tekrar edilememesi, test sonuçlarının kesinleşmemesi, ciddi tanısal güçlüklerden olmaktadır. Enzim immunoassay metodunda antijen ile antikor kompleksine bağlanan antikor bir enzimle işaretlenir ve enzim aktivitesi, reaksiyon sonunda gerçekleşen renk değişikliğinin (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay-ELISA) veya açığa çıkan ışığın (Kemilüminesans Immuno Assay-CLIA) şiddetinin ölçülmesi yoluyla tespit edilerek antijen antikor reaksiyonu saptanır. ELISA tekniğiyle antijen aranmasında kullanılan direkt yöntem "sandviç" ya da "çift antikor" yöntemi adlarıyla da bilinmektedir. Testlerde genel olarak hedef seçilen proteinler, replikasyon ve transkripsiyonda önemli role sahip nükleokapsid (N) proteini ve konak hücre yüzeyinde eksprese edilen ACE2'yi bağlayarak hava yolu epitellerine viral girişi kolaylaştıran “Spike” (S) (bazı testler için S1 ve S2) proteinidir (1,2,19).

2.5.4. Bilgisayarlı Tomografi Bulguları

Toraks BT’de rastlanan en önemli bulgular genel olarak bazal yerleşimli, bilateral, periferal buzlu cam dansiteleridir. BT bulgularının daha yaygın şekilde tanınması

sayesinde BT görüntüleri üzerinden farklı algoritmalar oluşturulmuştur. Ayrıca hastalığın şiddetini BT kullanarak değerlendiren skorlama sistemi de mevcuttur.

- **Buzlu Cam Opasitesi**

Akciğerlerde damar ve bronş duvarlarının silinmediği sis benzeri dansite artışları buzlu cam olarak tanımlanır. Hafif intersisyel kalınlaşma veya hava yollarının dolarak havanın kaybolmasına bağlı olarak gelişir. COVID-19 enfeksiyonu geçiren hastalarda tek taraflı ya da bilateral, periferal yerleşimli, subplevral buzlu cam opasitelerine sıklıkla rastlanır. Ayrıca buzlu cam opasitesinin hastalığın en erken radyolojik bulgusu olduğu bildirilmiştir. Bu görünümün akciğerlerdeki ödem ve hyalen membranlara bağlı ortaya çıktığı düşünülmektedir. Buzlu cam opasitesine, tek başına rastlanabileceği gibi interlobüler septal kalınlaşma ve konsolidasyon vb. farklı bulgularla beraber de görülebilmektedir (1,21).

- **Konsolidasyon**

Konsolidasyon, alveol içerisindeki havanın yerine tamamen patolojik sıvı, hücre veya dokuların gelmesi ve sonuç olarak gelişen dansite artışı olarak tanımlanmaktadır. Buzlu cam opasitesinden farklı olarak damar ve hava yollarının sınırları kaybolmaktadır. COVID-19 enfeksiyonu olan hastalarda genel olarak multifokal, segmental, yamalı tarzda konsolidasyonlara rastlanır. Genellikle subplevral veya peribronkovasküler yerleşime sahiptirler. Patofizyolojisinde hastaların alveollerinde bulunan fibromiksoid yapıdaki eksuda sorumlu tutulmaktadır. Bunun haricinde konsolidasyon varlığının, hastalığın prognozuyla ilişkili olduğu ve progresif hastalığın bir göstergesi olabileceği düşünülmektedir (1,21).

- **Retiküler Patern**

İnterlobüler ve interlober septalar gibi intersitisyel yapıların kalınlaşması olarak tanımlanmaktadır ve BT'de ince lineer dansiteler olarak rastlanmaktadır. İnterstisyel lenfosit infiltrasyonun sebep olduğu düşünülmektedir. COVID-19'da bilhassa

konsolidasyon ve buzlu cam opasitesi ile beraber sık rastlanmakta ve hastalık süresi uzadıkça artmaktadır (1,21).

- **Arnavut Kaldırımı (CrazyPaving) Görünümü**

Kalınlaşmış interlobüler ve intralobülerseptalar ile bunlara arka planda eşlik eden buzlu cam opasite varlığı olarak tanımlanır. Akut akciğer hasarında alveolar ödem ve interstisyel inflamasyon gelişimiyle ilişkili olabilir. COVID-19'da konsolidasyon ve buzlu cam kadar sık rastlanmasa da progresif hastalığın bir işareti olması nedeniyle önemlidir (1,21).

- **Hava Bronkogramı**

Düşük dansiteli, içi hava ile dolu olan bir bronşun arka planında yerleşmiş olan yüksek dansiteli havalanmayan akciğer dokusunu ifade eden bir terimdir. COVID-19'da da rastlanmakta fakat yapılan otopsi çalışmalarında elde edilen bulgular bu hastalardaki düşük dansitenin havadan değil bronşu dolduran jelatin benzeri mukustan kaynaklandığını göstermektedir. Bu bulgu hafif bronşiol dilatasyona eşlik edebilir ve bu da bronşiolektazi olarak adlandırılabilir (1,21).

- **Havayolu Değişiklikleri**

COVID-19'da görülen havayolu değişiklikleri bronşiektazi ve daha sık rastlanan bronş duvar kalınlaşmasını içerir. Patofizyolojik olarak bronş duvarındaki inflamatuar hasar ve bronş tıkanıklığının ardından gelişen bronş duvarının parçalanması sonucu oluşan fibrozise bağlıdır. Özellikle bronş duvar kalınlaşmasının kötü prognoz ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (1,21).

- **Nodüller**

Yuvarlak veya düzensiz sınırlı 3 cm'den küçük dansiteleri ifade eden bir terimdir. Viral pnömonilerde sık görülen bir bulgu olup COVID-19'da da multifokal, solid,

düzensiz sınırlı nodüllere rastlanabilir. Ayrıca halo işareti ve ters halo işaretine de rastlanabilir. Halo işareti, bir nodül veya kitlenin buzlu cam opasitesiyle çevrelenmesi olarak tanımlanır. Patofizyolojide perilezyonel kanamayı temsil eder. Ters halo işareti veya atoll işareti ise buzlu cam opasitesini saran konsolide alan olarak tanımlanır. İlk olarak organize pnömonide tanımlanmıştır fakat bununla beraber pek çok başka hastalıkta da görülebilir. Patofizyolojik olarak hastalığın ilerlemesi nedeniyle lezyonun merkezindeki debrisin çözülmesi sonucu oluştuğu düşünülmektedir (1,21).

- **Atipik Bulgular**

COVID-19'da nadir rastlansa da lenfadenopati, kavitasyon, plevral ve perikardiale füzyon gibi bulgular görülmekte olup RT-PCR pozitif hastalarda viral enfeksiyona eşlik eden bakteriyel enfeksiyonu düşündürmelidir (1,21).

2.5.5. Genel Klinik Özellikler

- **İnkübasyon Süresi**

SARS-CoV-2'nin esasen bulaşı damlacık aracılığıya olmaktadır. Hasta bireylerin öksürmesi, hapşırması gibi yolarla çevrelerine yaydıkları damlacıkların başka kişilerce teması ve sonrasında ellerinin ağız, burun veya göz mukozasına götürmeleri yoluyla da bulaşma olabilmektedir. SARS-COV-2 için inkübasyon süresi tahminen temastan sonra 2-14 gün asında olduğu düşünülmektedir ve ekseriyetle vakaların temastan ortalama 4-5 gün sonra semptom göstermeye başladığı izlenmiştir. Semptomatik COVID-19 hastası 1099 hastada yapılan bir çalışma sonucunda, ortalama kuluçka süresinin 4 gün olduğubaşka bir çalışmada ise ortalama inkübasyon süresinin 5 gün olduğu bildirilmiştir (1).

- **Hastalık Spektrumu**

Semptomatik enfeksiyon, hafif şiddetli klinik (pnömoni yok/hafif pnömoni), orta şiddette klinik (dispne/hipoksi/ilk 48 saatte görüntülemelerde %50'yi aşan akciğer

tutulumu), ya da kritik ağır hastalık (solunum yetmezliği/şok/çoklu organ yetmezliği gibi) arasında değişken spektrumda seyretmektedir. Bununla birlikte; enfeksiyonların çoğu şiddetli seyretmemektedir. Şiddetli veya ölümcül enfeksiyonların oranı bölgeye göre değişmektedir çünkü her bölge farklı yaşam tarzına ve farklı demografik yapıya sahiptir.

- **Şiddetli Hastalık İçin Risk Faktörleri**

a. Yaş ve Komorbid Hastalıklar

Şiddetli hastalık tüm yaşlardaki sağlıklı bireylerde gelişebilir; fakat genel çoğunluk olarak ileri yaşta ve/veya altta var olan komorbidite durumlarındaki yetişkin bireylerde rastlanmaktadır.

Yapılan çalışmalarda hiper tansiyon (HT), kardiyovasküler hastalık, diabetes mellitus (DM), kronik akciğer hastalığı, KBH, kanserve obezite gibi komorbid durumların hastalığın şiddeti ve mortalitesi ile ilişkili olduğu anlaşılmıştır. Bunlara ek olarak, ABD Hastalık Kontro ve Önleme Merkezi (CDC), COVID-19 risklerine ilişkin yeterli özgül veriye sahip olmasa da, immün yetmezlikler, ciddi obezite ve karaciğer hastalığınıda ciddi/şiddetli COVID-19 tablosu için muhtemel birer risk faktörü olarak tanımlamaktadır.

b. Laboratuvar Verileri

Hastalarda bazı laboratuar değerlerinin kötüleşen prognozla bağlantıları olduğu anlaşılmıştır. Lenfopeni, yüksek laktat dehidrojenaz (LDH), yüksek karaciğer enzimleri, ferritin, CRP gibi yüksek inflamasyon belirteçleri, yüksek D-dimer (>1mcg/ mL), troponin ve kreatin fosfokinaz (CPK) düzeyleri, protrombin zamanı (PT), kötü böbrek fonksiyon testleri budurumlar arasındadır. Yapılmış olan bir çalışmada, ölen hastalarda lenfosit değerlerinin progresif bir düşüşte olduğu ve yanı sıra D-dimer değerlerinde de artış gerçekleşmiş olduğu bildirilmiştir. Ağır hastalık geçiren hastaların solunum

örneklerinde daha hafif hastalık geçirenlere nazaran yüksek düzeylerde viral RNA saptanmıştır (1,3,16,17,22).

Tablo 2.1. Şiddetli COVID-19 hastalarında kanda çalışılan laboratuvar testlerinde gözlenen değişimler ve klinik önemleri (1)

Test adı	**Gözlenen değişim**	**Klinik önemi**
Albümin	Azalma	Karaciğer yetmezliğinin tanımlanması
Alanin aminotransferaz (ALT)	Artma	Karaciğer hasarının gösterilmesi
Aspartat aminotransferaz (AST)	Artma	
Total bilirubin	Artma	
Elektrolitler	Hiponatremi Hipokalemi Hipokalsemi	Metabolik dengenin göstergesi
Glukoz	Artma	
Laktatdehidrogenaz (LDH)	Artma	Akciğer hasarı ve/veya çoklu organ yetmezliği
Kreatinkinaz	Artma	Kas hasarının gösterilmesi
Kan üre azotu (BUN)	Artma	Böbrek hasarı ve yetersizliğinin gösterilmesi
Kreatinin	Artma	
Troponin T/I	Artma	Kardiyak hasarın tanı ve takibi
BNP/NT-proBNP	Artma	Kardiyak yetersizlik
Miyoglobin	Artma	Kardiyak hasarın takibi
Tam kan sayımı		Lenfopeni, nötrofili ve trombositopeninin tanımlanması, nötrofil/lenfosit oranının belirlenmesi
CD4+ T hücre sayısı	Azalma	Hücresel immün yanıtın değerlendirilmesi
CD8+ T hücre sayısı	Azalma	
Protrombin zamanı	Uzamış	Koagülopatinin tanımlanması
Aktive parsiyeltromboplastin zamanı (APTT)	Uzamış	
Fibrinojen	Azalma	Devam eden koagülopatinin tanımlanması
D-Dimer	Artma	Devam eden tüketim ve trombotik koagülopatinin tanımlanması
Ferritin	Artma	Enfeksiyon/inflamatuvar yanıt
Eritrosit sedimantasyon hızı	Artma	Enfeksiyon ve inflamatuvar yanıtın izlenmesi
C-reaktif protein (CRP)	Artma	
Prokalsitonin	Artma	Bakteriyel ko-enfeksiyonların tanımlanması
IL-6	Artma	Sitokin fırtınasının tanımlanması

2.5.6. Klinik Bulgular

- **İlk Başvuru**

COVID-19'un en sık görülen ve ciddi tablosu ilk olarak öksürük, ateş, nefes darlığı ve akciğerin görüntülemelerinde bilateral infiltratlar görülmesiyle karakterize pnömoni saptanmasıdır. COVID-19'un diğer viral solunum yolu enfeksiyonlarından ayıracak güvenilir ve spesifik bulgular yoktur. Wuhan'da COVID-19 pnömonisiyle hastanede tedavi göre 138 hastanın kapsandığı bir araştırmada, semptomların başlangıcından en yaygın görülenler:

a. Ateş %99
b. Yorgunluk %70
c. Kuru öksürük %59
d. Anoreksiya %40
e. Miyalji %35
f. Dispne %31
g. Balgam üretimi %27 olarak bildirilmiştir. (1)

Çin'de yapılmış olan ilk kahort çalışmalarda, COVID- 19'lu hastalarda anosmi ve disguzi (koku ve tat bozuklukları) da sık görülen semptomlar arasına girmiştir. Başka ülkelerde yapılan çalışmalarda da bu semptomların varlığı görülmüş fakat bunların COVID-19 için ayırt edici semptomlar olup olmadığı ise henüz belirli değildir.

Daha nadir görülen semptomların başında boğaz ağrısı, baş ağrısı ve rinore yer almaktadır. Solunum sistemi belirtilerine ilaveten, GIS semptomları da rapor edilmiş ve bazı hastalar bu şikayetlerle başvurmuştur. COVID-19 geçirenlerde dermatolojik bulgularsa pek net olarak tanımlanamamıştır. Ürtiker benzeri döküntüler, geçici livedoretikülerisle ilgili ender bildirimler mevcuttur.

- **Hastalığın Seyiri ve Komplikasyonlar**

İlk günlerde hafif belirtilere sahip bazı kişilerde klinik tablo bir haftada ilerleyebilir.

Wuhan kentinde yapılan SARS-CoV-2 nedenli pnömonilerden dolayı hastaneye kaldırılan 138 hastayı kapsayan bir çalışmada, semptomlar başladıktan ortalama beş gün süre sonrasında hastaların klinik tablolarına dispne eklenmiş ve yedi günlük bir süre sonrasındaysa hastaneye yatırılmaları gerektiği anlaşılmıştır. Başka bir çalışmadaysa dispnenin sekizinci gün civarı başladığı bildirilmiştir.

ARDS (Akut solunum sıkıntısı sendromu) ağır kliniği olanlarda ciddi komplikasyon olarak görülmekte ve dispnenin başlamasından kısa bir süre sonra görülebilmektedir. Wuhan şehrinde yapılan bir başka çalışmada ise hastaneye yatırılan 201 hastadan yüzde 40'ından fazlasında ARDS gelişmiş; 65 yaş üstünde, Diyabetes Mellitus, Miyofark Enfarktur ve Hiper Tansiyon ile ARDS gelişimi arasında ilişki olduğu anlaşılmıştır. ABD'de yoğun bakım ünitesindeki 21 ağır durumdaki hastalardan oluşan bir grupta hastaların 1/3'inde kardiyomiyopati geliştiği ve pulmoner emboli, akut inme gibi tromboembolik olayların dakomplikasyon listesinde olduğu açıklanmıştır (1,2,4,21).

2.6. Covıd-19 Hastalarında Solunum Sisteminin Genel Klinik Seyri ve Ciddi Solunum Yetmezliği Gelişimi

Hastalarda semptomlar, virüs bulaşından sonraki 2-14 gün süre zarfında gelişebilmektedir. Fakat hastaların büyük çoğunluğunda bu sürenin 4-5 gün arasında olduğu görülmektedır. Sıklığı net bilinmese de semptom göstermeyen enfekte bireyler mevcuttur. Semptomların görülmesinin ardından ortalama 5-7 gün içinde akciğer fonksiyonlarında bozulma ve nefeste daralma hissi gelişir. Bununla beraber komorbid hastalarda nefes darlığını daha erkenden görebiliriz. Gençler, komorbid olmayanlarda nefes darlığı gelişmesi daha geçtir. Akciğerde bulunan inflamasyona ek olarak, O2-CO2 perfüzyonunda bozulmayla oksijenlenme bozulur, hipoksemik tablo gelişir. Bundan

sonrasında solunum fonksiyonları hızlı bir bozulmayabilerler. Bu nedenle, hipoksemi başlayan hastalarda (Oksijenin saturasyonu; SpO2< %93) tedavide ilk yaklaşım olarak oksijen tedavisi başlamalıdır. Yine de bazılarında erken tedavi ile oksijen verilmesine rağmen solunum yetmezliği görülebilir (1,2,21,23).

Bu olgulardaki ikinci tedavi aşaması ise invaziv olmayan yolla ventilasyon (NIV) veya yüksek akımlı nazaloksijen (HFNO)tedavisidir. Bu tedavilerle çoğu zaman parsiyelarteriyel oksijen basıncı/inspire edilen oksijen fraksiyonu (PaO2/FiO2) oranında hızlıca düzelme gerçekleşir. Fakat bunların yanı sıra bazı hastalarda klinikte bozulma ilerlemekte ve invaziv mekanik ventilasyona ihtiyaç duyulabilmektedir (1-4,21,23).

2.6.1. Ciddi Solunum Yetmezliği

ARDS'na ilerleyiş gösteren patogenezin işleyişi bir takım mekanizmayla açıklanmakta ve ölüme neden olabilen şiddetli solunumsal yetmezliğe sebep olmaktadır. Solunum sisteminin alt yollarına ulaşabilen SARS-CoV-2, alveollardan kana geçebilince hafif şiddet çeviremiye yol açıp semptom göstermeden veya bir neden-sonuç kaynaklı olaylar zincirini başlatarak ARDS gelişiminede yol açabilir (1-4,21,24).

Özetle bahsedilirse; immün disfonksiyon, sistemik inflamasyon yanıtı ve RAS disfonksiyon tablosu topluca bir sitokin fırtınasının oluşumuna katkı sağlayabilir. COVID-19 hastalarında gelişen pulmoner ödem, sitokin fırtınası ve çoklu organ hasarı vb durumlar kontrole alınamazsa ARDS'yevede solunum yetmezliği nedenli ölümlerle sonuçlanabilir (3,21,23).

2.6.2. Hiperkoagülasyon

SARS-CoV-2 enfeksiyonuyla gelişen ciddi pnömonili pek çok hastada koagülasyon artışı görülmüştür. Koagülopatili hastalarda mortalitenin yüksek olması, koagülasyonun COVID-19 patogenezinde önemli bir role sahip olduğu noktasında işaret kabul edilmektedir (25). Bilhassa D-dimerin 3 μg/mL üzerindeki olguların heparin tedavisi alarak yarar görmeleri ve antikoagülan tedavinin mortalitede azalma sağlaması

bu gözlemleri doğrulamaktadır. Hiperkoagülasyon toblosu; inme benzeri serebrovasküler olaylar, pulmoner taromboemboli gibi kardiyovasküler olaylar, gebeliğin kaybı, damar içi tromboz ve kemik nekrozu ve birçok ciddi duruma neden olabilir (1,3,4,21,23-27).

