TÜRKİYE CUMHURİYETİ
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

COVID-19 HASTALARINDA ANCA(ANTİ NÖTROFİLİK SİTOPLAZMİK ANTİKOR) PARAMETRELERİNİN İFA (İMMÜN FLORESAN ANTİKOR) YÖNTEMİYLE ARAŞTIRILMASI

Zeynep AYAYDIN

DOKTORA TEZİ

TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Selahattin ATMACA

DİYARBAKIR – 2023

TÜRKİYE CUMHURİYETİ
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

COVID-19 HASTALARINDA ANCA(ANTİ NÖTROFİLİK SİTOPLAZMİK ANTİKOR) PARAMETRELERİNİN İFA (İMMÜN FLORESAN ANTİKOR) YÖNTEMİYLE ARAŞTIRILMASI

Zeynep AYAYDIN

DOKTORA TEZİ

TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Selahattin ATMACA

DİYARBAKIR – 2023

DİCLE ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ONAY

Dicle Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü **Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı** Doktora öğrencisi **Zeynep AYAYDIN'ın** hazırladığı "**COVID-19 Hastalarında ANCA (Anti Nötrofilik Sitoplazmik Antikor) Parametrelerinin İFA (İmmün Floresan Antikor) Yöntemiyle Araştırılması**" başlıklı tez Dicle Üniversitesi Lisansüstü Eğitim- Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca kapsam ve bilimsel kalite yönünden değerlendirilerek Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tarih : 02.02.2023

Danışman Prof.Dr. Selahattin ATMACA D.Ü. Tıbbi Mikrobiyoloji

Jüri Üyeleri		İmza
Jüri Başkanı	Prof. Dr. Mahmut METE	_____
Üye	Prof. Dr. Selahattin ATMACA	_____
Üye	Prof. Dr. Selahattin TEKEŞ	_____
Üye	Prof. Dr. Tuncer ÖZEKİNCİ	_____
Üye	Dr. Öğr. Üyesi Barış GÜLHAN	_____

Tarih: …./…/2023

Bu tez Dicle Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun …./…/…. tarih ve …..sayılı kararıyla onaylanmıştır. …../…../2023

Prof. Dr. Mahmut BALKAN
Dicle Üniversitesi
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını ve tezimi Dicle Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü tez yazım kılavuzu standartlarına uygun bir şekilde hazırladığımı beyan ederim.

…/…/2023

Zeynep AYAYDIN

TEŞEKKÜR

Tez çalışmamın yürütülmesi sürecinde bana yol gösteren ve desteğini esirgemeyen danışman hocam Sayın Prof. Dr. Selahattin ATMACA başta olmak üzere, her daim beni destekleyen Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Mahmut METE, Sayın Prof. Dr. Nezahat AKPOLAT, Sayın Prof. Dr. Erdal ÖZBEK, Sayın Doç. Dr. Hakan TEMİZ'e, tezimin oluşturulması sırasında kontrolleri yaparak yakından ilgilenen Sayın Doç. Dr. Nida ÖZCAN'a, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nda görevli tüm personele, İFA laboratuvarındaki çalışmalarım sırasında özveriyle bana yardımcı olan başta Sayın Özlem KIRIK olmak üzere birim çalışanları ve merkez laboratuvarı çalışanlarına teşekkür ederim.

Bu tez Dicle Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (DÜBAP) Komisyonu Başkanlığı tarafından SBE.21.005 numaralı proje ile desteklenmiştir. Projemize destek verdikleri için başta DÜBAP yöneticileri olmak üzere tüm çalışanlarına teşekkür ederim.

Zeynep AYAYDIN

Diyarbakır-2023

İÇİNDEKİLER

BEYAN ..... **I**
TEŞEKKÜR ..... **II**
KISALTMALAR VE SİMGELER ..... **V**
ŞEKİLLER LİSTESİ ..... **VII**
TABLOLAR LİSTESİ ..... **VIII**
1.ÖZETLER **1**
1.1. Türkçe Özet 1
1.2.Abstract 3
2. GİRİŞ ve AMAÇ **5**
3. GENEL BİLGİLER **7**
3.1. KoronavirüslerinVirolojikÖzellikleri 7
3.2. Salgının Tarihçesi 9
3.3. COVID-19'un İmmünopatogenezi 10
3.4. Otoimmünite 14
3.4.1. Otoantikorların tanımı 14
3.4.2. Otoantikorların oluşumu 17
3.4.3. Otoantikorların zararları 18
3.5. COVID-19'da Otoantikorlar 19
3.5.1. Anti-Nükleer Antikorlar (ANA) 20
3.5.2. Anti-fosfolipid antikorları 21
3.5.3. Anti-Tip 1 interferon antikorları 21
3.5.4. Anti-Nötrofil Sitoplazmik Antikorlar (ANCA) 21
4. GEREÇ VE YÖNTEM **24**
4.1. Örneklerin Toplanması 24
4.2. ANCA Parametrelerinin İFA Yöntemiyle Araştırılması 24
4.2.1. Floresan mikroskobunda değerlendirme 25
4.2.2. ANCA İFA Test Kiti ile COVID-19'lu Hasta ve Kontrol Grubu Serumlarının Çalışılması 28
4.2.3. ANCA İFA ticari test kitinin özellikleri 28
4.2.4. Reaktiflerin hazırlanması ve stabilitesi 29

4.2.5. Örneklerin hazırlanması ve testin çalışılması 30
4.2.6. Hasta ve kontrol grubuna ait slaytların floresan mikroskobu ile incelenerek değerlendirilmesi..... 31
4.2.7. Test sonuçlarının istatistiksel analizi 32
5. BULGULAR 33
6. TARTIŞMA 39
7. SONUÇLAR 43
8. KAYNAKLAR 45
9. ÖZGEÇMİŞ..... 55
10. EKLER..... 56
10.1. Etik Kurul Raporu 56
10.2. Makale 57
11. ORİJİNALLİK RAPORU..... 58

KISALTMALAR VE SİMGELER

ACE-2 : AngiotensinConverting Enzyme-2

ANA : Anti-Nükleer Antikor

ANCA :Anti-NötrofilSitoplazmikAntikor

Anti-CCP : Anti siklik sitrüllinpeptid antikoru

ARDS : AcuteRespiratoryDistressSyndrome

c-ANCA : Sitoplazmik-Anti NötrofilSitoplazmikAntikor

COVID-19 : Coronavirus Disease-2019

CRP : C Reaktif Protein

DNA :Deoksiribonükleik Asit

DSÖ : Dünya Sağlık Örgütü

EDTA : Etilendiamintetraasetikasit

EOH : Etanol

FITC : Florescein isotiosiyanat

G-CSF : Granülosit koloni stimüle edici faktör

GM-CSF : Granülosit-monosit koloni stimüle edici faktör

HCHO : Formaldehit

HCoV-229E : Human Coronavirus-229E

HCoV-NL63 : Human Coronavirus-NL63

HCoV-OC4 : Human Coronavirus-OC43

Hep-2 : Human epitelyum (İnsan epitelyum hücresi)