Hiperkoagülasyona sebep olabilecek muhtemel mekanizmalar şunlardır:

1. Solunum yetmezliğinden kaynaklanan hipoksi ve HIF (hipoksi ile uyarılan transkripsiyon faktörü) bağlı sinyalizasyon yolağı uyarılabilir yahut da direkt olarak kanın viskozitesinde artış yapabilir (3).
2. Akciğerde hiper inflamasyonun TPO seviyesinde artışa neden olması ve bunun tromboza yani dolayısı iletromboz eğilimine yol açması muhtemeldir (3).
3. Sitokin fırtınası koagülasyon kaskadının aktivasyonunda artış yapabilir (3).
4. Daha önceki birçok çalışmada; viralin feksiyonlara sekonder olarak antifosfolipid antikor sentezi gerçekleşebileceği gözlenmiştir. COVID-19 olgularında viral enfeksiyon kaynaklı antifosfolipid sendromu dikkat çekmektedir. Bu veri ışığında yapılmış olan araştırmalarda bilhassa komorbid hastalığı olan çoklu serebralin farktüs geçmişi olan bir grup yaşlı hastalarda, anti kardiyolipin IgA, antiβ2-glikoprotein I IgA ve G antikorları saptanmış ve olgular antifosfolipid sendromuyla uyumlu bulunmuştur. SARS-CoV-2'nin bu tip antikorlara etkili olup olmadığıysa ileri araştırmaların yapılmasını isteyen ciddi bir sorudur (3).
5. Etkenin bağlanmasıyla hücre içinegiren ACE-2 enzimin destrüksiyonuyla görülen sistemik ve lokal AT-2 artışı, tromboz gelişiminde bir kolaylaştıran faktör olabilir (3).
6. Enfeksiyon sırasında endotel hücrelerinin hasar görmesine bağlı koagülasyon yolağının aktivasyonu da yine aynı durum dahi perkoagülasyonun gelişmesinde güçlü nedenlerden olabilir görünmektedir (3).

2.7. SARS-COV-2 Enfeksiyonuna Bağlı Kardiyovasküler Komplikasyonlar

Ağır COVID-19 hastalarında farklı komplikasyonları görmekteyiz. Bu komplikasyonların arasındaysa; aritmiler (%16,7), şok (%8,7) ve akut kardiyak hasar (%7,2) sık görülmektedir ve yoğun bakım ünitelerinde tedavisi devam eden hastalarda, kısaca kritik ve şiddetli klinik tabloya sahip olgularda daha sıktır (1-3,23).

2.7.1. Nörolojik

SSS tutulumunu düşündüren semptomlar; baş ağrısı, sersemleme, uyku bozukluğu, vertigo, bilinç kaybı, nöbet, ataksi, akut serebrovasküler hastalık, ensefalitve menenjit bildirilmiştir. PSS tutulumunu düşündüren belirtilerse koku ve tat almada bozukluk, görmede bozukluk ve nöraljidir. Bu olgularda görülen hipozmi etkenin nörotropik potansiyeline işaret etmektedir. Virüs, olfaktör sinir, bulbus, beyin sapı, vagus siniri ve duyusal liflerinE yerleşebilmektedir. İlk dönemlerde koku alamama, ataksi ve konvülsyon semptomlarını gösteren hastalarda SARS-CoV-2 tarafından SSS tutulumunun araştırılması tavsiye edilmektedir (1,23).

İskelet kas hasarı düşündüren belirti-bulgular ise kas yorgunluğu ve ekstremite ağrılarıdır. CK (Kreatinkinaz) seviyelerindeki hafif yükselmelerle beraber kas hasar ve ağrısı varken ve serum CK düzeyi anlamlı olarak yüksek ölçüldüğünde tanım almaktadır. Ayrıca SARS-CoV-2'nin miyokardiyal enflamasyonda da rol oynadığı bilinmektedir (1,23).

2.8. COVID-19 Hastalığının Tedavisi:

2.8.1. Spesifik Tedaviler

• **Antiviral Tedaviler**

1) Hidroksiklorokin/Klorokin:

Klorokin benzeri bir kimyasal yapıda olan hidroksiklorokin, sıtmanın ve romatizmal hastalıkların tedavilerinde kullanılan bir ilaçtır. SARS-CoV karşıtı güçlü antiviral aktivite gösterdiği, İnvitro ve invivo çalışmalarda tespit edilmiştir. Hidroksiklorokin, antiviral etkiyi antijen sunan hücrelerdeki endozomal pH'yi artırarak lizozomal aktiviteye engelleyip, T-hücrelerine oto-antijen sunumuna engel olarak gösterir. Ayrıca, hidroksiklorokin ve klorokin, SARS-CoV-2'nin ACE-2 glikolizasyonuna mani olarak konak hücreyle virüsün birleşmesini engeller. Hidroksiklorokin tedavisinde hastaların takibinde, elektrolitler, rutin hemogram, böbrek ve karaciğer fonksiyon testleri ve QT uzamasının kontrolü için rutin EKG (elektrokardiyografi) önerilmektedir. Fransada yapılan, kontrol grupsuz bir çalışmada, 36 COVID-19 hastası değerlendirilmiş, hidroksiklorokinin viral yük üzerinde azalma/kaybolma etkili olduğu tespit edilmiştir. Bu çalışmaya karşın ABD'de yakın zamanda yapılan bir çalışmada ise hidroksiklorokin uygulanan, hidroksiklorokin/azitromisin uygulanan ve ilaç uygulanmayan; hastaneye yatan COVID-19 hastaları retrospektif olarak karşılaştırılmış ve sonuç olarak hidroksiklorokinin sırasıyla %28, %22 ve %11 oranlarında mortaliteyi artırdığı gösterilmiştir. Klorokin iki farklı dozajının karşılaştırıldığı diğer bir çalışmadaysa yüksek dozlu grupta QT uzaması ve çeşitli toksik etkiler görülmesi sebebiyle çalışma sona erdirilmiştir. COVID-19 sepsis kılavuzunda da klorokin/hidroksiklorokinin kullanımı için elde yeteri kadar kanıtın ve verinin elde edilmemiş olduğu belirtilmiştir."COVID-19 SARS-CoV-2 Enfeksiyonu Rehberi'nde" antiviral tedaviye erken başlamanın faydalı olduğu vurgulanmakta veolası/kesin COVID-19 hastalarına, hidroksiklorokin tedavisinin başlaması önerilmektedir. Ayaktan izlenen ve kesin tanılı semptom göstermeyen venon-komplike/hafif pnömonili olan hastalar ile yatış

endikasyonu bulunan, non-komplike olası/kesin COVID-19 hastalarıda tedavi olarak yine hidroksiklorokin, 5 gün 2x200 mg/gün tablet olarak tavsiye edilmiştir. Yine yatış endikasyonu olan, hafif-ağır seyreden pnömonili olası/kesin hastaların da hidroksiklorokin, 1. gün yükleme 2x400 mg dozununun ardından, 2x200 mg/gün devam dozu ile toplam 5 gün alması önerilmaktedir (1,2,4,26-28).

Tablo 2.2. Ayakta izlenensemptomatik olmayan fakat kesin tanılı olgularda ve non-komplike/hafif pnömonili olası/kesin olgularda tedavi yöntemleri (29)

Hidroksiklorokin[1] **200 mg tablet**	2x200 mg tb, oral	5 gün
VE/VEYA		
Favipiravir[2] **200 mg tablet**	2x1600 mg yükleme 2x600 mg idame	5 gün

2) Azitromisin:

Azitromisin, gram (+) kokların tedavi edilmesinde tercih edilen makrolid grubu bir antibiyotiktir. İnvitro ve preklinik çalışmalarda, hidroksiklorokin ilacının tek başına ya da azitromisinle kombine (hidroksiklorokin+azitromisinolarak) COVID-19 tedavi planlamasında etki olabileceği gösterilmiştir. Fakat sözü edilen kombinasyonun etkinliğini kanıtlamak için elde yeterli veri olmayı daha ileri çalışmalar yapılması gerekmektedir. Ayrıca bu iki ilacın kombine olarak kullanılmasının ciddi QT uzaması gibi yan etkileri olabileceği akılda tutulmalıdır. Yine aynı şekilde olası/kesin COVID-19 pnömonili yetişkin hastaların tedavilerine doktor karar ve görüşüne göre diğer tedavilerin yanına ek olarak azitromisinin eklenebileceği de belirtilmiştir (1,2,4,26-28).

3) Favipiravir:

RNA polimeraz inhibisyonu yapan, guanin-anoloğu antiviral bir ajandır. Başta influenza ve benzeri viral enfeksiyonların tedavilerinde yer alır. İnvitro çalışmalarda favipiravir, yine bir RNA virüsü olan SARS-CoV-2 üzerinde inhibisyon etkili olduğu gösterilmiştir. Çin kaynaklı bir çalışmada favipiravir ile lopinavir/ritonavirtedavileri uygulanan hastalar karşılaştırılmış ve çalışma sonucunda favipiravirin anti viral etkinliğinin daha güçlü olduğu, ayrıca yan etkilerinin daha az olduğu bildirilmiştir. Sağlık Bakanlığı Tedavi Rehberi'nde, ilk ilaç uygulamasında yanıt alınamayan ve ağır seyreden olgularda favipiravirin günde 2 defa 1600 mg yükleme sonrasında günde 2 defa 600mg olarak 5 gün süreyle kullanılması tavsiye edilmektedir (1,2,4,26-28).

4) Remdesivir (GS-5734):

RNA-polimeraz inhibisyonu yapan adenozin nükleotid analoğu geniş spektrumlu antiviral bir ajandır. Remdesivir üzerine randomize-kontrollü etkinlik araştırmaları sürmekte fakat bugüne dek bu araştırmalarda birbiriyle çelişen sonuçlar elde edilmiştir (1,2,4,26-28).

5) Lopinavir (8200 mg) /Ritonavir (50 mg):

HIV(AİDS) tedavisinde yer alan, aspartat proteaz inhibitörü bir ilaç olup randomize kontrollü bir araştırmada lopinavir/ritonavir tedavisi, ağır COVID-19'lu ve hastanede yatışı sağlanan yetişkin olgularda, ilave fayda sağlamadığı gözlenmiştir. SARS-CoV enfeksiyonundaysa başka antivirallerle (örn.Ribavirin) beraber kullanılmasının ARDS gelişimi ve ölümler üzerine tek başına ribavirine nazaran daha etkili bulunuştur. T.C. Sağlık Bakanlığı, rehberine göre lopinavir/ritonavir ilaç kombinasyonu diğer ilaçların başka nedenlerle kullanılamaması halinde ek bir alterneatif ilaç olarak tedaviye eklenebileceği belirtilmektedir (1,2,4,26-28).

.

2.8.2. Konvelesan Plazma (KP) ile AdjuvanTedavi

SARS-COV-2 enfeksiyonu geçirip iyileşen vede ayrıca virüse özgü bağışıklık kazanan bireylerin plazmasının alınıp hasta bireylere transfüzyon yoluyla verilmesidir. Bu tedavinin amacı virüsün nötralizasyonudur. Konvelesan plazma tedavisi, geçmişte SARS-Cov, MERS-CoV ve Ebola gibi salgınlarda kullanılmış ve başarılı sonuçlar alınmıştır. FDA (Gıda ve İlaç Dairesi), COVID-19 hastalarında KP'nın tedavide yer almasına belirli koşulların varlığında onay vermiş fakat bu tedavinin sitokin fırtınası gelişen hastalarda kullanılması tavsiye etmemektedir. T.C. Sağlık Bakanlığı'nın "COVID-19 İmmün KP Tedarik ve Klinik Kullanım Rehberi'nde" KP uygulanabilmesi adına gerekli tüm şartlar belirlenmiştir. Sözü edilen tedavi, hastaya uygulanmakta olan ilaç ve destek tedavileri ile beraber verilmelidir. Ayrıca KP verilmesi düşünülen hastaların serum IgA düzeyleri ölçülmeli ve normal sınırlarda olduğu dosyalara eklenmelidir. IgA eksikliği durumunda KP hastalara verilmemelidir (1,2,4,26-28).

2.8.3. Aşı Geliştirme Çalışmaları

Koronavirüs enfeksiyonunu önlemek amacıyla birçok ülkede aşı geliştirme çalışmaları başlatılmış durumdadır. Yapılan hayvan deneylerindeviralS proteininin S1 altbirimine karşı üretilen antikorların, enfeksiyöz koronavirüslere karşı koruyucu olduğu kanıtlanmıştır. Farelerde uygulananaşıların üzerinden geçen 2 hafta sürede tüm deney gruplarında etkene yönelik özgüllüğü oluştuğu izlenmiştir. İnsanlara yönelik ilk aşı çalışması ABD'de başlatılmıştır; bu çalışmada immün yanıtı uyarmak amacıyla virüse ait S proteininin ifadesini taşıyan bir mesajcı RNA platformu kullanılmıştır (1,4,26-28).

- **Türkiye Cumhuriyeti Sağlık Bakanlığı'nın Covıd-19 Erişkin Hasta Tedavi Rehberi'ne Göre Tedaviler;**

COVID-19 tedavisi için hastanın yaşı, klinik tablonun durumu, kötü prognoz belirteç varlığı, ek-komorbid hastalıkların varlığı ve benzeri durumlar önemlidir. Genel duruma bağlı olarak tedavi ayaktan/evde izlem olarak planlanabilmektedir.

Bazı hasta gruplarında hastalık ağır seyredebilir ve komplikasyon gelişebilir. Böyle durumlarda hastalar, hastaneye yatırılıp izlenmelidir:

- ✓ 50 yaşın üzerindeki hastalar
- ✓ COVİD-19'a eşlik eden ek hastalığı olanlar (DM, kalp-damar hastalıkları, HT, kronik akciğer hastalıkları, kanser ve de immun süpresyon halleri),
- ✓ Ağır pnömoni düşünülenler
    - • Konfüzyon/taşikardi (>125/dk)
    - • Solunum sıkıntısı/takipne (>30/dk)
    - • Hipotansiyon(<90/60 mmhg) veya SpO2 <%92
    - • AC grafisinde bilateral yaygın tutulum gösterenler
- ✓ Kardiyomyopati, aritmi
- ✓ Sepsis, septik şok
- ✓ Akut böbrek hasarı gelişmiş olanlar
- ✓ Başvuruda alınan kan tahlillerinde kötü prognoz belirteç varlığı
    - • Kan lenfosit sayısı <800/µl veya CRP> 40 mg/l veya ferritin>500ng/ml veya D-Dimer>1000 ng/ml vb.
- ✓ Tedavide yer alabilecek olan ilaçlardan, hidroksiklorokin, lopinavir /ritonavir, azitromisinve favipravir ülkemizde vardır.
    - • Hidroksiklorokinpo 2x200 mg tablet
    - • Azitromisin birinci gün po 500 mg tablet sonrası 250 mg/gün idame,
    - • Lopinavir/ritonavirpo 200 mg/50 mg 2x2 tablet
    - • Favipravirpo 2x1600 mg tablet yükleme sonrası po 2x600 mg idame

- ✓ **Tedavi Grupları Aşağıdaki Gibi Özetlenebilir.**

a. Ayaktan izlenebilen hasta

- A semptomatik fakat kesin olgularda:5 gün Hidroksiklorokin
- Semptomatik (non-komplike/hafif pnömonili) olası/kesin olgular 5 gün Hidroksiklorokin

✓ **Yatarak İzlemi Gereken Gruplarda**

- Non-Komplike muhtemel/kesin olgu: Hidroksiklorokin5 gün +/-Azitromisin
- Hafif pnömonisi olan muhtemel/kesin olgu: Hidroksiklorokin 5 gün +/- Azitromisin 5 gün
- Ağır pnömonisi olan muhtemel/kesin olgularda: Hidroksiklorokin 5 gün +/- Favipravir 5 gün +/- Azitromisin
- 5 gün Hidroksiklorokin tedavisinde klinik tablonun ağırlaştığı ya da pnömoni bulgularının ilerlediği olgularda: Favipravir
- Kesin tanılı gebelerde: 5 gün Hidroksiklorokin veya Lopinavir/ritonavir 10-14 gün.
- Seçilmiş olgularda ise hidroksiklorokin tedavisi 7-10 güne dek sürdürülebilir.

Bakteriyel pnömoninin ekarte edilemediği olgularda ampirikantibiyotik tedavisi uygulanabilir. Kortikosteroid ilaçlardan yalnızca ihtiyaç halinde 0.5-1 mg/kg'ı aşmayacak düzeyde kullanılabilir. Tomografide bilateral infiltrasyon tespit edilen ARDS olgularında İmmun Plazma tedavisi uygulanabilir. Sitokin fırtınası kaynaklı MAS'ın(makrofaj aktivasyonu sendromu) tedavisi için anti-sitokin ajanlar verilebilir.

1. Tosilizumab,anakinra ve sarilumab tercih edilebilir.
2. Tosilizumab, max dozu 8 mg/ kg (toplam en fazla 800 mg) verilebilir. Yükleme dozu 400 mg olarak yapılıp yanıtınalınamadığı 12-24 saat süre zarfında 400mg ilaveten verilebilir. Gebelik, aktif TBC, aktif HBV, HCV enfeksiyonları, nötropeni (<500/mm3), allerji-hipersensi vitereaksiyonları varlığında kontrendikedir.
3. Anakinra dozajı 2-10 mg/kg aralığında ayarlanabilir ve klinik tabloya göre günde bir/iki kez 100 mg subkutan, ciddi klinik tablolarda günde 3 defa 200 mg İV enjeksiyona kadar dozaj ayarlanabilir.

Tedavide Anti-sitokinler yetersiz olursa JAK inhibitörleri (ruksolitinib vb) de tercih edilebilir. IVIg tedavisi, Ig düzeyinin takibiye (IgA eksikliği durum haricinde kulanılmalı) toplam 2 gün;2 g/kg/gün olarak kullanılabilir. Sepsis gelişimi ve MAS

bulgularıyla beraber ortaya çıkan pıhtılaşma bozuklukları ve bilhassa DIC bulguları açısından

2.9. Neopterin

Neopterin; Guanozintrifosfattan (GTP), GTP siklohidrolaz 1 (GTPCH-1) yolağı ile sentez edilen unkonjuge bir pteridin türevidir (30). GCH-1 enzimiyle GTP; 7,8-Dihidronopterin trifosfata dönüştürülür ve 7,8-Dihidronopterin monositlerde, makrofajlarda ve endotel gibi hücrelerde türlü defosforilasyon ve oksidasyon reaksiyonlarının ardından neopterine dönüşür. GCH-1 enziminin aktivitesi, T lenfositlerden salıverilen interferon gama (IFN-gama) ile stimüle edilir (31). Bu sebeple Neopterin hücresel immünitenin bir göstergesi olarak görülmektedir. Aktive edilmiş T lenfositlerden salıverilen IFN-gama, makrofajların neopterin üreterek, vücut sıvılarında yoğunluğunun artmasına sebep olur. Neopterinle birlikte yine bu hücrelerden serbest oksijen radikallerinin üretimi arasında da bir ilişki mevcuttur (5).

Neopterin düzeyleri vücutta protein içeren her türlü sıvıda (serumda, plazmada, idrarda ve beyin omurilik sıvısı, pankreatik sıvı, sinoviyal sıvı, assit sıvısı vb) ölçülebilir (8). Bu ölçümler tercihen Enzim linked immunosorbent assay (ELISA), Radyo immunoassay (RIA) ve High performance liquid chromatography (HPLC) gibi immünolojik yöntemlere dayanan testlerle yapılmaktadır (9). Neopterin böbrekler sayesinde elimine edilerek vücuttan idrar yoluyla atılır (10). Klirensi inülin klerensinden daha yüksek olmasından dolayı, neopterin muhtemel olarak sadece glomerüler filtrasyon yoluyla değil, ayrıca tübüler sekresyon yoluyla da atılabilir (11). Böbrek fonksiyonlarında bozulma olmadığı müddetçe serum konsantrasyonuyla idrar konsantrasyonu arasında bir ilgileşim bulunmaktadır (32).

Neopterin ölçümü için elde edilen örnekler oda sıcaklığında ve ışıktan uzakta 3 güne kadar saklanabilmekte; eğer daha uzun süreler saklanacaksa -20 ºC veya -80 ºC de saklanması gerekmektedir (32). Neopterin seviyeleri T lenfosit proliferasyonundan 3 gün, spesifik antikor üretiminden ise 1 hafta öncesinde yükselmektedir. Bu özelliği sayesinde neopterin düzeyleri hem hücresel immünitenin değerlendirilmesinde

kullanılabilmekte hem de inflamasyonun erken belirteçlerinden biri olarak değerlendirilebilmektedir (33).

Neopterin serum konsantrasyonu 10 nmol / L üst normal limit olarak kabul edilmektedir (34). İdrarda neopterin seviyeleri, HPLC kullanılarak da ölçülebilmekte ve kreatinin seviyeleri ile ilişkili olduğu da belirtilmektedir. Birim değeri Lmol / mol kreatinin olarak ifade edilmekte ve normal aralığı 50 ± 250 lmol / mol kreatinin olarak belirtilmektedir (35).

Viral enfeksiyonlarda özellikle Hepatit A ve B hastalarının neredeyse tamamında neopterin değerleri yüksek ölçülmüştür (36). Daha sonraki çalışmalarda, viral enfeksiyonların kuluçka döneminin bitiminde, klinik semptomların başlamasından hemen önce vücut sıvılarındaki neopterin konsantrasyonlarında bir artış gerçekleştiği ortaya konulmaktadır ve neopterin konsantrasyonlarının, viral yükün seyrine göre değişmekte olduğu grülmüştür. Serokonversiyon sırasında, immün yanıt patojeni başarılı bir şekilde yok ettikten sonra neopterin konsantrasyonları da yine viral yüke bağlı olarak azalmakta ve normalleşmektedir (37).

Neopterin, IFN-gama'ya yanıt olarak aktifleşmiş makrofajlar tarafından üretilir ve bu nedenle, tüberküloz ve Romatoid Artrit gibi pek çok iltihabi hastalıklarda hücre aracılı bağışıklığın bir belirteci olmuştur (38). Neopterin sentezinde hücre aracılı inflamasyonun rolü, yine bu iltihabi hastalıklarda neopterin seviyeleriyle IFN-gama seviyeleri arasındaki ve neopterin seviyeleriyle hastalık aktivitesi arasında pozitif korelasyonlar saptanarak gösterilmiştir (39).

Akut alt solunum yolları enfeksiyonuna, akut respiratuvardistres sendroma ventilatör ilişkili pnömoni kliniğine sahip olgularda neopterin seviyeleri çalışılmış ve patojenlerin farklılığına göre neopterin düzeylerinin farklı etkilendiği tespit edilmiştir. Çalışmada neopterin düzeylerinin pnömokokalpnömonide yükseldiği görülmüş ve bu yüksekliğin hücre içi patojen enfeksiyon varlığında daha fazla olduğu tespit edilmiştir (40). Legionella Pnömoniap nömonisinde neopterin düzeylerinin yükseldiği görülmüş

ve bu durum da neopterinin IFN-gamma aktivitesi sonucu sentezlendiğini göstermekte ayrıca sitotoksik T lenfosit aktivasyonun da bir belirteci olduğunu doğrulamaktadır (40).

2.10. Endotelin

Endotel hücreleri tüm damar duvarı boyunca oluşturdukları tek katlı hücre tabakalarıyla kan ile damar düz kası arasındaki geçirgenliği sağlamakta, bazı aktif maddeleri sentezleyerek metabolik ve endokrin fonksiyonlar göstermektedir (41). 1985 yılında hipoksiye bağlı olarak endotel kaynaklı bilinmeyen bir vasokonstrüktör faktörün varlığı gösterildikten sonra uzun süreli kasılmaya sebep olan bu 21 aminoasit lipeptid domuz aort endotel hücre kültürünün üst sıvısından elde edilmiş ve bu madde endotelin (ET) olarak adlandırılmıştır (42). Endotelinler her biri 21 aminoasitten oluşan 3 farklı izotiptedir: ET1, ET2, ET3 (34, 35). İnsan endotelini yapısal olarak diğer memelilerdeki peptid hormon gruplarından oldukça farklıdır. ET–1 diğerlerine nazaran daha güçlü bir konstrüktör etkiye sahiptir olsa da ET–1 ile ET–2 ve ET–3 arasında büyük benzerlik vardır (42). 3 tane endotelin (ET–1, ET–2, ET–3) ve 2 tane ET-A, ET-B reseptörü tespit edilmiş ve ET-A reseptör üzerine ET–1 ve ET–2 etkiliyken ET-B reseptör üzerine 3 endotelin de etkilidir (43,44).

ET'ler çok geniş etki mekanizmasına ve fizyolojik etkilere sahiptirler. Güçlü vazokonstrüktördürler ve nöroendokrin fonksiyonların düzenlemesinde, aldosteron ve natriüretik hormon salınımının arttırılmasında, hücre büyümesinin ayarlanmasında etkili roller alırlar. ET'ler ayrıca ET-A reseptörü üzerinden osteoblastik hücre mineralizasyonunu da inhibe ederek kemik metabolizmasında da yer alırlar (12).

ET–1 vasküler endotelden salıverilir ve endotel hasarı için bir biyobelirteçtir. Endotel sentezi kardiovasküler hastalıklarda, kalp yetmezliğinde, hipertansiyonda, preeklampside, DM'ta ve metabolik sendromda artış gösterirler. Mg, preeklamptik kadınlarda ET–1' düzeylerini azaltıcı etki gösterir (45).

ET-1'in kemik gelişimi ve onarımı esnasında osteoblastlar ile vasküler endotelyal hücreler arasındaki iletişimden sorumlu olduğu düşünülmektedir (46). Vasküler

endotelyal hücrelerle osteoblastlar arasında karmaşık bir ilişki vardır ve bu ilişkideki önemli etkenlerden birinin de ET–1 olduğu düşünülmektedir. ET–1 osteoblastlardaki çoğalma ve diferansiyasyonu değiştirmek amacıyla çeşitli sinyal yollarını aktive eder. Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü (VEGF) anjiogeneziste ve osteoklast fonksiyonlarında bir uyarıcı rol oynamaktadır. ET–1 ise VEGF'nin bu rolünü inhibe etmekte ve ET–1 de VEGF üzerinden kemik remodellingi üzerinde parakrin etkiye sahiptir (46).

2.11. Nitrik Oksit

2.11.1. Nitrik Oksitin Biyokimyası ve Özellikleri

NO, son yörüngesinde eşleşmemiş bir elektron bulundurması nedeniyle, diğer moleküllerle kovalan olarak bağlanabilen bir serbest radikaldir (13). Çok ciddi derecede toksik bir gaz olan NO serbest radikal yapısında olduğu için yarı ömrü çok kısadır. Diğer serbest radikallerden farkı ise NO'in düşük konsantrasyonlarda önemli fizyolojik fonksiyonlarda rol alıyor olmasıdır. NO, normal koşullarda sabit anyonik ürünleri olan nitrit ve nitrata okside olmaktadır.

2.11.2. Nitrik Oksitin Sentezi

Serbest bir radikal olan NO, NOS (nitrik oksit sentaz) enzim ailesince, bir L-arginin aminoasitinin merkezindeki guanidin grubunun nitrik oksite çevrilmesiyle sentez edilir. Dönüşüm esnasında moleküler oksijenle beraberyer alan kofaktörler, NADPH (redükte nikotinamidadenin dinükleotid fosfat), FAD (flavinadenin dinükleotid), FMN (flavinmono nükleotid) ve BH4 (tetrahidrobiyopterin), hem'eve kalmodulin'e ihtiyaç duyulmaktadır (13). Sentezlenen NO, difüzyon yoluyla vasküler düz kas hücresine geçip guanilat siklazı aktive eder ve cGMP oluşumuna sebep olur. cGMP artışı kalsiyumun hücreye girişini azaltır ve kalsiyumun hücreden çıkışını artırır, bu durumda hücre içi kalsiyum konsantrasyonu azalır ve relaksasyon ile vazodilatasyon gerçekleşir (14).

2.11.3. Nitrik Oksitin Yıkımı

NOS, aracılığıyla enzimatik olarak sentezlenen NO'in metabolize olması amacıyla var olan spesifik bir enzim yoktur (14). Bununla beraber, NO çok kısa sürede 2 ana mekanizma ile ortamdan uzaklaştırılır.

- Biyolojik sıvılarda NO hızla okside olarak nitrit oluşturur ve nitrit de 1-2 saat içerisinde nitrata dönüşür (47).

- Normal koşullarda NO seviyelerinin kontrolünde en önemli faktör NO ile oksihemoglobin tepkimesi sonucunda NO'nun nitrata oksidasyonu durumudur. Oksihemoglobin ve NO arasındaki reaksiyonun neticesinde açığa çıkan methemoglobin, methemoglobin redüktaz enzimince NADPH kofaktörü ile tekrardan hemoglobine indirgenir.

2.11.4. Nitrik Oksitin Etkileri

NO, çok sayıda düzenleyici fonksiyonlar göstermesinin yanısıra, yaşamı tehdit edebilecek derecede ciddi toksik etkiler de göstermektedir (14). Bu özellikler kısaca antioksidanların tüketilmesi, bazı enzimlerin inhibisyonu (Akonitaz, katalaz, sitokrom-p450 vb), DNA hasarı, lipidperoksidasyonu ve diğer toksik etkenlere duyarlılığın artırması vb. olarak sıralanabilir.

3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Etik Kurul İzni

Bu çalışma Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'nun 14.09.2020 tarihli, 16 nolu oturumda ve 16 sayılı, saat 13.30 kararı ile onayı alındı.

3.2. Çalışma Grubunun Oluşturulması

Harran Üniversitesi Hastanesi Enfeksiyon Hastalıkları Polikliniğine Covid-19 tanısı ile gelen 30 tedavi öncesi hasta, 30 tedavi sonrası hasta ve 30 sağlıklı gönüllü birey çalışmaya dâhil edildi ve bu katılımcıların verileri kullanıldı.

Araştırmaya dahil edilen hastalardan biyokimyasal parametrelerinin düzeylerini çalışmak için venöz kan örneği alındı. Alınan venöz kan örnekleri 4000 rpm'de 10 dk santrifüj edildi ve ELISA yöntemi kullanılarak çalışıldı.

3.3. Örneklerin Hazırlanması

Kan örnekleri Covid-19 tedavi öncesi, tedavi sonrası ve kontrol olmak üzere üç grup şeklinde toplandı. Alınan kanlar jelli (biyokimya tüpleri) tüpe aktarıldı. Daha sonra kanlar 4000 rpm'de 10 dakika santifüj edilerek serumları ayrıldı. Ayrılan serumlardan Neopterin, Endothelin-1 ve Nitrik Oksit çalışmak üzere –80 ^{o}C'de saklandı.

3.4. Kullanılan Araç ve Gereçler

Çalışmamızda Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Biyokimya AR-GE Laboratuvarında kullanılan cihazlardan yararlanıp çalışıldı.

1-Santrifüj (Hettich Universal 30 RF)

2-Spektroflorometre (Thermo Fısher Scıentıfıc, Fınland)

3- Derin dondurucu -80 ºC (Thermo)

4- Vorteks (Nüve, NM 110 model, Türkiye)

5- Otomatik biyokimya analizörü (Aeroset, USA)

6-MikroplateWasher (BIORAD, Fransa)

7-Mikrosantfirüj (ISOLAB)

8-Etüv (Memmert, Germany)

9-1000, 100, 10 µl'lik pipet makinesi (Brand marka)

10-300 ve 50 µl'lik çoklu pipet makinesi (Brand marka)

3.5. Neopterin Analizi

Human Neopterin Bioassay Technology Laboratory (BT Lab) markalı kitle çalışıldı (Catalogno: E3155Hu).

- ✓ **Reaktif Hazırlama**

1. Tüm reaktifler kullanılmadan önce oda sıcaklığına getirildi.

2. Standart 8ng / ml standart stok solüsyonu oluşturmak için 120µl standardı (16ng / ml) 120µl standart diluent ile sulandırıldı. Seyreltme yapmadan önce standardın hafifçe karıştırılarak 15 dakika oturmasına izin verildi. Standart stok solüsyonunu (8ng / ml) 1: 2 standart seyreltici ile 4ng / ml, 2ng / ml, 1ng / ml ve 0.5ng / ml solüsyonlar üretmek için seri olarak seyrelterek çift standart noktaları hazırlandı. Standart seyreltici, sıfır standart (0 ng / ml) olarak işlev gördü. Kalan herhangi bir çözelti -20 ° C'de dondurulmalı ve bir ay içinde kullanıldı.

3. Yıkama Tamponu 500 ml 1x Yıkama Tamponu elde etmek için 20 ml Yıkama Tamponu Konsantresini 25x deiyonize veya damıtılmış suyla

seyretildi. Konsantrede kristaller oluşmuşsa kristaller tamamen çözülene kadar yavaşça karıştırıldı.

✓ **Testin Prensibi**

1. Tüm reaktifleri, standart solüsyonları ve örnekleri talimatlara göre hazırlandı.. Kullanmadan önce tüm reaktifleri oda sıcaklığına getirildi, Tahlil oda sıcaklığında gerçekleştirilir.
2. Test için gerekli sayıda şerit belirlendi, Şeritleri kullanmak için çerçevelere yerleştirildi, Kullanılmayan şeritler 2-8 derecede saklandı.
3. Standart kuyucuğa 50 µl Standart ekleyin. Not: standart kuyuya antikor eklenilmedi çünkü standart çözelti biyotinlenmiş antikor içerir.
4. Numune kuyucuklarına 40 µl numune ekleyin, ardından numune kuyucuklarına 10 µl anti-Neopterin antikoru eklendi, ardından numune kuyucuklarına ve standart kuyucuklarına 50 µl streptavidin-HRP eklendi. İyice karıştırıldı. Plakayı bir mühürleyici ile örtün 37 derecede 60 dakika inkübe edildi.
5. Sızdırmazlık maddesini çıkarın ve plakayı 5 kez yıkama tamponu ile yıkandı. Kuyucuklara her yıkama için 30 saniye ile 1 dakika arasında 0,35 ml yıkama tamponu ile ıslattıldı. Otomatik yıkama için, Tüm kuyuları aspire ettik ve 5 kez yıkama tamponu ile yıkanıldı, kuyuları yıkama tamponu ile dolduruldu. Plakayı bir kağıt havlu veya başka bir emici malzeme üzerinde kuruttuk.
6. Her kuyucuğa 50 µl substrat solüsyonu A ekleyin ve ardından her kuyucuğa 50 µl substrat solüsyonu B ekledik. Yeni bir kapatıcı ile kaplanmış plağı karanlıkta 37 derece de 10 dakika inkübe ettik.
7. Her kuyuya 50 µl durdurma solüsyonu ekleyin, mavi renk hemen sarıya döndü.
8. Durdurma solüsyonunu ekledikten sonra 10 dakika içinde 450 nm'ye ayarlanmış bir mikroplaka okuyucu kullanarak her kuyucuğun optik yoğunluğunu (OD değeri) hemen belirledik.

3.6. NitriK Oksit Tayini

Human Nitrik Oksit Bioassay Technology Laboratory (BT Lab) markalı kitle çalışıldı (Catalogno: E1510Hu).

- ✓ **Reaktif Hazırlama**

a. Tüm reaktifler kullanılmadan önce oda sıcaklığına getirildi.

b. Standart 8ng / ml standart stok solüsyonu oluşturmak için 120µl standardı (16ng / ml) 120µl standart diluent ile sulandırdık. Seyreltme yapmadan önce standardın hafifçe karıştırılarak 15 dakika oturmasına izin verdik. Standart stok solüsyonunu (8ng / ml) 1: 2 standart seyreltici ile 4ng / ml, 2ng / ml, 1ng / ml ve 0.5ng / ml solüsyonlar üretmek için seri olarak seyrelterek çift standart noktaları hazırladık. Standart seyreltici, sıfır standart (0 ng / ml) olarak işlev görür. Kalan herhangi bir çözelti -20 ° C'de dondurulmalı ve bir ay içinde kullanıldı.

c. Yıkama Tamponu 500 ml 1x Yıkama Tamponu elde etmek için 20 ml Yıkama Tamponu Konsantresini 25x deiyonize veya damıtılmış suyla seyreltik. Konsantrede kristaller oluşmuşsa kristaller tamamen çözülene kadar yavaşça karıştırdık.

- ✓ **Testin Prensibi**

1. Tüm reaktifleri, standart solüsyonları ve örnekleri talimatlara göre hazırladık. Kullanmadan önce tüm reaktifleri oda sıcaklığına getirip, Tahlil, oda sıcaklığında gerçekleştirildi.
2. Test için gerekli sayıda şerit belirledik, Şeritleri kullanmak için çerçevelere yerleştirdik, Kullanılmayan şeritler 2-8 derecede saklandı.

3. Standart kuyucuğa 50 µl Standart eklendi. Not: standart kuyuya antikor eklemeyin çünkü standart çözelti biyotinlenmiş antikor içerir.
4. Numune kuyucuklarına 40 µl numune eklenip, ardından numune kuyucuklarına 10 µl anti-Nitrik oksit antikoru ekledik, ardından numune kuyucuklarına ve standart kuyucuklarına 50 µl streptavidin-HRP ekledik. İyice karıştırdık. Plakayı bir mühürleyici ile örtün 37 derecede 60 dakika inkübe ettik.
5. Sızdırmazlık maddesini çıkarıp ve plakayı 5 kez yıkama tamponu ile yıkadık. Kuyucuklara her yıkama için 30 saniye ile 1 dakika arasında 0,35 ml yıkama tamponu ile ıslattık. Otomatik yıkama için, Tüm kuyuları aspire edin ve 5 kez yıkama tamponu ile yıkayıp, kuyuları yıkama tamponu ile doldurduk. Plakayı bir kağıt havlu veya başka bir emici malzeme üzerinde kuruttuk.
6. Her kuyucuğa 50 µl substrat solüsyonu A ekleyip ve ardından her kuyucuğa 50 µl substrat solüsyonu B ekledik. Yeni bir kapatıcı ile kaplanmış plağı karanlıkta 37 derece de 10 dakika inkübe ettik.
7. Her kuyuya 50 µl durdurma solüsyonu ekleyin, mavi renk hemen sarıya döndü.
8. Durdurma solüsyonunu ekledikten sonra 10 dakika içinde 450 nm'ye ayarlanmış bir mikroplaka okuyucu kullanarak her kuyucuğun optik yoğunluğunu (OD değeri) hemen belirledik.

3.7. Endothelin Tayini

Human Endothelin Bioassay Technology Laboratory (BT Lab) markalı kitle çalışıldı (Catalogno: E1238Hu).

- ✓ **Reaktif Hazırlama**

a. Tüm reaktifler kullanılmadan önce oda sıcaklığına getirildi.

b. Standart 8ng / ml standart stok solüsyonu oluşturmak için 120µl standardı (16ng / ml) 120µl standart diluent ile sulandırdık. Seyreltme yapmadan önce standardın hafifçe karıştırılarak 15 dakika oturmasına izin verildi. Standart stok solüsyonunu (8ng / ml) 1: 2 standart seyreltici

ile 4ng / ml, 2ng / ml, 1ng / ml ve 0.5ng / ml solüsyonlar üretmek için seri olarak seyrelterek çift standart noktaları hazırladık. Standart seyreltici, sıfır standart (0 ng / ml) olarak işlev görür. Kalan herhangi bir çözelti -20 ° C'de dondurulmalı ve bir ay içinde kullanılmalıdır.

c. Yıkama Tamponu 500 ml 1x Yıkama Tamponu elde etmek için 20 ml Yıkama Tamponu Konsantresini 25x deiyonize veya damıtılmış suyla seyreltik. Konsantrede kristaller oluşmuşsa kristaller tamamen çözülene kadar yavaşça karıştırdık.