HKU1-CoV : HumanCoronavirus HKU1

HLA-DR : Human Leukocyte Antigen – DR isotype

IFA :İmmünFloresanAntikor

IgG : İmmünglobulin G

IgM : İmmünglobulin M

IFN-γ : Gama İnterferon

IFN-1 : Tip 1 interferon

IL-1 :İnterlökin-1

IL-6 :İnterlökin-6

IL-8 :İnterlökin-8

IL-17 :İnterlökin-17

IL-22 : İnterlökin-22

KLİMUD :Klinik Mikrobiyoloji Uzmanlık Derneği

MERS-CoV :Middle East RespiratorySyndromeCoronavirus

MERS :Middle East RespiratorySyndrome

MHC :MajörHistokompatibilite Kompleksi

ml :Mililitre

µl : Mikrolitre

MPO :Miyeloperoksidaz

mRNA :MessengerRibonükleik Asit

p-ANCA : Perinükleer-Anti NötrofilSitoplazmikAntikor

PBS : Fosfat tampon solusyonu

PCR : Polimeraz Zincir Reaksiyonu

PG-E2 : Prostaglandin-E2

PR3 : Proteinaz 3

RA :RomatoidArtrit

RNA : Ribonükleik Asit

S :Spike

SARS : SevereAcuteRespiratorySyndrome

SARS-CoV : SevereAcuteRespiratorySyndromeCoronavirus

SARS-CoV-2 : SevereAcuteRespiratorySyndrome Coronavirus-2

SLE : SistemikLupusEritematozus

SPSS : StatisticalPackagefortheSocialSciences

TNF-α : TumorNecrosisFactor-α

Tc : Tsitotoksik

Th : T yardımcı

UV : Ultraviyole

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1. Koronavirüsün şematik yapısı (3)..... 7
Şekil 2. Koronavirüsün elektron mikroskobik görüntüsü (3) 7
Şekil 3. İmmün tolerans mekanizmaları 15
Şekil 4 . COVID-19'da otoantikor üretim teorileri (66)..... 20
Şekil 5. Etanol ve formalin ile fikse edilmiş nötrofillerde görülen ANCA pozitifliğinin şematize gösterimi(91). 26
Şekil 6. Floresan mikroskopta c-ANCA ve p-ANCA görünümleri (https://nkfu.com/anti-notrofil-sitoplazmik-antikor-anca-testi-nedir-nasil-yorumlanır/ Erişim tarihi: 31.12.2022) 26
Şekil 7 . Formaline dirençli PR3 pozitif c-ANCA ve formaline dirençli MPO pozitif p-ANCA paternleri (92) 27

TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 1. Bazı otoantikorlar ve sebep oldukları hastalıklar (66) 16
Tablo 2. COVID-19 Hasta ve Kontrol Grubunda ANCA Pozitiflik Oranları..... 33
Tablo 3. p-ANCA Antikor Pozitifliğinin Cinsiyet ile İlişkisi 34
Tablo 4. c-ANCA Antikor Pozitifliğinin Cinsiyet ile İlişkisi 34
Tablo 5. p-ANCA Antikor Pozitifliğinin Klinikler ile İlişkisi 35
Tablo 6. c-ANCA Antikor Pozitifliğinin Klinikler ile İlişkisi 35
Tablo 7. p-ANCA Antikor Pozitifliğinin Yaş ile İlişkisi 36
Tablo 8. c-ANCA Antikor Pozitifliğinin Yaş ile İlişkisi..... 37
Tablo 9. COVID-19 Hasta ve Kontrol Grubunda ANCA Pozitifliğinin Karşılaştırılması 37

COVID-19 Hastalarında ANCA(Anti NötrofilikSitoplazmik Antikor) Parametrelerinin İFA (İmmün Floresan Antikor) Yöntemiyle Araştırılması

Öğrencinin Adı ve Soyadı: Zeynep AYAYDIN
Danışman: Prof. Dr. Selahattin ATMACA
Anabilim Dalı: Tıbbi Mikrobiyoloji

1.ÖZETLER

1.1. Türkçe Özet

Amaç: Coronavirus Disease-2019 (COVID-19) hastalığı, beta koronavirüs ailesine ait yeni bir koronavirüsün neden olduğu bir pandemidir. Literatürde COVID-19 hastalığı sırasında gelişebilen Anti Nötrofil Sitoplazmik Antikor (ANCA) pozitifliği ile ilişkili vaskülit sonucunda oluşan immünglomerulonefrit ve pulmoner kanama vakaları bildirilmiştir. Bu çalışma ile COVID-19 enfeksiyonunda ANCA pozitifliğinin araştırılması amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: Çalışmaya Haziran 2021- Kasım 2022 tarihleri arasında Dicle Üniversitesi Hastanesi COVID-19 poliklinik, servis veya yoğun bakımdaki, bilinen herhangi bir otoimmün hastalığı olmayan, 18-90 yaş arasındaki 200 COVID-19 hastası (COVID-19 Polimeraz Zincir Reaksiyonu testi pozitif) dahil edilmiştir. Kontrol grubu; COVID-19 geçirmemiş, PCR testi negatif, herhangi bir otoimmün hastalığı olmayan aynı yaş grubundaki 50 sağlıklı kan donöründen oluşmuştur. Hasta ve kontrol gruplarından alınan serum örneklerinde immün floresan yöntemi (İFA) ile EUROPLUS Granülosit Mozaik EURO Pattern (EUROIMMUN, Almanya) kiti kullanılarak sitoplazmik ve perinükleer ANCA (c-ANCA ve p-ANCA), miyeloperoksidaz (MPO) ve proteinaz 3 (PR3) antikor varlığı araştırılmıştır.

Bulgular: 200 COVID-19 hasta grubunun 12'sinde (%6) p-ANCA, 15'inde (%7,5) ise c-ANCA pozitifliği tespit edilmiştir. Kontrol grubunda ANCA saptanmamıştır. COVID-19 hasta grubundaki ANCA pozitifliği istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$). Yoğun bakım ünitesinde yatan hastalardaki ANCA pozitifliği, servis ve poliklinik hastalarına göre anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur ($p<0,05$).

Sonuç: Bu çalışma ile COVID-19 enfeksiyonunun, vaskülite sebep olan ANCA otoantikor sentezini tetikleyebileceği sonucuna varılmıştır. Literatürde bu konuyla ilgili çalışma sayısı azdır. Çalışmamızın verileri daha geniş kapsamlı araştırmalar için zemin oluşturacaktır.

Anahtar Kelimeler: COVID-19, Anti-Nötrofil Sitoplazmik Antikor (ANCA), Vaskülit, Miyeloperoksidaz, Proteinaz 3

Investigation of ANCA (Anti Neutrophilic Cytoplasmic Antibody) parameters in COVID-19 patients by IFA (Immune Fluorescence Antibody) method

Student's Surname and Name: AYAYDIN Zeynep

Adviser of Thesis: Prof. Dr. Selahattin ATMACA

Department: MedicalMicrobiology

1.2.Abstract

Aim: Coronavirus Disease-2019 (COVID-19) is a pandemic caused by a new coronavirus belonging to the beta coronavirus family. In the literature, immuneglomerulonephritis and pulmonary hemorrhage cases have been reported as a result of vasculitis associated with ANCA positivity that may develop during COVID-19 disease. The aim of this study was to investigate ANCA positivity in COVID-19 infection.

Material and Methods: Between June 2021 and November 2022, 200 COVID-19 patients (COVID-19 Polymerase Chain Reaction test positive) aged 18-90, without any known autoimmune disease, from the COVID-19 outpatient clinic, service or intensive care units of Dicle University Hospital were included. The control group consisted of 50 healthy blood donors in the same age group who did not have COVID-19, negative PCR test, and no autoimmune disease. The serum samples of the patient and control groups were tested for myeloperoxidase (MPO), proteinase 3 (PR3), cytoplasmic and perinuclear ANCA (c-ANCA and p-ANCA) antibodies with the immunofluorescence method (IFA) by EUROPLUS Granulocyte Mosaic EUROPattern (EUROIMMUN, Germany) kit.

Results: Of the 200 COVID-19 patient groups, 12 (6%) p-ANCA and 15 (7,5%) c-ANCA positivity were detected. ANCA was not detected in the control group. ANCA positivity in the COVID-19 patient group was found to be statistically significant ($p<0,05$). ANCA positivity in patients hospitalized in the intensive care unit was found to be significantly higher than in service and outpatient clinic patients ($p<0,05$).

Conclusion: With this study, it was concluded that COVID-19 infection may trigger ANCA autoantibody synthesis, which causes vasculitis. There are few studies on this subject in the literature. The data of our study will form the basis for more extensive research.

Keywords: COVID-19, Anti-Neutrophilic Cytoplasmic Antibody (ANCA), Vasculitis, Myeloperoxidase, Proteinase 3

2. GİRİŞ ve AMAÇ

Koronavirüs ateş, solunum zorluğu ve öksürük gibi çeşitli semptomlara neden olabilen zarflı bir RNA (Ribonükleik Asit) virüsüdür. Bu virüsler dünya üzerinde daha çok hayvanlarda bulunur. Ancak bazı türlerin insanlarda hastalık oluşturduğu anlaşılmıştır. Bu virüsler toplumda sık olarak görülen hafif üst solunum yolu enfeksiyonları (etkenler; HCoV-OC43, HCoV-NL63, HCoV-229E, HKU1-CoV) ve daha şiddetli olan Ortadoğu Solunum Sendromu (Middle East Respiratory Syndrome-MERS) ve Şiddetli Akut Solunum Sendromu (Severe Acute Respiratory Syndrome-SARS) şeklindeki hastalıklara sebep olabilmektedir. Hayvanlardan insanlara geçerek ağır klinik tablolara yol açmış olan SARS virüsü 2003 yılında , MERS virüsü ise 2012 yılında salgınlara sebep olmuştur(1-4).

Aralık 2019'da nedeni bilinmeyen birkaç pnömonili hastanın Çin'in Hubei Eyaleti, Wuhan şehrindeki yerel bir Huanan Güney Çin Deniz Ürünleri Pazarı ile ilişkili olduğu düşünülmüştür. DSÖ bu yeni virüsün referans adının Şiddetli Akut Solunum Sendromu Koronavirüs-2 (SARS-CoV-2), bu virüse bağlı hastalığın adının ise CoronavirusDisease-2019 (COVID-19) olduğunu açıklamıştır (5). Ülkemizde ilk COVID-19 vakası 11 Mart 2020'de görülmüştür. SARS-CoV-2'nin taşıyıcısının zoonotik kaynaklı olduğu düşünülmüştür. Hastalık damlacık yoluyla bulaşmaktadır. Genellikle inkubasyon süresi 2-14 gün arasında olabilmektedir. Bulaştırıcılığın, semptomların görüldüğü dönemden 1-2 gün önce başlayıp semptomların kaybolmasıyla sona erdiği düşünülmektedir(6).

Araştırmalar COVID-19 immünopatogenezinin virüs çoğalması, immün sistemin aşırı uyarılması ve çoklu organ yetmezliği şeklinde gerçekleştiğini göstermiştir(7). Kliniğin gittikçe kötüleşmesi ve immün sistemin aşırı uyarılmasıyla sitokin düzeylerinin şiddetli bir şekilde yükselmesi, ciddi organ hasarının sebebinin immünopatolojik olabileceğini düşündürmüştür(8,9).

COVID-19 enfeksiyonunda da diğer viral enfeksiyonlarda olduğu gibi virüse özgü IgM ve IgG tipi antikorlar oluşmaktadır. IgG antikorları koruyucu tipteki antikorlardır(10). IgG ve IgM düzeylerinin, kliniği ağır olan vakalarda daha yüksek olduğu gösterilmiştir(11). COVID-19 hastalarında bu spesifik antikorların yanı sıra