✓ **Testin Prensibi**

1. Tüm reaktifleri, standart solüsyonları ve örnekleri talimatlara göre hazırladık. Kullanmadan önce tüm reaktifleri oda sıcaklığına getirip, Tahlil, oda sıcaklığında gerçekleştirildi.
2. Test için gerekli sayıda şerit belirlendi, Şeritleri kullanmak için çerçevelere yerleştirip, Kullanılmayan şeritler 2-8 derecede saklandı.
3. Standart kuyucuğa 50 µl Standart eklendi. Not: standart kuyuya antikor eklemeyin çünkü standart çözelti biyotinlenmiş antikor içerir.
4. Numune kuyucuklarına 40 µl numune ekleyip, ardından numune kuyucuklarına 10 µl anti-Endothelin antikoru ekledik, ardından numune kuyucuklarına ve standart kuyucuklarına 50 µl streptavidin-HRP eklendi. İyice karıştırdık. Plakayı bir mühürleyici ile örtün 37 derecede 60 dakika inkübe ettik.
5. Sızdırmazlık maddesini çıkarıp ve plakayı 5 kez yıkama tamponu ile yıkayıdık. Kuyucuklara her yıkama için 30 saniye ile 1 dakika arasında 0,35 ml yıkama tamponu ile ıslattık. Otomatik yıkama için, Tüm kuyuları aspire ettik ve 5 kez yıkama tamponu ile yıkayıp, kuyuları yıkama tamponu ile doldurduk. Plakayı bir kağıt havlu veya başka bir emici malzeme üzerinde kuruttuk.
6. Her kuyucuğa 50 µl substrat solüsyonu A ekleyip ve ardından her kuyucuğa 50 µl substrat solüsyonu B eklendi. Yeni bir kapatıcı ile kaplanmış plağı karanlıkta 37 derece de 10 dakika inkübe ettik.
7. Her kuyuya 50 µl durdurma solüsyonu eklendi, mavi renk hemen sarıya döndü.

8. Durdurma solüsyonunu ekledikten sonra 10 dakika içinde 450 nm'ye ayarlanmış bir mikroplaka okuyucu kullanarak her kuyucuğun optik yoğunluğunu (OD değeri) hemen belirlendi.

4. BULGULAR ve SONUÇLAR

Verilerin normal dağılıma uygunluğu Shaphiro wilk testi ile test edilmiştir. Sayısal değişkenlerin bağımsız iki grup karşılaştırmalarında Mann-Whitney U testi kullanıldı ve ikiden fazla bağımsız grupta karşılaştırılmasında normal dağılım gösteren özellikler için Tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ve LSD çoklu karşılaştırma testleri, normal dağılmayan özellikler için ise Kruskal Wallis testi ve All pairwise çoklu karşılaştırma testi kullanılmıştır. Tanımlayıcı istatistik olarak sayısal değişkenler için ortalama±standart sapma, maksimum ve minimum değerleri verilmiştir. İstatistiksel analizler için SPSS Windows version 25.0 paket programı kullanılmış ve P<0.05 istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

Tablo 4.1. Değişkenlerin Tanımlayıcı İstatistikleri

	n	Min	Max	Mean	Std. Dev.
NİTRİK OKSİT (µmol\L)	90	10,110	88,684	37,817	23,599
ENDOTELİN (ng\L)	90	26,400	116,400	65,340	27,343
NEOPTERİN (nmol\L)	90	1,453	17,346	5,761	3,545

Araştırmaya dâhil edilen toplam 90 deneğin betimsel istatistikleri incelendiğinde, nitrik oksit ölçümünün ortalaması 37,817 µmol\L olarak bulunmuştur. Standart sapması ise ±23,599'dur. Nitrrik oksit ölçümünün minimum değeri 10,110 µmol\L iken maksimumu 88,684 µmol\L'dir. Endothelin ölçümünün ortalaması 65,340 ng\L olarak tespit edilmiştir. Standart sapması ise ±27,343'dur. Endothelin ölçümünün minimum değeri 26,400 ng\L iken maksimumu 116,400 ng\L 'dir. Neopetrin ölçümünün ortalaması 5,761 nmol\L olarak tespit edilmiştir. Standart sapması ise ±3,545'tir. Neopetrin ölçümünün minimum değeri 1,453 nmol\L iken maksimumu 17,346 nmol\L 'dir. Tüm gözlemler Covid tedavi öncesi, tedavi sonrası ve control olarak üç gruba

ayrılmış olup gruplardaki gözlem sayısı 30'dur (%33,33). Bu veriler öncülüğünde tanımlayıcı istatistiksel analiz sonucuna göre kontrol gruplarına göre hasta olup tedavi öncesindeki Nitrik Oksit, Endotelin ve Neopterin düzeyleri anlamlı ölçüde yüksektir, tedavi sonrasında ise Nitrik Oksit, Endotelin ve Neopterin düzeyleri anlamlı ölçüde azaldığı görülmektedir (Tablo 4.1).

Tablo 4.2. Sürekli Değişkenler Açısından Üçlü Grupların Karşılaştırılması

Parametler	**Tedavi Öncesi**		**Tedavi Sonrası**		**Kontrol Grubu**		**p**
	Mean	**SD**	**Mean**	**SD**	**Mean**	**SD**	
NİTRIK OKSIT(µmol\L)	68,223[1]	±11,359	30,111[2]	±4,609	15,117[3]	±2,834	**0,001**
ENDOTELİN(ng\L)	98,993[1]	±13,900	58,654[2]	±6,824	38,373[3]	±9,196	**0,001**
NEOPTERİN(nmol\L)	9,821[2]	±2,937	4,818[3]	±1,108	2,643[3]	±0,828	**0,001**

Tedavi öncesi, tedavi sonrası ve kontrol grupları arasında ölçüm ortalamaları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılığın olup olmadığını belirlemek için ANAVO testi yapıldı. Analiz sonucunda tüm nicel değişkenler açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar bulunmuştur (p=0,000). Bu farklılıkların her bir değişken için hangi gruplardan kaynaklandığı bulmak için post-hoc çoklu karşılaştırma testilerinden Benferroni testti aracılığı ile değerlendirilmiştir. Nitrik Oksit, Endotelin ve Neoptein değişkenleri açısından her bir grup birbirinden farklı bulunmuştur. Tedavi öncesi grubundaki Nitrik Oksit (68,223 µmol\L) seviyesi tedavi sonrası (30,111 µmol\L) ve kontrol (15,117 µmol\L) gruplarına göre anlamlı ölçüde yüksektir. Kontrol grubuna göre kıyaslandığında tedavi öncesi Nitrik Oksit seviyesi artarken tedavi sonrası Nitrik Oksit seviyesi anlamlı bir şekilde düşmüştür (p< **0,001).** Tedavi öncesi grubundaki Endotelin (98,993 ng\L) seviyesi tedavi sonrası (58,654 ng\L) ve kontrol (38,373 ng\L) gruplarına göre anlamlı ölçüde yüksektir. Kontrol grubuna göre kıyaslandığında tedavi öncesi endothelin seviyesi yüksek iken tedavi sonrası endotelin seviyesi anlamlı bir şekilde düşmüştür (p<**0,001).** Tedavi öncesi grubundaki Neopterin (9,821 nmol\L) seviyesi tedavi sonrası (4,818 nmol\L) ve kontrol (2,643 nmol\L) gruplarına göre anlamlı ölçüde yüksektir. Kontrol grubuna göre kıyaslandığında tedavi öncesi neopetrin seviyesi yüksek iken tedavi sonrası neopetrin seviyesi anlamlı bir şekilde düşmüştür (p< **0,001)** (Tablo 4.2

Tablo 4.3. Değişkenler Arasındaki Korelasyonun Değerlendirilmesi

		NİTRİK OKSIT (µmol\L)	ENDOTHELİN (ng\L)	NEOPTERİN (nmol\L)
NİTRİK OKSİT (µmol\L)	r	1	,920**	,793**
	p	-	**0,001**	**0,001**
ENDOTELİN (ng\L)	r	,920**	1	,782**
	p	**0,001**	-	**0,001**
NEOPTERİN (nmol\L)	r	,793**	,782**	1
	p	**0,001**	**0,001**	-

Nicel ölçümler arasında istatistiksel açıdan anlamlı ilişkiler olup olmadığı araştırılmıştır. Bu ilişki analizi sonucunda tüm değişkenlerin birbiriyle anlamlı ilişkilere sahip olduğu sonucuna ulaşılmıştır ($p<0,05$). Nitrik Oksit değişkeni Endotelin ve Neopetrin değişeni ile pozitif yönlü yüksek düzeyde ($r=0,920$ - $r=0,793$) bir ilişkiye sahiptir Endotelin değişkeni Nitrik Oksit ve Neopetrin ile pozitif yönlü yüksek düzeyde bir ilişkiye sahiptir($r=-0,920$ - $r=0,782$). Neopetrin değişkeni, Endotelin ve Neopetrin ile pozitif yönlü yüksek düzeyde bir ilişkiye sahiptir ($r=0,793$ - $r= 0,782$). Bu veriler sonucunda Nitrik Oksit ölçümü, Endotelin ve Neopterin ile pozitif yönlü güçlü bir ilişkiye sahiptir. Nitrik Oksit seviyesinin artması, Endotelin ve Neopterin seviyelerini artıracaktır. (Tablo 4.3).

Tablo 4.4. Tedavi Öncesi Grubunda Klinik Değişkenler Arasındaki Korelasyonun Değerlendirilmesi

		NİTRİK OKSIT (µmol\L)	ENDOTELİN (ng\L)	NEOPTERİN (nmol\L)
NİTRİK OKSIT (µmol\L)	r	1	0,507**	-0,145
	p	-	**0,004**	0,445
ENDOTELİN (ng\L)	r	,507**	1	-0,022
	p	**0,004**	-	0,910
NEOPTERİN (nmol\L)	r	-0,145	-0,022	1
	p	0,445	0,910	-

Tedavi Öncesi grubunda klinik ölçümler arasındaki ilişki incelendiğinde; Nitrik Oksit ile Endotelin pozitif yönlü ortada düzeyde anlamlı bir ilişki vardır ($0,30 < r < 0,70$; $p<0,004$) (Tablo 4.4).

Tablo 4.5. Tedavi Sonrası Grubunda Klinik Değişkenler Arasındaki Korelasyonun Değerlendirilmesi

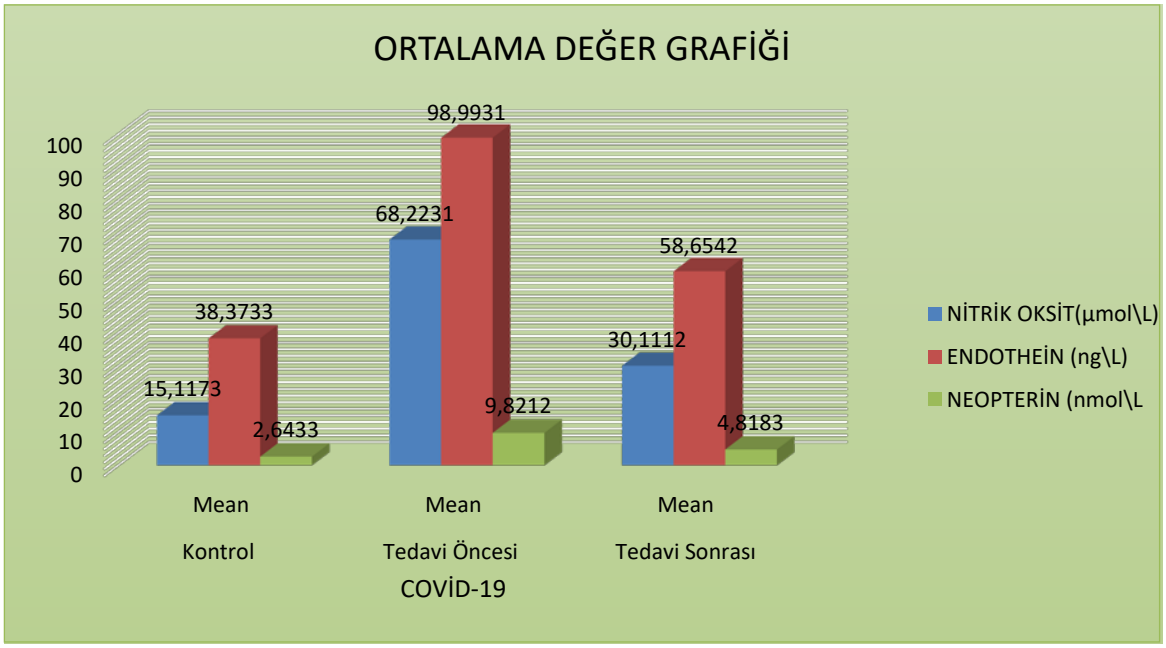
		NİTRİK OKSIT (µmol\L)	ENDOTELİN (ng\L)	NEOPTERİN (nmol\L)
NİTRİK OKSID (µmol\L)	r	1	0,046	0,091
	p	-	0,808	0,633
ENDOTELİN (ng\L)	r	0,046	1	-0,204
	p	0,808	-	0,279
NEOPTERİN (nmol\L)	r	0,091	-0,204	1
	p	0,633	0,279	-

Tedavi sonrası gruplarının klinik ölçümlerinde; değişkenler birbiriyle ilişkili değillerdir (Tablo 4.5).

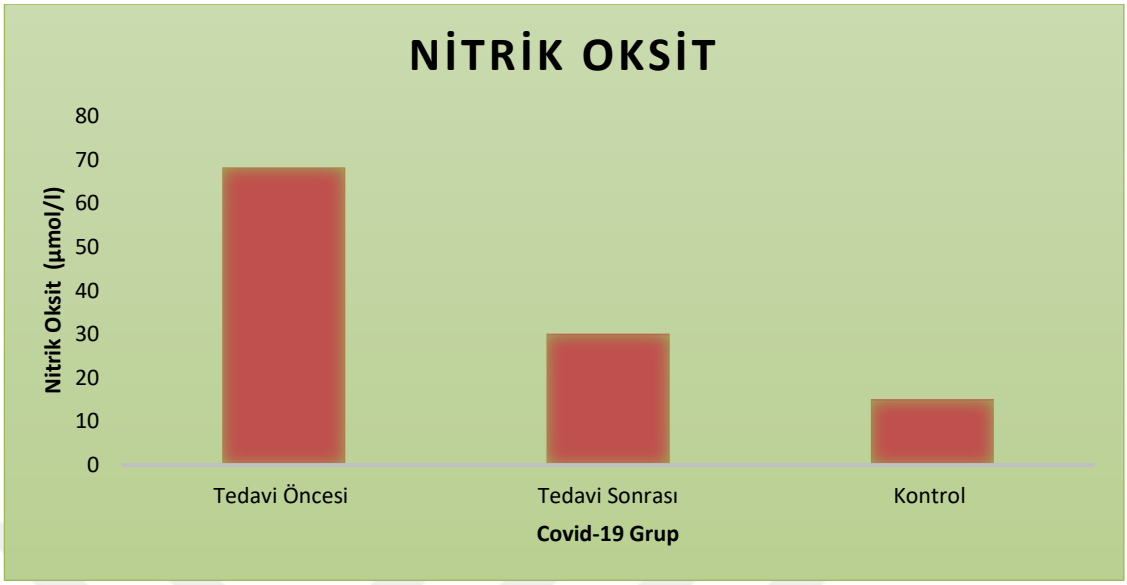
Tablo 4.6. Kontrol Grubunda Klinik Değişkenler Arasındaki Korelasyonun Değerlendirilmesi

		NİTRİK OKSİT (µmol\L)	ENDOTHELİN (ng\L)	NEOPTERİN (nmol\L)
NİTRİK OKSIT (µmol\L)	r	1	-0,180	-0,227
	p	-	0,342	0,228
ENDOTELİN (ng\L)	r	-0,180	1	0,011
	p	0,342	-	0,953
NEOPTERİN (nmol\L)	r	-0,227	0,011	1
	p	0,228	0,953	-

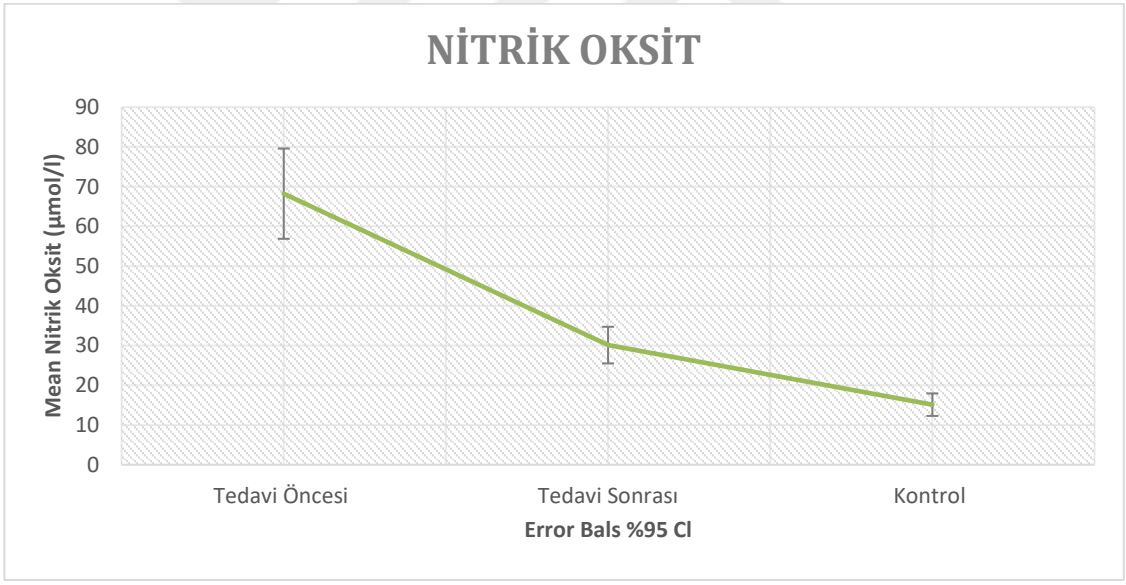
Kontrol gruplarının klinik ölçümlerinde; değişkenler birbiriyle ilişkili değillerdir (Tablo 4.6).