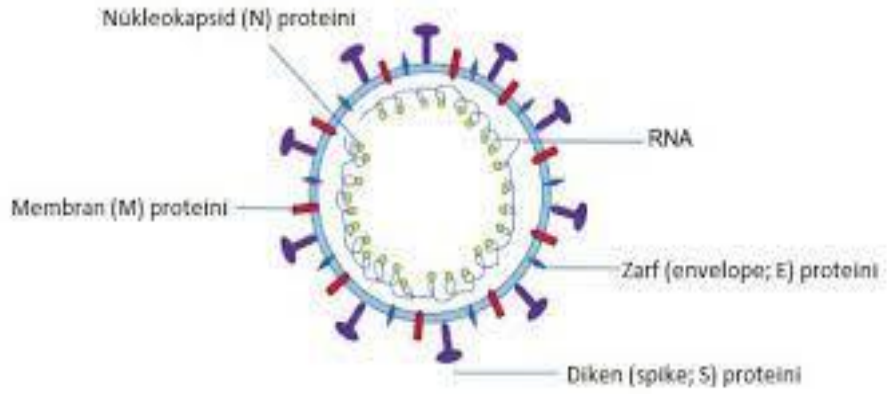
bazı hücre ve dokulara saldırarak hastalığın şiddetini arttırabilen otoantikorların üretimi merak edilmiş ve bu konuda araştırmalar yapılmıştır. Oluşan otoantikorlar hücre içi veya hücre dışı yapılara zarar verebilirler. Örneğin Anti-Nükleer Antikorlar (ANA) vücuttaki tüm sistemlerin hücre çekirdeklerinde bulunan DNA, RNA, çekirdekçiklere, anti-fosfolipid antikorlar hücre zarında bulunan fosfolipidlere bağlanarak dolaşım sistemine, Anti-Nötrofil Sitoplazmik Antikorlar (ANCA) nötrofillere ve dolayısıyla vaskülite sebep olarak damarlara, parietal hücre antikoru mideye, tiroglobulin antikoru tiroid bezine, asetilkolin reseptör antikoru kaslara zarar verir(12,13). COVID-19 hastalığı sırasında üretilen otoantikorların hastalığın şiddetini etkileyen önemli faktörlerden biri olduğu görülmüştür. Bazı kritik vakalarda ölüme bile yol açabilecek düzeyde oluşan ciddi komplikasyonlardan otoantikorlar sorumlu tutulmaktadır(14). COVID-19 vakalarında en sık (%40-50) ANA, anti-fosfolipid antikorları ve anti-tip1 interferon antikorlarının yanı sıra nadir oranda ANCA ve diğer otoantikor türlerine de rastlandığı bildirilmiştir(15,17). Hastalık döneminde oluşan çok miktardaki otoantikorun, hastalık sonrasında bile uzun süre vücutta kalabildiği tespit edilmiştir (COVID-19 can trigger self-attackingantibodies. https://www.sciencedaily.com/releases/2021/12211230130944.htm, Erişim tarihi : 06.12.2022). Bu durum bize hastalık iyileştikten sonra da otoantikorların etkilerinin devam edebileceğini göstermektedir. Nadir hastada da otoantikorların hastalık iyileştikten belli bir süre sonra oluşabileceği gösterilmiştir(18).

COVID-19 hastalarında özellikle ANCA düzeylerinin araştırıldığı çalışma sayısı azdır. Bu hastalığın akut döneminde veya sonrasında tetiklenebilen ANCA antikorları vaskülit gelişmesine sebep olarak ciddi organ hasarı oluşturabilmektedir. Literatürde COVID-19 hastalığı sırasında veya sonrasında gelişebilen ANCA pozitifliği ile ilişkili vaskülit tablosu sonucunda oluşan immunglomerulonefrit ve pulmoner kanama vakaları bildirilmiştir(19,20). Bu çalışmamızın temel amacı; COVID-19 hastalarında nadir de olsa üretimi tetiklenebilen ANCA pozitiflik oranlarını araştırarak, bu hastalarda hastalık dönemi ya da sonrasında gelişebilecek vaskülit riskine dikkat çekmek, COVID-19 enfeksiyonu sırasında vaskülit riski öngörülerek tedavide planlama protokolleri geliştirilebilmesini sağlamak ve çalışma sonunda elde edilecek verilerin gelecekte gerçekleştirilecek daha geniş kapsamlı araştırmalar için zemin oluşturabilmesine katkıda bulunmaktır.

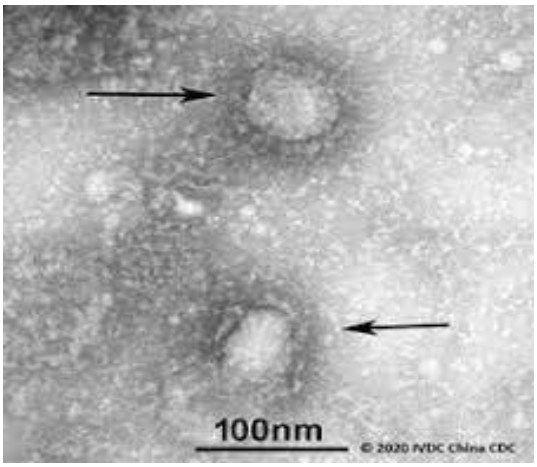
3. GENEL BİLGİLER

3.1. KoronavirüslerinVirolojikÖzellikleri

Koronavirüsler zarflı, tek zincirli ve pozitif polariteli RNA virüsleri olup, yüzeylerinde çubuksu çıkıntıları mevcuttur, bu çıkıntılar latince ‘corona’ yani ‘taç’ anlamına geldiği için bu virüsler Koronavirüs olarak isimlendirilmektedir (Şekil 1 ve Şekil 2) (Sağlık Bakanlığı Halk Sağlığı Genel MüdürlüğüSARS-CoV-2 enfeksiyonu genel bilgiler, epidemiyoloji ve tanı https://covid19.saglik.gov.tr/Eklenti/39551/0/covid-19rehberigenelbilgilerepidemiyolojivetanipdf.pdf Erişim Tarihi : 12 Eylül 2022) (3,21).



Şekil 1. Koronavirüsün şematik yapısı (3)



Şekil 2. Koronavirüsün elektron mikroskobik görüntüsü (3)

Koronavirüsler; Coronaviridae ailesi, Orthocoranavirinae alt ailesinde yer almakta olup, bu alt aile de alfa, beta, gama ve deltacoronavirus ismiyle 4 cinse ayrılır. Her cinsin de içerisinde çok sayıda alt cins bulunmaktadır. Bu cinslerde yer alan birçok virüs insanlarda, evcil ve yabani hayvanlarda (domuz, kedi, köpek, kemirgen, yarasa, kanatlılar) bulunabilmektedir. Koronavirüsün genetik yapısının yarasa kaynaklı koronavirüsün genomuna benzediği gösterilmiştir(22). SARS-CoV-2; SARS-CoV ve MERS-CoV'un da içinde yer aldığı Betacoronavirüs cinsinde yer alan Sarbecovirus altcinsinde yer almaktadır. SARS-CoV ile yakın benzerliği nedeniyle SARS-CoV-2 ismini almıştır (1,2,22).

İnsanlarda hastalık oluşturan koronovirüslerin tamamı alfa ve betakoronavirüs cinsinde yer almaktadır. Daha çok kış ve ilkbahar aylarında üst solunum yolu enfeksiyonlarının %15-30'unda insan koronavirüsleri 229E, OC43, NL63, HKU1 türleri dışındaki SARS-CoV (Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus) ve MERS-CoV (Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus) sırasıyla 2003 ve 2012 yıllarında ölümcül salgınlara sebep olmuştur(3,4).