Şekil 4.1. Değişkenlerin Ortalama Değerleri

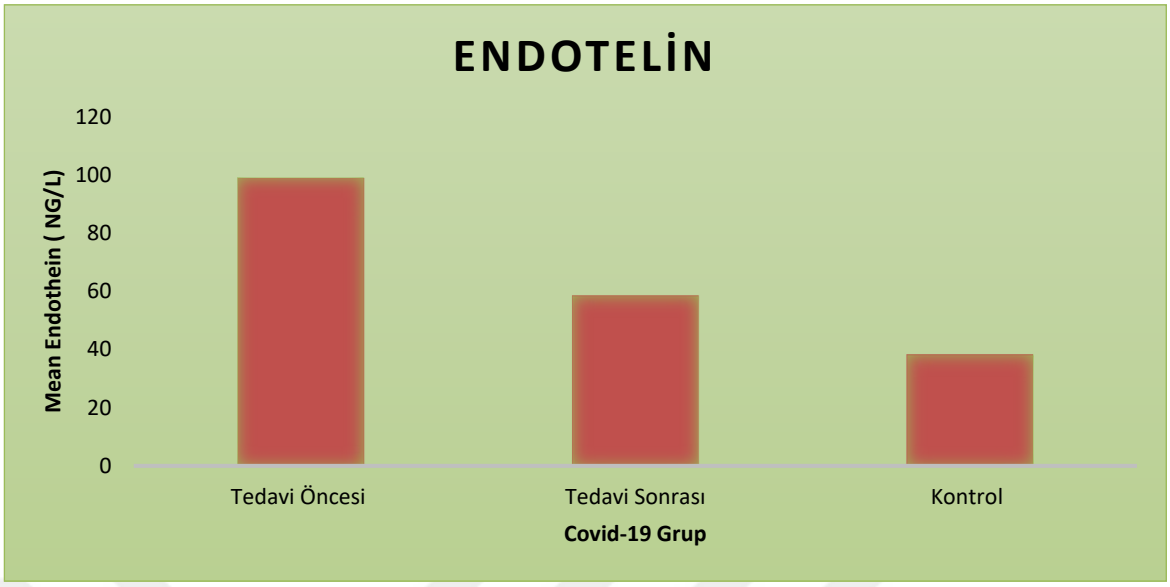


Şekil 4.2 . Nitrik Oksit ölçüm ortalamaları

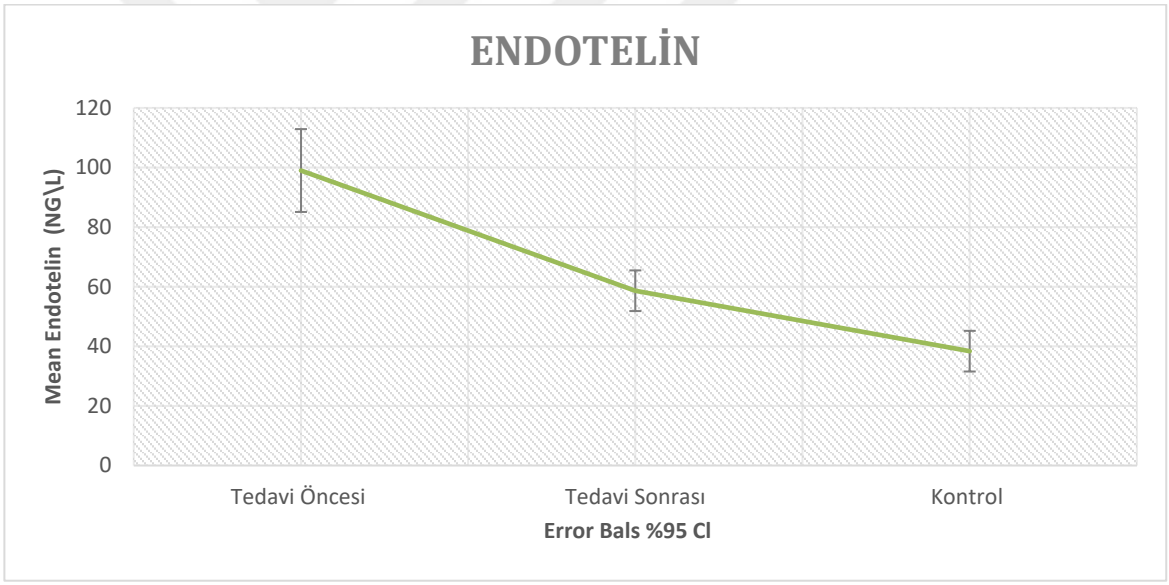


Şekil 4.3. Nitrik Oksit ölçüm ortalamalarının çizgi grafiği

Yapılan istatistik sonucuna göre Covid-19 tanısı konulmuş hastalarda Nitrik Oksit seviyesi kontrol grubuna göre seviyesi artmıştır. Tedavi sonrası bu seviyenin anlamlı bir şekilde azaldığı tespit edilmiştir (Şekil 4.2 ve Şekil 4.3) (p< **0,001).**

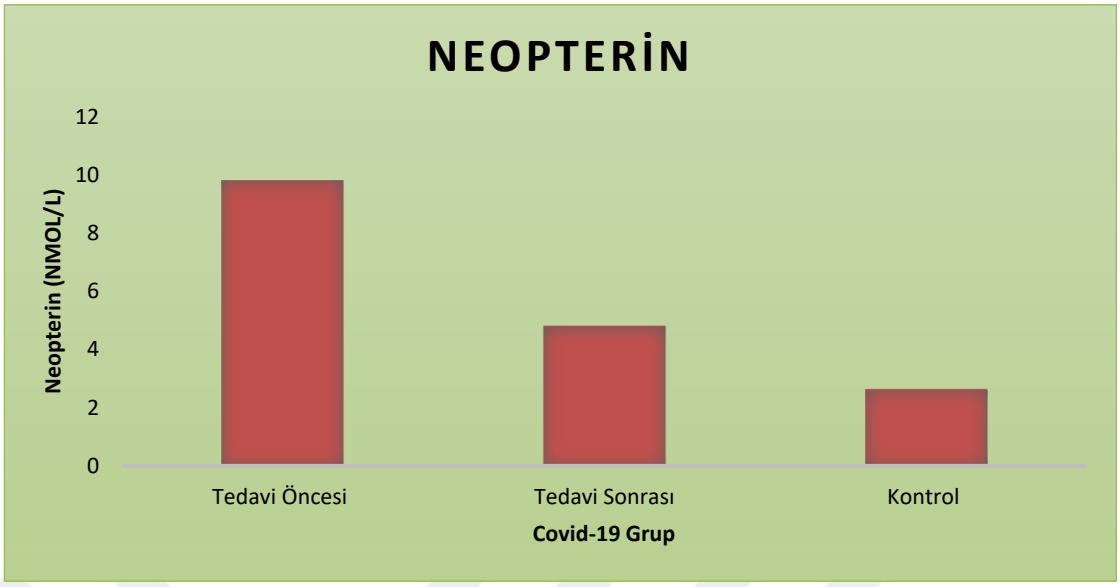


Şekil 4.4. Endotelin ölçüm ortalamaları

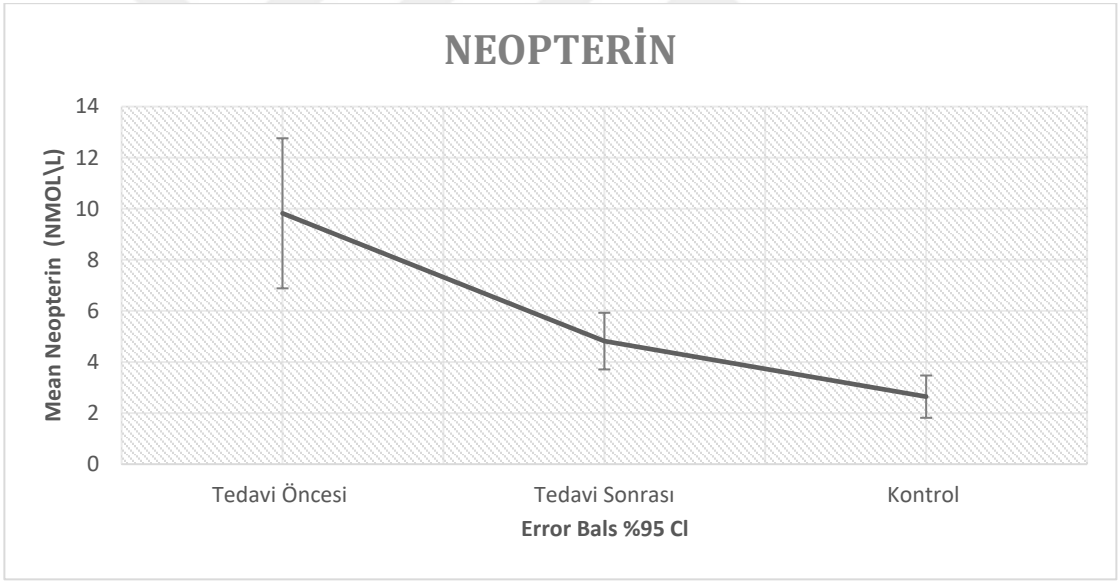


Şekil 4.5. Endotelin ölçüm ortalamalarının çizgi grafiği

Yapılan istatistik sonucuna göre Covid-19 tanısı konulmuş hastalarda Endotelin seviyesi kontrol grubuna göre seviyesi artmıştır. Tedavi sonrası bu seviyenin anlamlı bir şekilde azaldığı tespit edilmiştir (Şekil 4.4 ve Şekil 4.5) (p< **0,001).**



Şekil 4.6. Neopetrin ölçüm ortalamaları



Şekil 4.7. Neopetrin ölçüm ortalamalarının çizgi grafiği

Yapılan istatistik sonucuna göre Covid-19 tanısı konulmuş hastalarda Neopterin seviyesi kontrol grubuna göre seviyesi artmıştır. Tedavi sonrası bu seviyenin anlamlı bir şekilde azaldığı tespit edilmiştir (Şekil 4.6 ve Şekil 4.7) (p<**0,001).**

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Dünya Sağlık Örgütü, COVID-19'u bir pandemi olarak ilan ettiği zamandan itibaren bu ciddi hastalığı anlamak için büyük bir çabalar sarf edilmiştir. Epidemiyolojisini, moleküler özelliklerini, mekanizmalarını ve bu viral enfeksiyonun klinik evrimini anlamaya yönelik binlerce çalışma yapılmaktadır. Bununla birlikte, patogenezi ve hastalığın ilerlemesindeki konak yanıt mekanizmaları hakkında çok az yayın yapılmıştır. Bu nedenle, oksidatif stresi, sitokin fırtınasının amplifikasyonuna ve sürdürülmesine katılımı, koagülopati ve hücre hipoksisi gibi COVID-19 hastalarında bulunan değişikliklerle ilişkilendiren güçlü bilimsel çalışmalar büyük önem kazanmaktadır.

Şiddetli akut solunum sendromu koronavirüs-2 (SARS-CoV-2) son zamanlarda tıp bilimleri için yeni bir zorluk olarak ortaya çıkmıştır (48). COVID-19 hastalığının solunum yolu hastalığına neden olmasına rağmen, patogenezi hala tam olarak anlaşılamamıştır. COVID-19, dünya çapında yaygın bir şekilde yayılması ve yüksek oranda insandan insana bulaşma göstermesinden dolayı 11 Mart 2020'de Dünya Sağlık Örgütü tarafından bir pandemi olarak kabul edildi. COVID-19 progresyonunun, hafif soğuk algınlığı ve kuru öksürük gibi ilk semptomları, ardından ateş, yorgunluk ve nefes darlığı ile birlikte nefes darlığı ve daha ciddi vakalarda oksijen satürasyonu %85'in altında olan hipoksemiyi içerdiği bildirilmiştir (49). Hafif soğuk algınlığı olan asemptomatik hastalardan klinik ve laboratuvar muayenelerinde ciddi organ yetmezliğine, ölüme kadar ilerleyebilen önemli değişikliklere kadar COVID-19 hastaları tarafından sunulan çeşitli belirti ve semptomlar tanımlanmıştır. Gözlenen değişiklikler arasında azalmış toplam lenfositler, uzamış protrombin zamanı, yüksek laktat dehidrojenaz, hücresel immün yetmezlik, pıhtılaşma aktivasyonu, miyokardiyal, karaciğer, böbrek hasarı, akciğer, kalp ve ince bağırsakta endotelit yer almaktadır (50).

Bu değişikliklerde rol oynayan mekanizmalar bilinmemekle birlikte, SARS-CoV-2'li hastaların akciğerlerinin çıplak gözle gözlemi, eksüdatif proteinli lezyonun patolojik özelliklerini gösterirken, mikroskobik incelemede inflamatuar lenfositik infiltratlar da görülmüştür (51). Biyopsi ve ölüm sonrası çalışmalar, hava boşluklarını infiltre eden

hyalin membranlar, mononükleer hücreler, makrofajların oluşumu ve alveolar duvarın yaygın kalınlaşması ile yaygın alveolar hasarı göstermektedir. Ayrıca dalak atrofisi, hiler lenf nodu nekrozu, böbrekte fokal hemoraji ve inflamatuar hücre infiltrasyonu ile birlikte karaciğer büyümesi de hastalık sırasında önemli derecede kötüleşme oluşturmaktadır (52). Bazı hastalarda çoğunlukla sitokin fırtınasının klinik ve laboratuvar özellikleriyle ilişkili olan kötü sonuçlar görülmektedir. Ayrıca birden fazla organda hiperkoagülasyon ve hipoksi en kötü semptomlardır. Reaktif oksijen türlerinin (ROS) neden olduğu oksidatif stres, diğer inflamatuar ve bulaşıcı hastalıklarda gözlenen tüm ana değişikliklerle ilgilidir ve tüm bu olayları birleştiren bağlantı noktası olabilir.

Birkaç in vitro ve in vivo çalışma, bazı virüslerin hayatta kalmak için uyguladıkları konak hücrenin redoks dengesini değiştirme stratejisini vurgulamıştır. Oksidatif stresin virüs enfeksiyonu ile başlatılmasının, patojenik ajanlarla savaşmak için NF-κB üretimiyle sitokinler aracılığıyla doğuştan gelen bağışıklığın aktivasyonunda anahtar bir rol oynadığı gösterilmiştir (53). Respiratuar sinsityal virüs (RSV) enfeksiyonunun ROS üretimini indüklediği ve bunun da proinflamatuar sitokinlerin ekspresyonunu ve doğuştan gelen immün savunmayı indüklediği gösterilmiştir (54). Birkaç virüs hücre içinde replikasyonlarını kolaylaştırmak için oksidatif stresi indükler; ROS seviyelerini kontrol etmenin bir yolu olarak bu virüsler, Nrf2 yolağını kendi lehlerine manipüle etme yeteneği kazanarak evrimleşmişlerdir (55). Bazı durumlarda virüsler Nrf2 yolunu baskılama yeteneğine de sahiptirler (56). Örneğin, RSV, insan alveolar tip II benzeri epitel hücrelerinde, küçük hava yolu epitel hücrelerinde lipid peroksidasyonunu arttırır, GSH'yi azaltır ve Nrf2 yolunun aktivasyonunu inhibe ederek hemoksijenaz-1 dahil Nrf2 hedef genlerinin ekspresyonunda bir azalmaya neden olur (57). HO-1, süperoksit dismutaz 1 (SOD1), süperoksit dismutaz 3 (SOD3), glutatyon S-transferaz (GST), katalaz (CAT) ve glutatyon peroksidaz (GPx) aynı zamanda, Toll benzeri reseptör ve interferon (IFN) yolları, virüs enfeksiyonuyla savaşmak için enfeksiyon kaynaklı oksidatif stres tarafından tetiklenir (58). Öte yandan, bir konakçı hücre tarafından kusurlu redoks dengesinin, oksidatif stres tarafından tetiklenen hücre ölümünün büyük ölçüde indüklenmesiyle sonuçlanan viral patogeneze katkıda bulunduğu gösterilmiştir (59). İnfluenza virüsünün alveolar epitel hücrelerinde apoptozu ve sitotoksisiteyi indüklediği, buna kaspaz 1 ve 3'ün artan ekspresyonu ve

proinflamatuar sitokin IL-8'in eşlik ettiği gösterilmiştir. Bu virüs oksidatif stresi indükler, ancak aynı zamanda insan alveolar epitel hücrelerinde oksidatif hasara karşı koruyucu bir enzim olan HO-1'in daha sonra ekspresyonu ile Nrf2'nin nükleer translokasyonunu kolaylaştırır (60). Bu bulgular, oksidatif stresin virüs enfeksiyonuna yanıtın başarısı veya başarısızlığında önemli bir rol oynadığı fikrini doğrulamaktadır.

Septik hastalarda yüksek ROS seviyelerinin üretimi, eritrosit membranında değişikliklere yol açar ve bu da makrofajlarda ve nötrofillerde fagositozu indükler ve daha fazla ROS üretimi ile bir döngüyü sürdürür (61). Bu durum artan serbest hemoglobin seviyelerine ve dokulara düşük oksijen taşınmasında katkıda bulunur. Serbest hemoglobin ayrışır, hem oluşturur, bu daha sonra hem oksijenaz (OH-1) tarafından serbest demir üretmek üzere parçalanır; hem Hem molekülü de serbest demir hücrelere zararlıdır (62). Çekal ligasyon ve delinme (CLP) ile bir sepsis modeli çalışmasında, kontrol ile karşılaştırıldığında üç kata kadar artan toplam vücut serbest demir seviyeleri ölçülmüştür (63). Apoferritin (demir ile birleştirilmeyen ferritin) verilmesi ve ferritin ağır zincirinin ekspresyonunun indüklenmesi, CLP ile indüklenmiş farelerin ölümlerini azaltmıştır (64). Azaltılmış oksijen doygunluğu, süperoksit radikaline ve mitokondri tarafından H2O2 oluşumuna yol açar (65). Süperoksit anyon radikali (III) demiri (II) demire indirger, bu da inflamatuar ortamda fagositik hücreler tarafından da üretilen H2O2 varlığında hücre oluşumunu destekleyen aşırı derecede toksik bir ajan olan hidroksil radikalleri (•OH) üretir. Membran lipid peroksitleri ve protein oksidasyonu, apoptoz ve/veya nekroz ile hücre ölümünü tetikler. Demir III'ün hidroksil radikalleri yoluyla kan pıhtılaşmasını indüklediği de gösterilmiştir. Hidroksil radikalleri, çözünür plazma fibrinojenini, enzimatik bozunmaya dirençli yoğun keçeli tortular şeklinde anormal fibrin pıhtılarına dönüştürür (66).

Tüm bu olayların bir kez başladıktan sonra etkenden bağımsız olarak meydana geldiğine ve hastanın durumunu kötüleştirdiğine inanıyoruz**.** Virüs hava yollarına girdikten sonra replikasyonu gerçekleşir ve inflamatuar sitokinlerin ve reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretimine karşı Toll benzeri ve NOD reseptörleri aracılığıyla makrofaj ve dendritik hücrelerin aktivasyonu ile immün doğal yanıt başlar. Bunun sonucunda kana yayılmanın iki sonucu vardır: 1) eritrositler ROS ve heme ve serbest demir

oluşumuna yol açan diğer inflamatuar mekanizmalar tarafından zarar görür; 2) aktive makrofajlar ve nötrofiller, oksidatif strese yol açan süperoksit radikalleri ve H2O2 üreten solunum patlamaları üretir. Oksidatif stres artı serbest demir, çözünür plazma fibrinojenini yoğun keçeli tortular (enzimatik bozulmaya dirençli DMD; kan pıhtıları) şeklinde anormal fibrin pıhtılarına dönüştürür ve vasküler sistemde ve pulmoner mikrosirkülasyonda mikrotromboza yol açar. Sitokin fırtınası, NF-KB yoluyla sitokin ekspresyonunun yukarı regülasyonu yoluyla gerçekleşir. Bu senaryo oluşturulduktan sonra, sitokin fırtınası makrofaj ve nötrofil solunum patlaması aktivitesi yoluyla oksidatif stresi indükler ve oksidatif stres sitokin fırtınasını indükler. Bu döngü, virüsten bağımsız olarak ciddi doku hasarına neden olur.

Nitrik oksit (NO), son yörüngesinde bir serbest elektron bulundurmasından dolayı, bir başka molekül ile kovalent bağla bağlanabilme yeteneğine sahip bir serbest radikal molekülüdür.(13) NO, Son derece ciddi düzeyde toksik bir gaz olup serbest bir radikal olduğundan kısa yarı ömürlüdür. Fakat NO, düşük konsantrasyonda fizyolojik etkiler gösterdiğinden dolayı diğer serbest radikallere göre farklılık göstermektedir. NO'in oksidasyonu, normal şartlarda sabit anyonik ürünlerle yanı nitrit ve nitratla sonuçlanmaktadır. NO, hem fizyolojik etkilere hem de yüksek konsantrasonlarda zararlı etkilere sahiptir. Bu etkiler; bazı enzimlerin inhibisyonu (Akonitaz, sitokrom-p450, katalaz vb), antioksidanların tüketilmesi, lipid peroksidasyonu, DNA hasarı ve diğer toksik etkenlere duyarlılığın artırması olarak verilebilir (67).

Nitrik Oksit sentez edildiği hücrelerin yalnızca çok yakından etkili olmakta ve bu sebeple bir parakrin hormon benzeri yapı olarak kabul edilmektedir (68). Ayrıca yarı ömrünün kısalığı ve lokal etki göstermesi nedeniyle de Nitrik Oksit, sistemik etkili bir hormon olarak da tanımlanabilir; çünkü hemen hemen tüm organlarda pek çok değişik farmakolojik etkiler görülmektedir. Nitrik Oksit'in gösterdiği farmakolojik etkiler ise; Damar tonusunu düzenlenmesinde görev alır ve vazodilatatör etkiler gösterir. Trombosit işlevlerini inhibe ederler. Nitrik Oksit, Akciğerlerde pulmoner damar tonuslarının düzenlenmesinde rol oynar, bronkospazmın azalmasında rol alır. Nitrik Oksit aynı zamanda ARDS 'li hastalarda gelişen lezyonların şiddetini azaltıcı etki gösterdiği bildirilmiştir (69). İmmün sisteme ait ve enflamasyonda salınan sitokinler makrofaj

hücrelerde Nitrik Oksit salınım verilirler. Tümör hücrelerinde ise sitotoksik etki gösterdiği gözlemlenmiştir.. Bu etkileriyle Nitrik Oksit, immüne cevap vermesi gibi önemli bir role sahiptir (70). Nitrik Oksit'in infekte makrofajlarda bakterisid etkisi olduğu bildirilmiştir (71). Nitrik Oksit'in sıtma, kala-azar ve tüberküloza neden olan parazit ve bakterilere karşı gösterdiği koruma etkisi de gözlenmiştir (72). Nitrik Oksit kanser kemoterapisinde kullanılan droglara, antiparazitlere ve antibiotiklere additif etki gösterdiği belirtilmiştir (73). Nitrik Oksit insüline bağımlı Diyabet de ve organ transplantasyonlarını takip eden rejeksiyon reaksiyonlarında da görev alırlar. Diyabet hastalarında artış gösteren serbest radikaller Nitrik Oksit tutarak vazodilatasyonda azaltmaya neden olduğu gözlemlenmiştir. Vazokonstrüksiyon gerçekleşmesiyle hipertansiyonda Nitirk Oksit molekül eksikliğinin bir etken olabileceği düşünülmüştür Nitrik Oksit aynı zamanda merkezi sinir sisteminde etkili bir nörotransmitter olarak kabul görmektedir. Glia hücrelerinden ve nöronlardan Nitrik Oksit senteziyle cGMP sentezi ve glutamat reseptör aktifleşmesi arasında ilişki olabileceğini gösteren bir grup çalışma olduğu gösterildi (74).