SARS-CoV-2'nin yapısal ve yapısal olmayan proteinleri mevcuttur. Yapısal olmayan proteinlerin virüsün yaşam döngüsünde birçok görevi vardır. Örneğin nsp15; endoribonükleaz aktivitesi olan, viral RNA sentezi ve virüsü immün yanıttan korumada görev alan yapısal olmayan bir proteindir. Ayrıca nsp14 m-RNA sentezinde görev alırken , nsp10 nsp14'ün aktivasyonunda görev alırken, nsp13 helikaz, nsp16 ise metiltransferaz aktivitesi göstermektedir(23,24). Virüsün yapısal proteinleri ise ; yüzey dikensi ("spike" S), zarf (E), membran/matriks (M) glikoproteinleri ve nükleokapsid (N) fosfoproteinidir. Spike proteinleri virüsün konak hücre yüzeyindeki ACE-2 (AngiotensinConverting Enzyme-2) reseptörüne bğlanmasını sağlar. Zarf proteinleri iyon kanalları olarak çalışarak patogenezde görev alırlar. Membran /matriks proteinleri; virüs yapısında bol miktarda mevcut olup, virüs membranının yapısını oluştururlar. Nükleokapsid fosfoproteinleri; virüs RNA'sını çevreleyerek virüsün şeklini korumasında görevlidirler(24-26).

SARS-CoV-2'nin replikasyon döngüsü 4 aşamada gerçekleşir.

1.Virüsün konak hücreye girişi:

Virüsün konak hücreye tutunup girişini sağlayan reseptör ACE-2 reseptörüdür. Bu reseptör kalpte, akciğerlerde, böbreklerde, damarlarda ve bağırsaklarda mevcuttur. Virüs S proteini ile ACE-2'ye tutunur. Konak hücre ile virüsün füzyonu gerçekleşir ve RNA genomu konak hücrenin sitoplazması içine girer.

2. Transkripsiyon ve proteinlerin sentezi:

Virüs hücre içine girdikten sonra poliproteinlerin translasyonu ve viral proteazların sentezi gerçekleşir. Poliproteinler 16 yapısal olmayan protein parçalanır. RNA'ya bağımlı RNA polimeraz enzimi ile negatif RNA kalıbı sentezlenir. Bu RNA kalıbı üzerinden RNA zinciri çoğaltılır ve virüsün yapısal proteinlerinin sentezi için gerekli olan mRNA'lar üretilir.

3.Nükleokapsitlerin oluşturulması:

Sentezi gerçekleştirilen proteinler endoplazmik retikulum ve Golgi organelleri tarfından yeni virüs partikülleri oluşacak şekilde toparlanır.

4.Tomurcuklanarak hücre dışına çıkma:

SARS-CoV-2 virionları golgi organelinden tomurcuklandıktan sonra konak hücre dışına çıkarılırlar(4,23,25,27-31).

3.2. Salgının Tarihçesi

COVID-19 salgınının tarihçesini inceleyecek olursak; 12 Aralık 2019'da Çin'in Hubei Eyaletinin Wuhan şehrinde bazı doktorlar etiyolojisini bilemedikleri viralpnömoni vakalarının farkına vararak bu hastalığı araştırmaya başlamışlardır. 31 Aralık 2019'da Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) Çin Ofisi; ateş, nefes darlığı ve bilateral akciğer tutulumu ile kendini gösteren, Huanan Deniz Ürünleri Pazarı ile bağlantılı olduğunu düşündükleri SARS, MERS veya influenza dışı viral pnömonili 7'si ağır 27 hastanın olduğu konusunda DSÖ'yü bilgilendirmiştir (https://amedeo.com/CovidReference03_tr.pdf, Erişim tarihi: 06.12.2022). DSÖ 30 Ocak 2020'de 2019-nCoV salgınını 'uluslararası halk sağlığı acil durumu'olarak ilan etmiş ve bu tarihte virüs tüm Çin eyaletleri ile Çin dışında 18 ülkeye yayılmıştır. 11

Şubat 2020'de salgının başlangıcından sonra DSÖ hastalığın adını COVID-19 (Coronavirus Disease-2019), virüsün adını ise SARS-CoV'a benzerliği sebebiyle SARS-CoV-2 olarak açıklamıştır. 11 Mart 2020 tarihinde DSÖ, SARS-CoV-2'nin 114 ülkede 118.000'den fazla insanda saptandığını açıklayarak COVID-19 salgınını pandemi olarak ilan etmiştir (https://www.who.int/dg/speeches/detail/who-director-general-s-opening-remarks-at-the-media-briefing-on-covid-19---11-march-2020, Erişim tarihi: 06.12.2022). Aynı tarihte Türkiye'de resmi olarak ilk olgunun saptandığı bildirilmiştir (https://www.saglik.gov.tr/TR,64383/koronavirus-alacagimiz-tedbirlerden-guclu-degildir.html, Erişim tarihi: 06.12.2022).

3.3. COVID-19'un İmmünopatogenezi

COVID-19 enfeksiyonunun immünopategenezi üç farklı basamakta gerçekleşmektedir.

1.Viral replikasyon sonucu virüsün hızlı bir şekilde çoğalması

2. İmmün sistemin şiddetli bir şekilde uyarılması

3. Akciğer başta olmak üzere birçok organın hasara uğraması(7)

Öncelikle virüs hücrelere girerek replike olur ve daha sonra hücreden salınan yeni virionlar yeni hücre reseptörlerine bağlanarak onları hasara uğratırlar. Böylece hem alveolar epitel hücreleri hem de parankimal hücreler tahrip olurlar. Aynı zamanda, çok sayıda molekül salınarak doğal bağışık yanıtın uyarılması, enflamasyona sebep olan hücrelerin enfeksiyon bölgesine yığılmasına ve bol miktarda sitokin, kemokin ve proteazların salınımıyla Akut solunum zorluğu sendromu (Acute Respiratory Distress Syndrome; ARDS), sepsis ve çoklu organ yetmezliği meydana gelir. COVID19'un sebep olduğu pnömonide SARS-CoV ve MERS-CoV'un enfeksiyon bulgularına benzer şekilde, vasküler konjesyon ve alveolar hasar sebebiyle iki taraflı akut semptomlar, intra-alveolar ödem, hücresel infiltrasyon ve eksüda varlığı gözlenmektedir(32,33). Akut dönemin sonunda, immün yanıtın şiddeti yavaş yavaş azalır ve hasara uğramış organlar düzelmeye başlar. Bu organların bazılarında fibrozis meydana gelebilir ve kronik inflamasyon ya da

immünosupresyon gibi süregen bir dönem gelişebilir. COVID-19 enfeksiyonu sırasında çoklu organda meydana gelen şiddetli immünolojik hasarın, direkt olarak virüsün sebep olduğu sitopatik hasardan ve dolaylı olarak da virüsün tetiklediği şiddetli immün yanıt hasarı sebebiyle oluştuğu tespit edilmiştir. Araştırmalar COVID-19'da hızla ve şiddetli bir şekilde gelişen immün yanıtın, virüsün direkt olarak kendisinin oluşturacağı sitopatik etkiden çok daha hasar verici olduğunu göstermiştir. Akut dönemde COVID-19 hastalarında oldukça yüksek oranda viral yük saptandığı görülmüştür(34).