Nitrik oksit, ilk defa Furchgott ve Zawadzki tarafından endotelyal hücrelerde tarif edilen prostaglandin olmayan bir vazorelaksan ajan olan endotelyal kaynaklı gevşetici faktörün (EDRF); vazodilatör aktivitesini açıklayan gaz halinde biyolojik bir molekül olduğu bildirildi. Nitrik oksit sitrülin veren guanidino-azot L-arginin'den sentez edilir ve kardiyovasküler, bağışıklık sistemi, üreme sistemi ve sinir sistemlerinde çeşitli işlevlerin kontrolünde önemli bir rol üstlendiği bildirilmiştir (75).

Nitrik oksit üretimi, NO sentaz (NOS), nöronal (nNOS), indüklenebilir (iNOS) ve endotelyal(eNOS) enzimlerin üç ana izoformu tarafından katalize edilir. Nöronal(nNOS) ve endotenyal(eNOS), hücrelere kalsiyum akışıyla yapısal olarak eksprese ve aktive edilir. indüklenebilir(iNOS) kalsiyumdan bağımsızdır, sentezi diğer hücre tiplerinde inflamatuar, endotoksin gibi uyaranlar tarafından indüklenir. İlgili proteinler için cDNA'lar hemen hemen tüm memeli hücrelerinde bulunmasına rağmen, fizyolojik koşullar altında eNOS, endotel hücrelerinde eksprese edilen ana NOS izoformudur. Buna rağmen, inflamasyon ve hücre hasarı sıklıkla iNOS ekspresyonu ile ilişkilidir (76). Kalpte, hem eNOS hem de iNOS, kardiyak miyositlerin kasılma özelliklerini modüle eden sinyal yollarıyla ilişkilendirilmiştir. Kalp içinde, eNOS

izoformu, koroner damar sisteminin hem endokardında hem de endotelinde, kardiyak miyositlerde ve özel kardiyak iletim dokusunda eksprese edilir ve aktivitesinin kasın kasılma durumu tarafından düzenlendiği görülmektedir (77). Kalp tersine, iNOS ekspresyonu kardiyak miyositlerde, endokardiyal endotelde, infiltre inflamatuar hücrelerde, vasküler düz kasta, fibroblast ve mikrovasküler endotelde sitokinler tarafından indüklenir (78).

Nitrik oksit, hem bazal hem de agonistle uyarılan koşullar altında endotel hücrelerinden üretilerek salını verilir. Temel koşullar altında Nitrik Oksit salınımına sebep olan temel uyaranlar kayma gerilimi ve pulsatil akıştır (79). Kardiyovasküler sistemde Nitirk Oksit sadece vasküler gevşemeye neden olmakla kalmaz, aynı zamanda trombosit adezyonunu ve agregasyonunu, düz kas hücresi proliferasyonunu, monosit adezyonunu, farklı adezyon moleküllerinin ekspresyonunu ve Endotelin-1 üretimini de engeller (80). Nitrik Oksit'in miyokardiyal fonksiyonlar üzerindeki etkileri hala bilimsel araştırmaların konusudur. Bazal endojen Nitrik Oksit üretiminin miyokardiyal kontraktiliteyi ve kalp hızını desteklediğini gösteren kanıtlar olsa da, yüksek konsantrasyonlarda Nitrik Oksit'in negatif inotropik etkileri nedeniyle iNOS ekspresyonunun kardiyo depresif etkileri olduğu bildirilmiştir (81).

Son zamanlarda, solunan Nitrik Oksit'in koronavirüsün (COVID-19) tedavisinde olası rolü büyük bir ilgi görmüştür (82). Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi yakın zamanda hafif veya orta şiddette COVID-19'lu hastalar için solunan Nitrik Oksit tedavisi için genişletilmiş acil kullanımı erişim sağlandı. Deneysel ve klinik kanıtlar Nitrik Oksit'in vazodilatör etkisi nedeniyle koronavirüs aracılı akut solunum sendromunun tedavisinde potansiyel olarak yararlı olduğunu bildirilmiştir.Yapılan bilimsel bir çalışmada solunan Nitirk Oksit ile tedavi edilen COVID-19 hastalarının yarısından fazlasının invaziv mekanik ventilatör kullanımından kaçınabileceğini gösterildi (83). Covid-19 kaynaklı hastalarda inhale Nitrik Oksit'in ARDS' de arteriyal oksijenasyonu önemli ölçüde iyileştirdiği gözlemlenmiştir (84). Aynı zamanda inhale Nitrik Oksit tedavisi, COVID-19'un kardiyovasküler belirtilerinden biri olan pulmoner vasküler disfonksiyonu da önleyebilirliği gözlemlenmiştir.Ancak bu yaklaşımın sonuçları hala tartışmalıdır, sonzamanlarda yapılan bilimsel araştırmalarda inhale Nitrik Oksit tedavisinin akut kor

pulmonale tedavisinde çok az etkisi olduğunu ve pulmoner vazodilatasyon nedeniyle şantı kötüleştirebileceği bildirildi.(85).

Günümüzde yapılan çalışma ve araştırmalarda NO'in antiviral ajan olarak Covid-19'un tedavisinde yer alabilirliği incelenmiş ve bazılarında tedavide etkili olduğu görülmüştür. Nitrik Oksit her ne kadar vücutta hem yararlı hem de zararlı etkilere sahip olduğu vurgulansa da Covid-19'a karşı bir savunma mekanizması olarak kandaki seviyelerinin artabileceği düşünülmektedir. Yapılan bilimsel araştırmalarda Nitrik Oksit'in Covid-19 hastalarında semptomların giderilmesinde etkili olduğu vurgulanmıştır. Covid-19 tanısı alıp hastanede yatan hastalara solunum yoluyla nitrik oksit tedavisi verilmiş bazı hastalarda iyileşme olduğu gözlemlenmiştir. Bu nedenden dolayı nitrik oksit Covid-19 tedavisinde kontrollü bir şekilde kullanıldığında fayda sağlayabilirliği bildirilmiştir.

Biz de 3 ayrı grupta tedavi öncesi 30 birey, tedavi sonrası 30 birey ve kontrol grubu 30 birey olmak üzere toplamda 90 bireyde bu çalışmamızı tamamladık. Bu çalışma sonucunda nitrik oksit seviyelerini tedavi öncesi grubunda grup ortalaması değeri 68,2231±11,359 µmol\L, tedavi sonrası grup ortalaması değeri 30,1112±4,609 µmol\L ve kontrol grubun grup ortalaması değeri 15,1173±2,834 µmol\L olarak ölçülmüştür (Tablo 4.2). Yapılan çalışmamızda istatistiksel analizlere göre Covid-19 tanısı konulmuş hastalarda nitrik oksit seviyesi kontrol grubuna göre anlamlı olarak artmıştır. Tedavi sonrası bu seviyenin anlamlı bir şekilde azaldığı ve kontrol grubuna göre yine daha yüksek olduğu da tespit edilmiştir (Tablo 4.2, Şekil 4.2, Şekil 4.3). Covid-19 hastalarında Nitrik oksit seviyesi incelenmiş, hastaların tedaviden önce nitrik oksit seviyelerinin yüksek olduğu, tedavi aldıktan sonra nitrik oksit seviyesinin düştüğü yapılan istatistiksel analiz çalışmalarında da tespit edilmiştir.

Yaptığımız çalışmada tedavi öncesi Nitrik Oksit miktarının kontrol gurubuna göre anlamlı bir şekilde yüksek olduğu tespit edildi. Ayrıca tedavi sonrasında ise Nitrik Oksit miktarının anlamlı şekilde azaldığı tespit edildi. Elde ettiğimiz veriler mevcut literatür bilgilerini destekler nitelikte olduğu gözlemlenmiştir. Bu nedenle Nitrik Oksit miktarının azaltılmasını sağlayan mekanizmasının aktive edilmesi tedaviye olumlu

etkiler sağlayacaktır. Nitrik oksitidin covid-19 hastalığında ağır akut solunum yetmezliği olan hastaların dokularında ve kanında oksijenlenmeyi artırdığı, damarları vazodilate ederek hiper tansiyonu önlemede, immun sisteme yanıt vermesi ve inflamasyon açısından iyi bir prognoz, tanı ve tedavi de önemli bir biyobelirteç olarak kullanılabileceği önceki yapılan bilimsel çalışmalarda da destekler nitelikte olduğu ön görüldü.

Neopterin; Guanozin trifosfattan (GTP), GTP siklohidrolaz 1 (GTPCH-1) yolağı ile sentez edilenen unkonjuge bir pteridin türevidir. GCH-1 enzimiyle GTP; 7,8-Dihidronopterin trifosfata dönüştürülür ve 7,8-Dihidronopterin monositler, makrofajlar ve endotel hücrelerinde birtakım defosforilasyon ve oksidasyon reaksiyonları sonrasında neopterin bileşiğine dönüşmektedir. GCH-1 enzim aktivitesi, T lenfosit hücrelerinden salıverilen interferon gama (IFN-gama) ile stimüle edilmektedir (31). Bu sebeple Neopterin, hücresel immünitenin bir göstergesi olarak görülmektedir. Aktive edilmiş T lenfositlerden salıverilen IFN-gama, makrofajların neopterin üreterek, vücut sıvılarında yoğunluğunun artmasına sebep olur. Neopterinle birlikte yine bu hücrelerden serbest oksijen radikallerinin üretimi arasında da bir ilişki mevcuttur (5).

Neopeterin, serum ve diğer biyolojik sıvılardaki yüksek Neopeterin seviyelerinin, yüksek reaktif oksijen türleri (ROS) üretimi ve hücresel bağışıklığın yoğun aktivasyonu sırasında oksidatif stres (OS) indüksiyonu ile ilişkili olduğu antioksidan reaksiyonlar sırasında oksitlenmiş bir dihidroneopterin formudur. Farklı çalışmalar, yüksek NPT serum seviyesinin otoimmün hastalıklar malignite ve kızamıkçık, sitomegalovirüs, hepatit C ve dang humması gibi viral enfeksiyonlar dahil olmak üzere çeşitli bulaşıcı hastalıklar ve immünolojik bozukluklarla ilişkili olduğunu göstermiştir (86).

Viral enfeksiyonlarda özellikle Hepatit A ve B hastalarının neredeyse tamamında neopterin değerleri yüksek ölçülmüştür (36). Daha sonraki çalışmalarda, viral enfeksiyonların kuluçka döneminin bitiminde, klinik semptomların başlamasından hemen önce vücut sıvılarındaki neopterin konsantrasyonlarında bir artış gerçekleştiği ortaya konulmaktadır ve neopterin konsantrasyonlarının, viral yükün seyrine göre değişmekte olduğu görülmüştür. Serokonversiyon sırasında, immün yanıt patojeni

başarılı bir şekilde yok ettikten sonra neopterin konsantrasyonları da yine viral yüke bağlı olarak azalmakta ve normalleşmektedir (37).

Neopterin, IFN-gama'ya yanıt olarak aktifleşmiş makrofajlar tarafından üretilir ve bu nedenle, tüberküloz ve Romatoid Artrit gibi pek çok iltihabi hastalıklarda hücre aracılı bağışıklığın bir belirteci olmuştur. Neopterin sentezinde hücre aracılı inflamasyonun rolü, yine bu iltihabi hastalıklarda neopterin seviyeleriyle IFN-gama seviyeleri arasındaki ve neopterin seviyeleriyle hastalık aktivitesi arasında pozitif korelasyonlar saptanarak gösterilmiştir (39). Akut alt solunum yolları enfeksiyonuna, akut respiratuvar distres sendroma ventilatör ilişkili pnömoni kliniğine sahip olgularda neopterin seviyeleri çalışılmış ve patojenlerin farklılığına göre neopterin düzeylerinin farklı etkilendiği tespit edilmiştir. Çalışmada neopterin düzeylerinin pnömokokal pnömonide yükseldiği görülmüş ve bu yüksekliğin hücre içi patojen enfeksiyon varlığında daha fazla olduğu tespit edilmiştir. Legionella Pnömonia pnömonisinde neopterin düzeylerinin yükseldiği görülmüş ve bu durum da neopterinin IFN-gamma aktivitesi sonucu sentezlendiğini göstermekte ayrıca sitotoksik T lenfosit aktivasyonun da bir belirteci olduğunu doğrulamaktadır (30,31).

Çeşitli ülkelerde farklı hasta sayılarında yapılan çalışmaların yer aldığı iki bağımsız kohort çalışmasında neopterin incelenmiş ve hastalık şiddetiyle ilişkili olduğu bulunmuştur. 115 hastayı kapsayan başka bir çalışmada ise yüksek düzeyde (>45nM) sistemik neopterin düzeyine sahip olan hastaların mekanik ventilasyona daha çok ihtiyaç duyduğu ve yoğun bakıma alınmaya daha yatkın oldukları gösterilmiştir (87). Bir başka çalışmada ise Neopterin seviyesinin, COVID-19 hastalarında IL-6, CRP ve PCT gibibelirli parametreler ile pozitif korelasyon gösterdiği tespit edilmiştir. Kabul de neopterin düzeyinin 45 nmol/l üzerindeki hastaların ölüm riski, neopterin 45 nmol/l ve altı olan hastalara göre dört kat daha yüksek bulunmuş ve yoğun bakım ünitesi ihtiyaçlarının 14 kat daha yüksek olduğu ve hastanede mekanik solunum ihtiyacının 16 kat daha fazla olduğu görülmüştür. Tüm mevcut araştırmalar, COVID-19 hastalarında, özellikle ağır hastalarda yüksek neopterin gözlemlemiştir. COVID-19 hastalarında neopterin düzeylerine ilişkin çalışma raporlarını özetlemiştir. Yapılan çalışmalarda belirtilen kanıtlara dayanarak neopterin, mekanik ventilasyon ve yoğun bakım ünite

tedavisine ihtiyaç duyma riski taşıyan hastaların erken tanımlanmasına olanak sağlayabilir. Bu kanıt parçaları, neopterinin COVID-19'un ilerlemesini takip etmek için prognostik bir belirteç olarak hizmet edebileceğini göstermektedir (88).

Özger ve ark. yaptığı çalışmada, COVID-19 hastalarında neopterin düzeylerinin sağlıklı kontrollere göre daha yüksek olduğu görülmüş ve hastalığın şiddeti arttıkça neopterin düzeylerinin de arttığını göstermişlerdir (89).

Neopterin, hücre aracılı bağışıklık tepkisinin yoğunluğunu değerlendirmek için kullanılan biyokimyasal belirteçlerden biridir. Hücre aracılı bağışıklık tepkisini içeren düzenlenmemiş koşullarda, ≤ 10 nmol/l eşiğinin üzerinde artan bir serum neopterin konsantrasyonu gözlenir. Çeşitli vücut sıvılarında ölçümün önemi, stabilitesi ve basitliği göz önüne alındığında, neopterin kullanımı şu anda klinik uygulamada daha yaygın bir şekilde artmaktadır (90). Neopterin ölçümleri yalnızca hücre aracılı immün yanıtın durumu hakkında bir fikir vermekle kalmaz, aynı zamanda hastalığın ilerlemesinin ve prognozunun izlenmesine de olanak tanır. Enfeksiyonlar, otoimmün hastalıklar, maligniteler, allogreft reddi, kalp ve böbrek yetmezliği, koroner arter hastalığı ve miyokard enfarktüsünde neopterin düzeyi yükselir.

Çeşitli viral enfeksiyonların erken evrelerinde yüksek serum neopterin seviyeleri gözlenmiştir. Bunlara Dang, Hepatit B, Ebola ve İnfluenza virüsleri dahildir. HIV durumunda, CD4 ve viral yüke ile birlikte, HIV enfeksiyonunun ilerlemesi ile bağlantılı olduğu ve prognostik bir belirteç olarak tanımlandığı gösterilmiştir. Neopterin, viral enfeksiyonun bir belirteci olmasının yanı sıra, bakteriyel ve paraziter enfeksiyon hastalıkları, kardiyovasküler hastalıklar ve kanserde geniş bir uygulama alanına sahiptir (91).

İnflamatuar hastalıklara genellikle monositlerin ve makrofajların aktivasyonu eşlik eder. Bu hücrelerin ürünlerinden biri olan neopterin, viral enfeksiyon, habis hastalık ve inflamatuar bağırsak hastalığı dahil otoimmün hastalıklar gibi hastalıkların olası bir belirteci olarak geniş çapta çalışılmıştır. Bu hastalıklarda, neopterinin hastalık şiddeti ile bağlantılı olduğu gösterilmiştir (92).

COVID-19 ile ilgili olarak, bir kanıt yığını, inflamatuar yanıtların hastalığın ilerlemesinde kritik bir rol oynadığını gösterir. Hızlı SARS-CoV-2 replikasyonu ve hücresel yıkımın tetiklediği inflamatuar yanıt, monositleri ve makrofajları toplayarak sitokin ve kemokinlerin salınmasına neden olur bu sebeble immünolojik kaosa neden olur (93).

Biz de yaptığımız bu çalışmada 3 ayrı grupta; tedavi öncesi 30 birey, tedavi sonrası 30 birey ve kontrol grubu 30 birey olmak üzere toplamda 90 bireyde bu çalışmayı tamamladık. Bu çalışma neticesinde geçmişte yapılan çalışmaları da destekler nitelikte veriler elde ettik. Covid-19'un klinik seyrinde bu hastalığa yakalanmış, tedavi öncesi neopterin grup ortalaması değeri 9,8212±2,937 nmol/L, tedavi sonrası neopterin grup ortalama değeri 4,8183±1,108 nmol/L ve kontrol grubundaki neopterin grup ortalama değeri ise 2,6433±0,828 nmol/L olarak ölçülmüştür (Tablo 4.2). Yapılan çalışmada istatistiksel analizlerde elde ettiğimiz verilere göre Covid-19'un klinik seyri ile birlikte enfeksiyon öncesindeki Neopterin seviyesi kontrol grubuna göre anlamlı olarak artmıştır. Covid-19'lu hastalarda tedaviden sonra bu seviyenin anlamlı bir şekilde azaldığı ve kontrol grubuna göre yine daha yüksek olduğu görülmüştür (Tablo 4.2, Şekil 4.6, Şekil 4.7). Neopterin viral enfeksiyonlar için spesifik bir biyobelirteç olarak kabul edilebilir ve özellikle bakteriyel-viral enfeksiyonların ayırıcı tanısında kullanılabilir ve aynı zamanda bu çalışmada COVID-19 hastalarında neopterin düzeylerinin incelenerek değerlendirilmesi yapılmıştır. Neopterin hastaların hastaneye başvuru esnasında covid-19 için erken bir prognostik biyobelirteç olarak kullanabileceğini öngörmüş olduk.

Endotel hücreleri tüm damar duvarı boyunca oluşturdukları tek katlı hücre tabakalarıyla kan ile damar düz kası arasındaki geçirgenliği sağlamakta, bazı aktif ajanları sentezleyerek metabolik ve endokrin fonksiyonlar göstermektedir. 1985 yılında hipoksiye bağlı olarak endotel kaynaklı bilinmeyen bir vasokonstrüktör faktörün varlığı gösterildikten sonra uzun süreli kasılmaya sebep olan 21 aminoasit dipeptid domuz aort endotel hücre kültürünün üst sıvısından elde edilmiş ve bu madde endotelin (ET) olarak tanımlandırılmıştır. Endotelinler her biri 21 aminoasitten oluşan 3 farklı

izotiptedir. Bunlar; ET1, ET2, ET3 olarak sınıflandırılır . İnsan endotelini yapısal olarak diğer memelilerdeki peptid hormon gruplarından oldukça farklıdır. ET–1 diğerlerine nazaran daha güçlü bir konstrüktör etkiye sahiptir olsa da ET–1 ile ET–2 ve ET–3 arasında büyük benzerlikler mevcuttur. 3 tane endotelin (ET–1, ET–2, ET–3) ve 2 tane ETA ,ET-B reseptörü tespit edilmiş ve ET-A reseptör üzerine ET–1 ve ET–2 etkili iken ET-B reseptör üzerine 3 endotelin de etkilidir. ET'ler çok geniş etki mekanizmalara ve fizyolojik etkilere sahiptirler, vazokonstrüktördürler ve nöroendokrin fonksiyonların düzenlemesinde, aldosteron ve natriüretik hormon salınımının arttırılmasında, hücre büyümesinin ayarlanmasında etkili rol oynamaktadır. ET'ler ayrıca ET-A reseptörü üzerinden osteoblastik hücre mineralizasyonunu da inhibe ederek kemik metabolizmasında da yer alırlar. Endotelinler, etkilerine özellikle kan damarlarında yaygın olarak dağılmış olan Endotelin-A (ET-A) ve Endotelin-B (ET-B) olmak üzere bilinen iki G-protein kenetli reseptör aracılığıyla aracılık edilmektedir. İnsan kan damarlarında, ET-A ağırlıklı olarak vasküler düz kas hücrelerinde saptanır ve vazokontraktiliteyi düzenler oysa ET-B reseptörleri hem vasküler düz kas da hem de vasküler endotelde bulunur burada aktive edildiğinde, vazodilatasyona aracılık eden nitrik oksit gibi endotel kaynaklı gevşetici faktörlerin salınımı bir çoğu vasküler ET-1 degradasyonu, ET-1/ET-B reseptör kompleksinin içselleştirilmesi üzerine hücre içinde meydana gelir (94). Endotelin sisteminin düzenlenmesi, hem endotelinlerin hem de reseptörlerin transkripsiyonel seviyelerinde gerçekleşir. ppET gen promotörü nükleer faktör-1, aktivatör protein-1 (AP-1) ve GATA-2 için bağlanma bölgeleri içermekte ve hormonlar ve fiziksel faktörler tarafından düzenlenmektedir (95).

Endotelinler üretildikten sonra, iki farklı G-protein-bağlı reseptör ile etkileşime girerek yani farklı fizyolojik tepkileri indükleyerek, parakrin-otokrin tarzında etkilerini gösterirler (96). Bu nedenle Endetelin -1, düz kas ve vazokonstriksiyon, hücre büyümesi ve hücre yapışması üreten reseptörler aracılığıyla hareket etmekte Tersine, Endotelin-1 endotel reseptörlerinin bağlanması Nitrik Oksit ve prostasiklin salınımını uyarmakta, apoptozu önlemekte, endotel hücrelerinde ECE-1 ekspresyonunu inhibe etmekte ve Endotelin-1 klirensinde önemli bir role sahiptir. Reseptörler diğerleri arasında vasküler ve solunum yolu düz kas hücreleri, kardiyomiyositler, fibroblastlar, hepatositler, nöronlar ve Endotelin-1, Endotelin-3' den Endotelin-2 diğer yandan, ETB reseptörleri

esas olarak endotel hücreleri ve düz kas hücrelerinin yanı sıra kardiyomiyositlerde, fibroblast hepatositlerde, farklı epitel hücrelerinde, nöronlarda vb. lokalizedir ve tüm endotelin peptitleri için eşit subnanomolar afiniteye sahiptir (97). Hem ETA hem de ETB reseptörleri, farklı G proteinlerini aktive ederek, inositol trifosfat ve diasilgliserol birikimine ve hücre içi kalsiyumun artmasına neden olan fosfolipaz C'nin aktivasyonuna yol açar. İlk olarak, hücre içi depolardan hücre içi Ca2+ konsantrasyonunda hızlı bir artış olmakta, ardından farklı Ca2+ kanallarından hücre dışı Ca2+ akışına bağlı olarak sürekli bir artış olur. Fosfolipaz A2 ve D ve protein kinaz C'nin aktivasyonu da vardır (98).

Endotelin sistemi, kardiyovasküler sistemin hem fizyolojisine hem de patolojisine katılmakta ancak bu katkının kapsamının hem türe hem de vasküler yatağa bağlı olduğunu belirtmek önemlidir. Endotelin sistem bazal vasküler tonusun düzenlenmesinde görev almaktadır. Endotelin-1'in değişen ekspresyonu/aktivitesi, subaraknoid kanamadan sonra hipertansiyon, ateroskleroz ve vazospazm gibi hastalıkların gelişimine katkıda bulunabilir. Üç endotelin izoformundan sadece Endotelin-1, endotel hücreleri tarafından yapısal olarak üretilir ve bu sebeple vasküler fonksiyonun düzenlenmesinde en önemli rolü oynamaktadır. Vasküler düz kas hücreleri, inflamatuar koşullar altında Endotelin-1 üretme yeteneğine sahiptir. Trombin, insülin, siklosporin, epinefrin, anjiyotensin II, kortizol, inflamatuar mediatörler, hipoksi ve vasküler shear stres dahil olmak üzere bir dizi uyaranın Endotelin-1 düzeylerini yükseldiği gözlemlenmiştir. Endotelin-1 esas olarak endotel hücrelerinin bazal tarafında salgılanmaktadır. Altta yatan düz kas hücreleri üzerindeki ETA reseptörleri üzerinde ve ayrıca endotelyal, bazı düz kas hücreleri üzerindeki ETB reseptörleri üzerinde etki etmek üzere salgılanmaktadır.(99) Wright ve Fozard, endotelinin anestezi uygulanmış, spontan hipertansif sıçanlara uygulandığında vazodilatasyon ürettiğini gösterildi (100). Kan basıncının bu geçici depresyonu, endotel hücreleri üzerindeki ETB reseptörlerinin uyarılmasıyla Nitrik Oksit ve prostasiklin üretimi ile açıklanmıştır. Bunu takip eden vazokonstriktif yanıta, Endotelin-1'in ETA ve ETB reseptörlerindeki vasküler düz kas hücreleri üzerindeki etkisi aracılık eder (101).

Endotelin-1 ayrıca kardiyomiyositler, endotel hücreleri ve kardiyak fibroblastlar tarafından üretilen ana kardiyak endotelin olarak da bilinir. ETA reseptörlerinin çoğu Kardiyomiyositlerde Dothelin reseptörleridir. Kalpteki endotelin sistemi, inotropi ve kronotropiyi etkiliyor gibi görünmektedir ancak mitojenik özellikleri aracılığıyla konjestif kalp yetmezliğinde kardiyak hipertrofi ve yeniden şekillenmeye aracılık etmektedir (102).

Şiddetli COVID-19 vakalarında semptomatik Derin Ven Trombozu, iskemik inme, Miyokard enfarktüs, akutpulmoner emboli ve sistemik arteriyel emboli gibi vasküler ve trombotik komplikasyonlar bildirilmiştir. Bu komplikasyonlar muhtemelen, arteriyel ve venöz endotelyal hücreler tarafından yüksek oranda eksprese edilen, endotelit, tromboembolizm ve iskemiye neden olan, aynı kökenli konakçı anjiyotensin dönüştürücü enzim 2 (ACE2) reseptörü aracılığıyla SARSCoV-2 ile endotel hücre enfeksiyonu ile ilişkilidirler. Ayrıca dolaşımdaki Endptelin-1 ve/veya Endotelin-1 reseptör A ve B tipi gen varyantlarının yüksek düzeylere yol açan Endotelin-1 gen varyantları gibi genetik farklılıklar da artan SARSCoV-2 enfeksiyon şiddeti ve endotelit riskine yatkınlığa neden olabilir. Bazı bireylerde veya popülasyonlarda end1'den transkripsiyon hızı, esas olarak Endotelin-1 biyo yararlanımını kontrol eder ve hücresel redoks durumlarındaki değişikliklerin, birçok transkripsiyon elaktivatörün DNA bağlama ve transaktivasyon aktivitelerini değiştirdiği bilinmektedir (103).

Endotel hücreleri, nitrik oksit ve prostasiklin gibi çeşitli endotel kaynaklı gevşeme faktörlerini sentezleyebilir ve serbest salını verirler. Damar tonusunun düzenlenmesinde önemli rol oynayan endoteli, tromboksan A2, reaktif oksijen türleri ve anjiyotensin II, sitokinler, serbest radikaller, yaşlılık ve etnik ve ırksal farklılıklar, endotel kaynaklı kasılma faktörleri Endotelin-1'in üretiminde bir artış ile karakterize edilen endotel disfonksiyonuna yol açabilen faktörlerdir. Şiddetli ya da kritik COVID-19'lu hastalarda sıklıkla altta yatan komorbiditeler olduğundan, kronik endotelyal disfonksiyona ve anormal derecede yüksek Endotelin-1 düzeyine sahip olmaya daha yatkındırlar (104).

Transkripsiyon faktörü hipoksisi, nükleer faktör kappa B, tümör nekroz faktör-alfa, interferon-gama ve interlökin-1b ve tüm bu uyaranlar ve sitokinler rolleri nedeniyle

büyük ilgi gördüğü gözlenmektedir. Sitokin fırtınasında artış ve şiddetli COVID-19 hastalığında gözlenen hiperinflamatuar durum aynı bağlamda, dolaşımdaki yüksek Endotelin-1 seviyelerine neden olan edn1 gen varyantları ve/veya ETAR ve ETBR gen varyantları, ciddi bir şekilde Covid-19 enfeksiyonu riskinde artışa neden olabileceği vurgulandı (105).

SARS-CoV-2'nin bazı COVID-19 hastalarında yeni başlayan diyabete yol açan glikoz metabolizmasında pleiotropik değişikliklere neden olduğu bildirildi. Belirgin bir şekilde glukozun kendisi NFκB aktivasyonunu uyarabilir ve bu hastalarda artmış edn1 ekspresyonu ve ardından Endotelin-1 yükselmesi ile edn1 promotörünü etkileyebilir. Dolayısıyla yüksek dolaşımdaki Endotelin-1 seviyelerinin veya Endotelin-1 gen varyantlarının varlığının, COVID-19 kaynaklı PH'ye duyarlı bireyleri öngörebilen önemli biyobelirteçler olduğu sonucuna varılabilmektedir. Kalp yetmezliği olan hastalarda Endotelin-1 seviyeleri yükselir. Esansiyel hipertansiyonu olan hastalarda damar duvarlarındaki Endotelin-1 seviyesi yükselir. Diyabetli kişilerin hiperglisemisi de Endotelin-1 üretimi için bir indükleyicidir. Kalp yetmezliği, hipertansiyon ve diyabet ilgili yapılan çalışmalarda, endotelin reseptör antagonistlerinin kullanımıyla morbidite ve ölümde azalmayı destekleyen kanıtlar göstermektedir. Bosentan ve sitaksentan gibi endotelin reseptör blokerleri, bu patofizyolojik temelle COVID-19 pandemisi ile mücadele için klinik çalışmalara dahil edilmelidir. ACE inhibitörü ilaçların kullanımı ileEndotelin-1'deki artışın azaldığı bir kardiyovasküler örtüşme alanı oluşur (106).

Yapılan diğer çalışmalarda düşük fizyolojik seviyelerinin aksine, yüksek Endotelin-1 seviyeleri genellikle nekroptotik gen ekspresyonunun aktivasyonunu tetikler (44). Bu nedenle, pulmoner arteriyel hipertansiyonu olan hastalar nekroptotik yolakları aktive etmeye eğilimli olabilmektedirler. Ayrıca, inflamatuar ve endotoksemik stres koşulları altında, SARS'ta olduğu gibi, Endotelin-1 aracılı etkiler, güçlü ve uzun süreli bir RIP-3 aktivasyonu yoluyla nekroptozu teşvik etmek için kaydırılır böylece ORF-3 aproteininin oligomerizasyonunu arttırır ve artan proinflamatuar nekroptotik hücre ölümünün SARS-CoV-2 patogenezi üzerinde yıkıcı etki gösterir (45,46).

Yapılan prospektif gözlemsel bir çalışmada 74 Covid-19’lu hasta ve 1247 kontrol

hasta dahil edilmiş ve proET-1 ölçümü ile endotel aktivasyonu karşılaştırılmış fakat COVID-19 hastalarında anlamlı bir proET-1 artışı gözlenmemiştir. Dolayısıyla proET-1'in, COVID-19 hastalarında diğer solunum yolu enfeksiyonlarında geçerliliğinin aksine morbidite ve mortaliteyi hesaplamak için güçlü bir belirteç olmadığı görülmüştür. Fakat çalışmada 30 günlük mortalite tahmini için optimal eşik değeri 74 pmol/L olarak ölçülmüş ve bu sınır, COVID-19'lu hastalarda tüm nedenlere bağlı 30 günlük mortaliteyi tahmin etmek için en iyi duyarlılığı ve özgüllüğü göstermiştir (107).

36 hastada yapılan bir başka çalışmada ise hastaların Endotelin-1 seviyeleri, akut faz COVID-19 sırasında (1.67 ± 0.64 pg/mL) kontrollere kıyasla (1.24 ± 0.37 pg/mL) önemli ölçüde daha yüksek ölçülmüş ve enfeksiyon başlangıcından 3 ay sonra daha da yüksek ölçülmüş (2,74 ±1,81 pg/mL, p) (108).

Biz de yaptığımız bu çalışmada 3 ayrı grupta; tedavi öncesi 30 birey, tedavi sonrası 30 birey ve kontrol grubu 30 birey olmak üzere toplamda 90 bireyde bu çalışmayı tamamladık. Çalışmamızın sonucunda endotelin seviyelerini tedavi öncesi grubunda grup ortalaması değeri 98,9931±13,900 ng/L, tedavi sonrası grubunda grup ortalama değeri 58,6542±6,824 ng/L ve kontrol grubunda grup ortalama değeri 38,3733±9,196 ng/L olarak ölçülmüştür (Tablo 4.2). Yapılan istatistiksel analizlere göre Covid-19 tanısı konulmuş hastalarda endotelin seviyesi kontrol grubuna göre anlamlı olarak artmıştır. Tedavi sonrası bu seviyenin anlamlı bir şekilde azaldığı ve kontrol grubuna göre yine daha yüksek olduğu tespit edilmiştir (Tablo 4.2, Şekil 4.4, Şekil 4.5). Covid-19 hastalarının endotelin seviyeleri incelenmiş enfeksiyon döneminde hastaların endotelin seviyeleri anlamlı derecede yüksek ölçülmüş ve tedavi aldıktan sonra endotelin seviyeleri istatistiksel analiz sonucunda da görüldüğü gibi anlamlı bir şekilde azaldığı gözlemlenmiştir. Covid-19 hastalığı kapsamında yapılan bu çalışmaya yönelik enfeksiyon döneminde endotelin seviyesinin artığı bu dönemde covid-19 hastalığı için iyi bir prognoz, tanı ve takibinde iyi bir biyobelirteç olabileceğini öngördük.

SONUÇ

Bu çalışmayı planlarken pandemide yaşanan sağlık sorunlarına çözmeye yönelik veriler elde etmeyi, hekimlere yardımcı olmayı hastalığın daha erken sürede tanı ve tedavi edilmesini, ülkelerde oluşan ekonomik yükün azaltılmasını, insanların hastalıkla iyileşme sürelerini kısaltmasını ve hastaların psikolojik olarak desteklenmesini hedefledik.

Yaptığımız çalışma sonucunda Covid-19 hastalarında tedavi öncesinde Nitrik Oksit, Neopterin ve Endotelin düzeyleri kontrol gurubuna göre çok yüksek düzeyde olduğu, tedavi sonrasında ise anlamlı bir şekilde azaldığı tespit edildi. Elde ettiğimiz veriler bu parametrelerin covid-19 un hem teşhisinde, hem de tedaviye verilen yanıtın takip edilmesinde kullanılabilme potasiyeline sahip olduğunu tespit ettik.

Sonuç olarak yaptığımız bu çalışmanın covid-19 tanı ve tedavi etkinliğinin takibiyle ilgili yapılacak olan çok bireyli araştırmalara ışık tutacağını ve daha da etkili tedavi yöntemleri geliştirilmesine katkı sağlayacağını umut ediyoruz.

KAYNAKLAR

1. Memikoğlu O, Genç V. COVİD-19. Ankara: E-Kitap, Ankara Üniversitesi Basımevi; 2020.

2. BAKANLIĞI, TS. COVID-19 (SARS-CoV2 Enfeksiyonu) Rehberi. Erişim: https://covid19bilgi. saglik. gov. tr/depo/rehberler/COVID-19_Rehberi. pdf (Erişim Tarihi: 16.07. 2020).

3. Mavi D, İnkaya AÇ. COVID-19: İmmün Patogenez Flora, 2020;25(28).

4. Acar T, Demirel EA, Afşar N, Akçalı A, Demir GA, Alagöz AN ve ark. Nörolojik bakış açısından COVID-19. Turk J Neurol 2020; 26(2):56-106.

5. Zvetkova E, Wirleitner B, Tram NT, Schennach H, Fuchs D. Aqueous extracts of Crinum latifolium (L.) and Camellia sinensis show immunomodulatory properties in human peripheral blood mononuclear cells. International immunopharmacology 2001; 1(12):2143-2150.

6. Fuchs D, Hausen A, Kofler M, Kosanowski H, Reibnegger G, Wachter H. Neopterin as an index of immune response in patients with tuberculosis. Lung 1984; 162(1):337-346.

7. Immanuel C, Swamy R, Kannapiran M, Vijayalakshmi S, Sundaram V, Jagannath K, et al. Neopterin as a marker for cell- mediated immunity in patients with pulmonary tuberculosis. The International Journal of Tuberculosis and Lung Disease 1997; 1(2):175-180.

8. Widner B, Laich A, Sperner-Unterweger B, Ledochowski M, Fuchs, D. Neopterin production, tryptophan degradation, and mental depression what is the link?. Brain, behavior, and immunity 2002; 16(5):590- 595.

9. Mayersbach P, Augustin R, Schennach H, Schönitzer D, Werner ER, Wachter H, et al. Commercial enzyme-linked immunosorbent assay for neopterin detection in blood donations compared with RIA and HPLC. Clinical chemistry 1994; 40(2):265-266.

10. Ünüvar S, Aslanhan H. Clinical significance of increased serum neopterin in chronic kidney failure as a biomarker of cell-mediated immunity. Journal of medical biochemistry 2019; 38(1):1.

11. Oda K, Arai T, Nagase M. Increased serum and urinary neopterin in nephrotic syndrome indicate cell-mediated immune dysfunction. American journal of kidney diseases 1999; 34(4):611-617.

12. Hiruma Y, Inoue A, Shiohama A, Otsuka E, Hirose S, Yamaguchi A, et al. Endothelins inhibit the mineralization of osteoblastic MC3T3-E1 cells through the A-type endothelin receptor. American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology 1998; 275(4):1099-1105.

13. Aladağ MA, Türköz Y, Özerol İH. Nitrik oksit ve nörofizyopatolojik etkileri. Türkiye Klinikleri Tıp Bilimleri Dergisi 2000; 20(2):107-111.

14. Paige JS, Jaffrey SR. Pharmacologic manipulation of nitric oxide signaling: targeting NOS dimerization and protein-protein interactions. Current topics in medicinal chemistry 2007; 7(1):97-114.