COVID-19 enfeksiyonunda semptomların başlamasından hastaneye başvuruncaya kadar geçen zamanın ortalama 7, ARDS oluşumuna kadar 9 ve yoğun bakım ünitesine kadar 10,5 gün olduğu bulunmuştur(8). Virüsün immün sistem yanıtını aşırı derecede uyarması ve sitokin seviyelerinin şiddetli bir şekilde artması sebebiyle gelişen ciddi organ hasarı ve hastanın kliniğinin hızla kötüleşme sebebinin büyük oranda immünopatolojik olabileceğini göstermektedir(8,9).

Araştırmalar koronavirüs spike (S) proteininin virüsün hedef hücrelere girebilmesi için önemli bir yapı olduğunu göstermiştir(35). Bu fragman hücre yüzeyinde bulunan ACE-2 reseptörüne bağlanarak membranla birleşir(36,37). Membranla birleşmeden sonra virüs RNA'sı sitoplazmaya girerek replikasyon için gerekli proteinleri sentezlemektedir. Bu proteinler tarafından hızla virüs RNA'larının replikasyonu başlatılır. Bu RNA'lar yapısal ve yapısal olmayan proteinlerin sentezini gerçekleştirmektedir. Hücrenin endoplazmik retikulum ve Golgi organelleri kullanılarak RNA'lar, nükleokapsid ve zarf proteinleri birleştirildikten sonra viral veziküller oluşturulmaktadır. Daha sonra virüsler hücre membranından tomurcuklanarak hücre dışına çıkarılmaktadır. Ancak bu hücreler lizise uğrayarak parçalanmamaktadır(36,38-40). Akciğerdeki epitel hücreleri tarafından nötrofiller ve T lenfositlerini enfeksiyon bölgesine çekmek için interlökin-8 (IL-8) üretilmektedir(41). Akciğer epitel hücreleri, nötrofiller ve alveolar makrofajlar doğal immün yanıtı tetiklemektedirler. Sonrasında kazanılmış immün yanıt başlatılarak T ve B lenfositleri görev alırlar(42). Tek iplikli RNA içeren virüs partikülleri, makrofaj ve dendritik hücrelerde bulunan reseptörler tarafından tanınarak bazı immünolojik sinyal yollarını aktive etmektedirler. Bu yolakların aktifleşmesi ile IL-1, IL-6 gibi

sitokinler, monosit ve makrofajları active edici kemokinler, tümör nekroze edici faktör-α (TNF-α) ve virüse spesifik Tip 1 interferonların (IFN-1) sentezi gerçekleştirilir(43). Ayrıca nötrofiller enfeksiyon bölgesine yığılarak bazı oksidatif moleküller salgılayıp virüsü nötralize etmeye çalışmaktadırlar(44). Virüs antijenlerinin CD4+ yardımcı T (Th) ve CD8+ sitotoksik T Lenfositlere (Tc) sunumuyla, sitotoksik T lenfositler virüsle enfekte hücreleri yok ederken, B hücreleri de aktifleşerek virüse spesifik antikorlar üretmeye başlarlar(45,46). Ek olarak IL-1, IL-6, IL-8, granülosit koloni stimüle edici factor (G-CSF), Granülosit-monosit koloni stimüle edici faktör (GM-CSF), TNF-α ve Prostaglandin- E2 (PG-E2) üretilerek, yoğun bir şekilde nötrofil, monosit ve diğer immün yanıt hücrelerinin enfeksiyon bölgesine göç etmesi hızlandırılmaktadır. Ard arda geliştirilen tüm immün yanıt reksiyonlarının hedefi asıl olarak SARS-Cov-2'yi ortadan kaldırmaktır(46).

COVID-19'da da diğer birçok viral enfeksiyonda olduğu gibi B lenfositleri tarafından IgM ve IgG tipi antikorlar sentezlenmektedir. SARS-CoV-2'ye spesifik IgM tipi antikorlar 12. hafta sonunda negatifleşebilirken, IgG tipi antikorlar uzun süre dayanabilmektedir. Bu yüzden koruyucu olan antikorlar IgG antikorlarıdır(47). Virüse karşı üretilen antikorlar ile ilgili bazı çalışmalarda, spesifik IgG seviyelerinin akut dönemde IgM ile beraber yüksek düzeylerde olduğu gözlenmiştir. Aynı zamanda virüse spesifik IgG ve IgM antikorları, klinik belirtilerin başlamasından itibaren 17-19. günde ve 20-22. günde en üst seviyeye ulaşmaktadır(48). Ek olarak antijene spesifik olarak üretilen IgG ve IgM antikor seviyelerinin, hafif olgulara göre ağır olgularda daha yüksek titrelerde olduğu tespit edilmiştir(11).

COVID-19'da gelişen hücresel immün yanıtta CD4+ ve CD8+ T hücre düzeylerinin anlamlı derecede düşmesi fakat oldukça aktif olmaları en önemli belirteçtir. Bu hastalarda akut dönemde bu tipteki T hücre sayıları anlamlı derecede azalsa da , CD4+ ve CD8+ bellek T lenfositlerinin iyileşen hastaların bazılarında 4 yıl boyunca saptanabildiği gösterilmiştir. Aynı zamanda yakın temaslı olan ama enfekte olmamış kişilerde de önemli düzeyde virüse spesifik bellek T hücreleri geliştirebildiği tespit edilmiştir(49). Araştırmalarda hastalığı geçirenlerin %95'inden fazlasında bellek B, CD4+ T ve CD8+ T hücrelerine bağlı immün yanıt belleği 5 ila 8 ay süresince ölçülebildiği tespit edilmiştir. Bu tespit, birçok kişide ikinci kez

geçirilebilecek COVID-19 hastalığına karşı kalıcı bir immünitenin kazanılabildiğini göstermektedir(50).

SARS-CoV-2 enfeksiyonlarında gelişen akut solunum zorluğu sendromu (Acute Respiratory Distress Syndrome; ARDS), en önemli klinik durumdur(51). Bu sebeple ARDS, COVID-19 enfeksiyonunda başlıca ölüm sebebi olmuştur. COVID-19 hastalarında gelişen ARDS sebebinin başlıca 2 olaya bağlı olduğu bulunmuştur. Bunlardan birincisi; doğrudan makrofajların aktivasyonuyla oluşan şiddetli immünolojik yanıt, ikincisi ise immün sistemde meydana gelen düzensizliktir(52). Makrofajların virüsle aktive olması ile hızla gelişen sitokin fırtınası sebebiyle IL-1, IL-6, IL-8, IL-17, IL-22, TNF-α gibi enflamasyon ile ilgili sitokin ve kemokinlerin düzeyleri şiddetli bir şekilde yükselmektedir. Özellikle yükselen İL-6 düzeyleri ile hastaların kötüleşmesi arasında doğrudan bağlantı olduğunu kanıtlayan çalışmalar yapılmıştır(53). Bu kemokinler hızla yükselerek hastanın durumunu kötüleştirebildiği ve hatta ölüme sebep olabildikleri için prognostik belirteç olarak kabul edilmektedirler. Bu olaylar sebebiyle özellikle akciğerde olmak üzere doku hasarı ve ARDS meydana gelmektedir(54). Aynı zamanda İL-22 fibrinojenin, müsinlerin ve apoptozisi engelleyen proteinlerin artışını sağlayarak hastanın prognozunu kötü etkileyen akciğer ödeminin oluşmasına sebep olmaktadır. Tüm bu mekanizmalar sonucunda akciğerlerde oldukça yoğun bir şekilde müsin ve fibrin birikmesi sonucu ARDS meydana gelmektedir(55). Bu sitokin fırtınası ARDS'ye ek olarak, C reaktif protein (CRP), kan üre azotu, D-dimer ve kreatinin değerlerinin de yükselmesine neden olarak başta kalp, böbrekler ve karaciğer olmak üzere çoklu organ yetmezliğine sebep olur(56,57). SARS-CoV-2 enfeksiyonunda alveolar makrofajlar tarafından üretilen İL-6, monositlerden yüksek miktarda proenflamatuvar sitokinlerin salınmasına sebep olur. İlk önce CD4+ T hücrelerinin, sonrasında da B hücrelerinin sayısının azalmasına sebep olan İL-6, enfeksiyon sırasında lenfopeninin oluşmasından sorumludur. İL-6 ayrıca, CD4+ T hücrelerinin yüzeyinde bulunan HLA-DR antijenlerini azaltarak antijen sunumunu bozmakta ve bu hücrelerden IFN-γ sentezlenmesini de baskılamaktadır. Oluşan lenfopeni ve antijen sunumunun bozulmasıyla immün sistemde düzensizlik meydana gelmektedir(51). Sitokin fırtınasının başlamasının ardından hızla gelişen doku hasarı

ile müsin ve fibrin birikimi sonucu akciğer ödemi gelişmesi ve ağır solunum yetmezliği ile ölüme sebep olabilir.

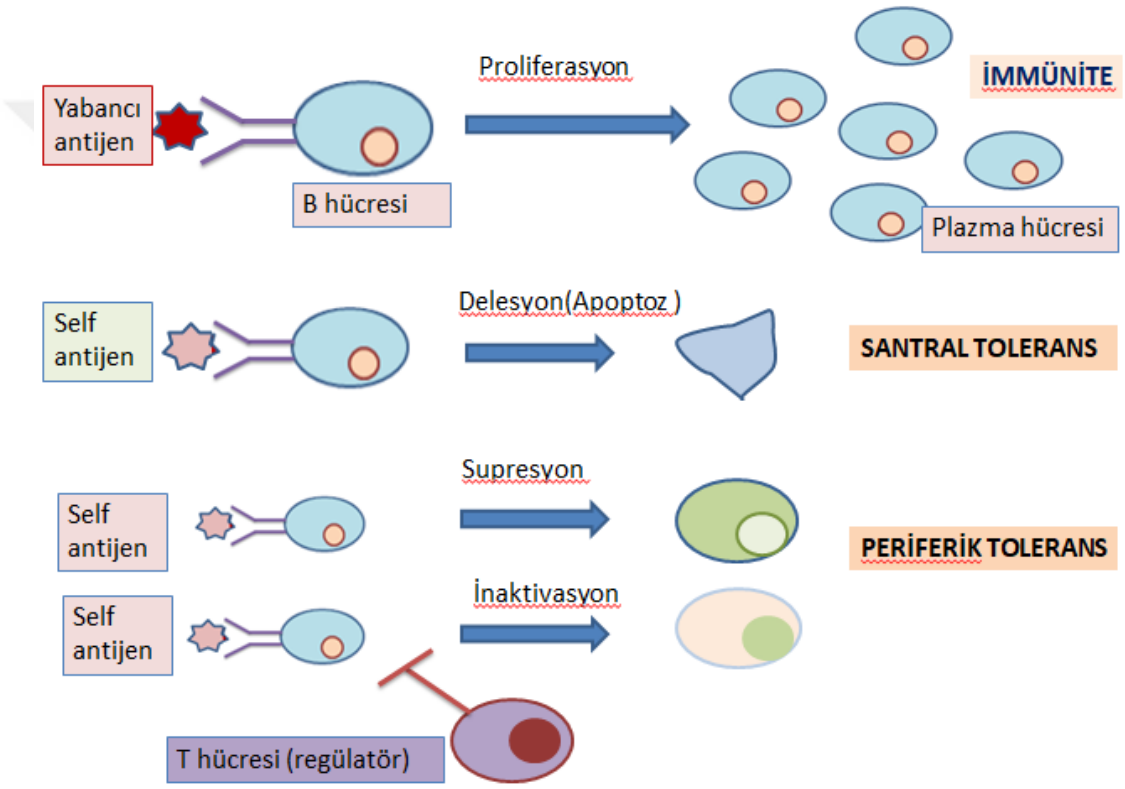
COVID-19 enfeksiyonunun akut döneminde virüse spesifik olarak B lenfositleri tarafından üretilen IgM tipi antikorları takiben, uzun süre dolaşımda kalarak koruyuculuğu sağlayan IgG tipi antikorlar da üretilirler(47). COVID-19 hastalarında virüse spesifik olan bu antikorların yanı sıra, vücut hücre ve dokularına saldırarak kliniğin ağırlaşmasına sebep olabilen otoantikor üretiminin de oluşabileceği merak edilmiş ve bu konuda çalışmalar yapılmıştır.