15. https://www.nicd.ac.za/nicd-capacity - for - isolation – and – culturing - of-severe - acute respiratorysyndrome - coronavirus - 2- sars – cov - 2- from - clinical-specimens/

16. Yuki K, Fujiogi M, Koutsogiannaki S. COVID-19 pathophysiology: A review. Clinical immunology 2020; 215:108427.

17. Yang L, Liu S, Liu J, Zhang Z, Wan X, Huang B, et al. COVID-19: immunopathogenesis and Immunotherapeutics. Signal transduction and targeted therapy 2020; 5(1):1-8.

18. Prajapat M, Sarma P, Shekhar N, Avti P, Sinha S, Kaur H, et al. Drug targets for corona virus: A systematic review. Indian journal of pharmacology 2020; 52(1):56.

19. Weissleder R, Lee H, Ko J, Pittet MJ. COVID-19 diagnostics in context. Science translational medicine 2020; 12(546).

20. Kevadiya BD, Machhi J, Herskovitz J, Oleynikov MD, Blomberg WR, Bajwa N, et al. Diagnostics for SARS-CoV-2 infections. Nature materials 2021; 20(5):593-605.

21. Özdemir M, Taydaş O, ÖZTÜRK MH. COVID-19 Enfeksiyonunda Toraks Bilgisayarlı Tomografi Bulguları. Journal of Biotechnology and Strategic Health Research 2020; 4:91-96.

22. Ciotti M, Ciccozzi M, Terrinoni A, Jiang WC, Wang CB, Bernardini S. The COVID-19 pandemic. Critical reviews in clinical laboratory sciences 2020; 57(6):365-388.

23. Marini JJ, Gattinoni L. Management of COVID-19 respiratory distress. Jama 2020; 323(22):2329-2330.

24. Karaca B. Erişkin yaş grubunda Covid-19 klinik bulguları. Journal of Biotechnology and Strategic Health Research 2020; 4:85-90.

25. Becker RC. COVID-19 update: Covid-19-associated coagulopathy. Journal of thrombosis and thrombolysis 2020; 1.

26. İnkaya AÇ, Taş Z, Akova M. COVID-19'un güncel tedavisi. Yalçın Ş, Özet A, editörler. Kanser ve COVID-19 Pandemisi 2020; 1:27-37.

27. Smith T, Bushek J, LeClaire A, Prosser T. COVID-19 drug therapy. Amsterdam: Elsevier; 2020.

28. Şener A. COVİD-19 (SARS Cov-2) Tedavisi. Journal of Biotechnology and Strategic Health Research 2020; 4:97-104.

29. T.C. Sağlık Bakanlığı Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü COVID-19 (SARSCoV-2 Enfeksiyonu) Rehberi. Ankara; 2020.

30. Sucher R, Schroecksnadel K, Weiss G, Margreiter R, Fuchs D, et al. Neopterin, a prognostic marker in human malignancies. Cancer letters 2010; 287(1):13-22.

31. Werner ER, Werner-Felmayer G, Fuchs D, Hausen A, Reibnegger G, Yim JJ, et al. biosynthetic activities in human macrophages, fibroblasts, THP-1, and T 24 cells. GTP-cyclohydrolase I is stimulated by interferon-gamma, and 6-pyruvoyl tetrahydropterin synthase and sepiapterin reductase are constitutively present. Journal of Biological Chemistry 1990; 265(6):3189-3192.

32. Fuchs D, Stahl-Hennig C, Gruber A, Murr C, Hunsmann G, Wachter H. Neopterin--its clinical use in urinalysis. Kidney International Supplement 1994; (47).

33. Berdowska A, Zwirska-Korczala K. Neopterin measurement in clinical diagnosis. Journal of clinical pharmacy and therapeutics 2001; 26(5):319-329.

34. Wachter H, Fuchs D, Hausen A, Reibnegger G, Werner ER. Neopterin as marker for activation of cellular immunity: immunologic basis and clinical application. Advances in clinical chemistry 1989; 27:81-141.

35. Millner MM, Franthal W, Thalhammer GH, Berghold A, Aigner RM, Fuger GF, et al. Neopterin concentrations in cerebrospinal fluid and serum as an aid in differentiating central nervous system and peripheral infections in children. Clinical chemistry 1998; 44(1):161-167.

36. Müller MM, Curtius HC, Herold M, Huber CH. Neopterin in clinical practice. Clinica chimica açta 1991; 201(1-2):1-16.

37. Schennach H, Murr C, Gächter E, Mayersbach P, Schönitzer D, Fuchs D. Association between neopterin production and other parameters in a population of blood donors. Pteridines 2002; 13(4):133-139.

38. Fuchs D, Hausen A, Kofler M, Kosanowski H, Reibnegger G, Wachter H. Neopterin as an index of immune response in patients with tuberculosis. Lung 1984; 162(1):337-346.

39. Chen DY, Li JP, Chen YM, Liao TL, Chen HH, Hsieh CW, et al. Elevated neopterin levels are associated with increased tuberculosis risk in rheumatoid arthritis patients with quantiFERON conversion during biologic therapy. Plos one 2016; 11(11):0166301.

40. Prat C, Domínguez J, Andreo F, Blanco S, Pallarés A, Cuchillo F, et al. Procalcitonin and neopterin correlation with aetiology and severity of pneumonia. Journal of Infection 2006; 52(3):169-177.

41. Levesque H, Cailleux N, Courtois H. Peptides vasoactifs d'origine endothéliale: perspectives thérapeutiques. La Presse médicale 1996; 23(25):1172-1177.

42. Yanagisawa M, Kurihara H, Kimura S, Tomobe Y, Kobayashi M, Mitsui Y, et al. A novel potent vasoconstrictor peptide produced by vascular endothelial cells. Natüre 1988; 332(6163):411-415.

43. Takeshi S, Masashi Y, Tomoh M. Molecular characterization of endothelin receptors. Trends in pharmacological sciences 1992; 13:103-108.

44. Arai H, Hori S, Aramori I, Ohkubo H, Nakanishi S. Cloning and expression of a cDNA encoding an endothelin receptor. Nature 1990; 348(6303):730-732.

45. Franz KB. A functional biological marker is needed for diagnosing magnesium deficiency. Journal of the American College of Nutrition 2004; 23(6):738-741.

46. Veillette CJH, Von Schroeder HP. Endothelin-1 down-regulates the expression of vascular endothelial growth factor-A associated with osteoprogenitor proliferation and differentiation. Bone 2004; 34(2):288-296.

47. Bryan NS. Nitrite in nitric oxide biology: Cause or consequence?: A systems-based review. Free Radical Biology and Medicine 2006; 41(5):691-701.

48. Gorbalenya AE, Baker SC, Baric R, Groot RJD, Drosten C, Gulyaeva AA, et al. Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus: The species and its viruses–a statement of the Coronavirus Study Group 2020.

49. Xu Z, Shi L, Wang Y, Zhang J, Huang L, Zhang C, et al. Pathological findings of COVID-19 associated with acute respiratory distress syndrome. The Lancet respiratory medicine 2020; 8(4):420-422.

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

51. Qian I, Rongshuai W, Guoqiang Q, Yunyun W, Pan L, Yingzhi Z. A report on the general observation of a 2019 novel coronavirus autopsy. J Forensic Sci 2020; 36:1-3.

52. Tian S, Hu W, Niu L, Liu H, Xu H, Xiao SY. Pulmonary pathology of early-phase 2019 novel coronavirus (COVID-19) pneumonia in two patients with lung cancer. Journal of thoracic oncology 2020; 15(5):700-704.

53. Narayanan A, Amaya M, Voss K, Chung M, Benedict A, Sampey G, et al. Reactive oxygen species activate NFκB (p65) and p53 and induce apoptosis in RVFV infected liver cells. Virology 2014; 449:270-286.

54. Liu T, Castro S, Brasier AR, Jamaluddin M, Garofalo RP, Casola A. Reactive oxygen species mediate virus-induced STAT activation: role of tyrosine phosphatases. Journal of Biological Chemistry 2004; 279(4):2461-2469.

55. Gjyshi O, Bottero V, Veettil MV, Dutta S, Singh VV, Chikoti L, et al. Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus induces Nrf2 during de novo infection of endothelial cells to create a microenvironment conducive to infection. PLoS pathogens 2014; 10(10):1004460.

56. Hosakote YM, Jantzi PD, Esham DL, Spratt H, Kurosky A, Casola A, et al. Viral-mediated inhibition of antioxidant enzymes contributes to the pathogenesis of severe respiratory syncytial virus bronchiolitis. American journal of respiratory and critical care medicine 2011; 183(11):1550-1560.

57. Komaravelli N, Ansar M, Garofalo RP, Casola A. Respiratory syncytial virus induces NRF2 degradation through a promyelocytic leukemia protein-ring finger protein 4 dependent pathway. Free Radical Biology and Medicine 2017; 113:494-504.

58. Imai Y, Kuba K, Neely GG, Yaghubian-Malhami R, Perkmann T, van Loo G, et al. Identification of oxidative stress and Toll-like receptor 4 signaling as a key pathway of acute lung injury. Cell 2008; 133(2):235-249.

59. Garofalo RP, Kolli D, Casola A. Respiratory syncytial virus infection: mechanisms of redox control and novel therapeutic opportunities. Antioxidants & redox signaling 2013; 18(2):186-217.

60. Kosmider B, Messier EM, Janssen WJ, Nahreini P, Wang J, Hartshorn KL, et al. Nrf2 protects human alveolar epithelial cells against injury induced by influenza A virus. Respiratory research 2012; 13(1):1-15.

61. de Oliveira YPA, Pontes-de-Carvalho LC, Couto RD, Noronha-Dutra AA. Oxidative stress in sepsis. Possible production of free radicals through an erythrocyte-mediated positive feedback mechanism. The Brazilian Journal of Infectious Diseases 2017; 21(1):19-26.

62. Vasconcellos LR, Dutra FF, Siqueira MS, Paula-Neto HA, Dahan J, Kiarely E, et al. Protein aggregation as a cellular response to oxidative stress induced by heme and iron. Proceedings of the National Academy of Sciences 2016; 113(47):E7474-E7482.

63. Feng P, Ma L, Xu F, Gou X, Du L, Ke B, Li M. In vivo bioluminescence imaging of labile iron pools in a murine model of sepsis with a highly selective probe. Talanta 2019; 203:29-33.

64. Weis S, Carlos AR, Moita MR, Singh S, Blankenhaus B, Cardoso S, et al. Metabolic adaptation establishes disease tolerance to sepsis. Cell 2017; 169(7):1263-1275.

65. Prauchner CA. Oxidative stress in sepsis: pathophysiological implications justifying antioxidant co-therapy. Burns 2017; 43(3):471-485.

66. Koskenkorva-Frank TS, Weiss G, Koppenol WH, Burckhardt S. The complex interplay of iron metabolism, reactive oxygen species, and reactive nitrogen species: insights into the potential of various iron therapies to induce oxidative and nitrosative stress. Free Radical Biology and Medicine 2013; 65:1174-1194.

67. Moncada S, Higgs A. The L-arginine-nitric oxide pathway. New England journal of medicine 1993; 329(27):2002-2012.

68. Pötter S. New perspectives for nitric oxide. In Schwarz Pharma Scientific Forum 1993; 5:5-29.

69. Bogle RG, Moncada S, Pearson JD, Mann GE. Identification of inhibitors of nitric oxide synthase that do not interact with the endothelial cell L-arginine transporter. Br J Pharmacol 1992; 105: 768-70

70. Keller R, Bassetti S, Keist R, Mülsch A, Klauser S. Induction of nitric oxide synthase is a necessary precondition for expression of tumor necrosis factor-independent tumoricidal activity by activated macrophages. Biochemical and biophysical research communications 1992 ,184(3):1364-1371.

71. Summersgill JT, Powell LA, Buster BL, Miller RD, Ramirez J. A. Killing of Legionella pneumophila by nitric oxide in γ-interferon-activated macrophages. Journal of leukocyte biology 1992; 52(6):625-629.

72. Wright CE, Rees DD, Moncada S. Protective and pathological roles of nitric oxide in endotoxin shock. Cardiovascular research 1992; 26(1):48-57.

73. Petros A, Bennett D, Vallance P. Effect of nitric oxide synthase inhibitors on hypotension in patients with septic shock. The Lancet 1991; 338(8782-8783):1557-1558.

74. Langrehr JM, Müller AR, Bergonia HA, Jacob TD, Lee TK, Schraut WH, et al. Detection of nitric oxide by electron paramagnetic resonance spectroscopy during rejection and graft-versus-host disease after small-bowel transplantation in the rat. Surgery 1992; 112(2):395-402.

75. Knowles RG, Palacios M, Palmer RM, Moncada S. Formation of nitric oxide from L-arginine in the central nervous system: a transduction mechanism for stimulation of the soluble guanylate cyclase. Proceedings of the National Academy of Sciences 1989; 86(13):5159-5162.

76. Szabó C, Thiemermann C. Regulation of the expression of the inducible isoform of nitric oxide synthase. Advances in pharmacology 1995; 34:113-153.

77. Schulz R, Smith JA, Lewis MJ, Moncada S. Nitric oxide synthase in cultured endocardial cells of the pig. British journal of pharmacology 1991; 104(1):21-24.

78. Balligand JL, Ungureanu-Longrois D, Simmons WW, Pimental D, Malinski TA, Kapturczak M, et al. Cytokine-inducible nitric oxide synthase (iNOS) expression in cardiac myocytes. Characterization and regulation of iNOS expression and detection of iNOS activity in single cardiac myocytes in vitro. Journal of Biological Chemistry 1994; 269(44):27580-27588.

79. Cooke JP, Rossitch E, Andon NA, Loscalzo J, Dzau VJ. Flow activates an endothelial potassium channel to release an endogenous nitrovasodilator. The Journal of clinical investigation 1991; 88(5):1663-1671.

80. Radomski MW, Palmer RMJ, Moncada S. Comparative pharmacology of endothelium-derived relaxing factor, nitric oxide and prostacyclin in platelets. British journal of pharmacology 1987; 92(1):181-187.

81. Taddei S, Virdis A, Ghiadoni L, Salvetti A. Vascular effects of endothelin-1 in essential hypertension: relationship with cyclooxygenase-derived endothelium-dependent contracting factors and nitric oxide. Journal of cardiovascular pharmacology 2000; 35:37-40.

82. Parikh R, Wilson C, Weinberg J, Gavin D, Murphy J, Reardon CC. Inhaled nitric oxide treatment in spontaneously breathing COVID-19 patients. Therapeutic Advances in Respiratory Disease 2020; 14:1753466620933510.

83. Lotz C, Muellenbach RM, Meybohm P, Mutlak H, Lepper PM, Rolfes CB, et al. Effects of inhaled nitric oxide in COVID-19–induced ARDS–Is it worthwhile?. Acta Anaesthesiologica Scandinavica 2021; 65(5):629-632.

84. Bagate F, Tuffet S, Masi P, Perier F, Razazi K, de Prost N, et al. Rescue therapy with inhaled nitric oxide and almitrine in COVID-19 patients with severe acute respiratory distress syndrome. Annals of intensive care 2020; 10(1):1-7.

85. Abou-Arab O, Huette P, Debouvries F, Dupont H, Jounieaux V, Mahjoub Y. Inhaled nitric oxide for critically ill Covid-19 patients: a prospective study. Critical Care 2020; 24(1):1-3.

86. Onguru P, Akgul EO, Akıncı E, Yaman H, Kurt YG, Erbay A, et al. High serum levels of neopterin in patients with Crimean–Congo hemorrhagic fever and its relation with mortality. Journal of Infection 2008; 56(5):366-370.

87. Robertson J, Gostner JM, Nilsson S, Andersson LM, Fuchs D, Gisslen M. Serum neopterin levels in relation to mild and severe COVID-19. BMC Infectious Diseases 2020; 20(1):1-6.

88. Bellmann-Weiler R, Lanser L, Burkert F, Seiwald S, Fritsche G, Wildner S et al. Neopterin predicts disease severity in hospitalized patients with COVID-19. In:Open Forum Infectious Diseases 8(1). US: Oxford University Press; 2021.

89. Ozger, H. S., Dizbay, M., Corbacioglu, S. K., Aysert, P., Demirbas, Z., Tunccan, O. G., ... & Caglar, K. (2021). The prognostic role of neopterin in COVID-19 patients. Journal of medical virology, 93(3), 1520-1525.

90. Plata-Nazar K, Jankowska A. Clinical usefulness of determining the concentration of neopterin. Pteridines 2011; 22(1):77-89.

91. Eisenhut M. Neopterin in diagnosis and monitoring of infectious diseases. Journal of biomarkers, 2013.

92. Forrest CM, Youd P, Kennedy A, Gould SR, Darlington LG, Stone TW. Purine, kynurenine, neopterin and lipid peroxidation levels in inflammatory bowel disease. Journal of biomedical science 2002; 9(5):436-442.

93. Tay MZ, Poh CM, Rénia L, MacAry PA, Ng LF. The trinity of COVID-19: immunity, inflammation and intervention. Nature Reviews Immunology 2020; 20(6):363-374.

94. Enevoldsen FC, Sahana J, Wehland M, Grimm D, Infanger M, Krüger M. Endothelin receptor antagonists: status quo and future perspectives for targeted therapy. Journal of clinical medicine 2020; 9(3):824.

95. Sanghavi DK, Titus A, Caulfield TR, Freeman WD. Endotheliitis, endothelin, and endothelin receptor blockers in COVID-19. Medical hypotheses 2021; 150:110564.

96. Kawana M, Lee ME, Quertermous EE, Quertermous T. Cooperative interaction of GATA-2 and AP1 regulates transcription of the endothelin-1 gene. Molecular and cellular biology 1995; 15(8):4225-4231.

97. Arai H, Hori S, Aramori I, Ohkubo H, Nakanishi S. Cloning and expression of a cDNA encoding an endothelin receptor. Nature 1990; 348(6303):730-732.

98. Griendling KK, Tsuda T, Alexander RW. Endothelin stimulates diacylglycerol accumulation and activates protein kinase C in cultured vascular smooth muscle cells. Journal of Biological Chemistry 1989; 264(14):8237-8240.

99. Woods M, Mitchell JA, Wood EG, Barker S, Walcot NR, Rees GM, et al. Endothelin-1 is induced by cytokines in human vascular smooth muscle cells: evidence for intracellular endothelin-converting enzyme. Molecular Pharmacology 1999; 55(5):902-909.

100. Wright CE, Fozard JR. Regional vasodilation is a prominent feature of the haemodynamic response to endothelin in anaesthetized, spontaneously hypertensive rats. European journal of pharmacology 1988; 155(1-2):201-203.

101. Haynes WG, Strachan FE, Webb DJ. Endothelin ETA and ETB receptors cause vasoconstriction of human resistance and capacitance vessels in vivo. Circulation 1995; 92(3):357-363.

102. Miyauchi T, Masaki T. Pathophysiology of endothelin in the cardiovascular system. Annual review of physiology 1999; 61(1):391-415.

103. Bermejo-Martin JF, Almansa R, Torres A, González-Rivera M, Kelvin DJ. COVID-19 as a cardiovascular disease: the potential role of chronic endothelial dysfunction. Cardiovascular research 2020; 116(10), e132-e133.

104. Merad M, Martin JC. Pathological inflammation in patients with COVID-19: a key role for monocytes and macrophages. Nature reviews immunology 2020; 20(6):355-362.

105. Rubino F, Amiel SA, Zimmet P, Alberti G, Bornstein S, Eckel RH, et al. New-onset diabetes in Covid-19. New England Journal of Medicine 2020; 383(8):789-790.

106. Sanghavi DK, Titus A, Caulfield TR, Freeman WD. Endotheliitis, endothelin, and endothelin receptor blockers in COVID-19. Medical hypotheses 2021; 150:110564.

107. Gregoriano C, Damm D, Kutz A, Koch D, Wolfisberg S, Haubitz S, et al. Association of endothelial activation assessed through endothelin-I precursor peptide measurement with mortality in COVID-19 patients: an observational analysis. Respiratory Research 2021; 22(1):1-11.

108. Willems LH, Nagy M, Ten Cate H, Spronk HMH, Groh LA, Leentjens J, et al. Sustained inflammation, coagulation activation and elevated endothelin-1 levels without macrovascular dysfunction at 3 months after COVID-19. Thrombosis research 2022; 209:106-114.