3.4. Otoimmünite

3.4.1. Otoantikorların tanımı

Normal bir şekilde görev yapan immün sistemin en önemli özelliği, bağışıklık hücrelerinin birçok yabancı antijen olarak tanıdığı yapılara karşı yanıt verirken, kendi antijenik yapılarına karşı yanıt vermemesidir. Kendine ait olan ile olmayan yapılar arasındaki bu ayrım kabiliyeti ile immün sistem hücreleri her türlü mikroorganizmaya yanıt verirken, vücudun kendi antijenlerine karşı herhangi bir yanıt oluşturmazlar. İmmün sistem hücrelerimiz daha anne karnında kemik iliği ve timüste oluşturulurken immün yanıtsızlık (tolerans) adı verilen bu yeteneği kazanırlar ve bu dönemde vücudun kendi (self) antijenine saldıran T ve B lenfositleri ise çeşitli şekillerde yok edilirler(58). Kemik iliği ve timüste gerçekleşen, kendi antijenlerine karşı olan bu yanıtsızlık mekanizmasına santral (merkezi) tolerans adı verilir. Diğer bir immün yanıtsızlık şekli periferik tolerans mekanizmasıdır. Santral tolerans ile kendinden olan yapılara saldıran T ve B lenfositleri ortadan kaldırılmaktadır(59). Bu işlev iki şekilde yürütülür. Birinci olarak, kendisine self antijen sunulduktan sonra immün yanıt veren bağışıklık hücreleri apoptoz ile hemen yok edilmektedir. İkinci yöntem ise, kendi antijenine bağlandığında o antijene reaksiyon veremeyecek olan yeni ve farklı bir Fab reseptörünün üretilmesi veya anerjidir (reseptör üretiminin azaltılması) (Şekil 3) (https://silo.tips/reglatr-t-hcreleri-ve-nsan-hastalklar, Erişim tarihi: 25.12.2022). Böylece self antijene yanıt veren hücreler henüz üretim aşamasında ortadan kaldırılırlar. Ancak santral tolerans mekanizmaları yeterli bir şekilde işlemezse, otoreaktif T ve B lenfositleri bu

işlemlerden kaçarak dolaşıma geçerler(60). Bu lenfositler ikinci mekanizma olan periferik tolerans mekanizması ile etkisiz hale getirilirler. Periferik tolerans lenf düğümlerinde ve dokularda oluşmaktadır. Bu kısımlarda kendi antijenine reaksiyon veren lenfositler apoptoz ve anerji gibi mekanizmalarla etkisiz hale getirilirler. Bu şekilde periferik yanıtsızlık sistemi işleyerek, otoimmünite oluşumuna karşı ikinci bir savunma mekanizması görevini yerine getirir(61).



Şekil 3. İmmün tolerans mekanizmaları

Santral ve periferik tolerans mekanizmalarıyla, sağlıklı bir birey kendi self antijenlerini kendi bağışıklık sisteminden korumaya çalışsa da, bazen self antijenlere karşı yanıtsızlık ortadan kalkabilmektedir. Böyle bir durumda immünite hücrelerinin bazıları kendisine ait antijenleri tanımayarak onları yabancı gibi algılamaya başlar ve böylece organizmanın kendi bağışıklık hücreleri kendi doku ve organlarına saldırırlar(62). Bu olay **otoimmünite**, self antijene karşı üretilen antikora ise **otoantikor** adı verilir. Organizmada otoantikorlar hücre içi veya hücre dışı yapılara

zarar verebilmektedir. Örnek verecek olursak; anti-nükleer antikorlar (ANA) organizmadaki tüm hücre çekirdeklerinde mevcut olan DNA, RNA, çekirdekçik gibi organellere, anti-nötrofil sitoplazmik antikorlar (ANCA) nötrofillere ve dolayısıyla yaygın vaskülite, asetilkolin reseptör antikoru kaslara, anti-fosfolipid antikorlar hücre zarı komponenti olan fosfolipidlere bağlanarak dolaşım sistemine, tiroglobulin antikoru tiroid bezine, parietal cell antikoru mideye zarar verir(63,64). Yapılan çalışmalar bunların yanı sıra bazı sitokinlere karşı da otoantikorların üretilebildiğini göstermiştir(65). Böylece otoantikorlar etkiledikleri organ veya sistemlere göre farklı isimler altında incelenmiştir (Tablo 1)(66).

Tablo 1. Bazı otoantikorlar ve sebep oldukları hastalıklar (66)

Otoantikorlar	Etkilenen Organ	Hastalık
Anti-nükleer antikor	Sistemik	Sistemik Lupus Eritamatozis Skleroderma
Anti-fosfolipid antikorları	Dolaşım sistemi	Anormal Pıhtılaşma Anti-fosfolipid sendromu
Asetilkolin reseptör antikoru	Kas	Myastenia Gravis
Anti-CCP Romatoid faktör	Eklem	Romatoid artrit Sistemik Lupus Eritamatozis
Anti-Nötrofil Sitoplazmik antikor	Dolaşım sistemi	SistemikVaskülit
TSH reseptör antikoru	Tiroid	Hashimoto Tiroiditi
Tiroglobulin antikoru Tiroid peroksidaz antikoru	Tiroid	Graves Hastalığı
Parietal cell antikoru İntrinsik faktör antikoru	Mide	Pernisiyöz anemi
İnsülin antikoru Beta hücre sitoplazmik antikoru Glutamat-dekarboksilaz antikor	Pankreas	Diabetes Mellitus
21-hidroksilaz antikoru	Adrenal	Addison Hastalığı
Anti-sitokin antikoru	İmmün Sistem	

3.4.2. Otoantikorların oluşumu

Nedeni tam olarak bilinmese de, otoimmünitenin hangi mekanizma ile tetiklendiği konusunda bazı teorilerin olabileceği varsayılmıştır. Bunlardan birisi vücuda, kendi antijenleri ile çapraz reaksiyon verebilen yabancı bir antijenin giriş yapmasıdır. Bu antijenlere karşı üretilen antikorların bir süre sonra kendi self antijenlerine karşı da immünolojik yanıt verdiği düşünülmüştür(67,68). Diğer olasılık, bazı ilaç ve kimyasal maddelerin bağışık yanıt hücrelerini tetiklemesi ve bazen kronik enfeksiyonların vücudun self antijenlerinde değişikliğe sebep olmasıdır. Bu antijenlerde meydana gelen önemli yapısal değişiklikler sebebiyle, immün sistem hücreleri bu yapılara karşı otoreaktif tepkiler vermektedirler(69). Üçüncü olasılık, daha çok Majör Histokompatibilite Kompleksi (MHC) genlerindeki düzensizlik ya da hata gibi genetik sebepler yüzünden bağışık tolerans işlevini yerine getirememektedir. Bu fonksiyonun yetersiz kalması sonucu otoantikor üretiminin tetiklendiği düşünülmektedir(70). Bunun yanı sıra T lenfosit fonksiyon bozukluğu da otoantikor üretiminin sebeplerinden biri olabilir. İşlevi bozulan T lenfositleri, yabancı olarak gördükleri self antijenlere karşı B lenfositleri tarafından antikor üretimine sebep olurlar(71).

Otoimmünite oluşumunda rol oynayan başlıca etkenlerin, kişinin genetik yatkınlığına ek olarak geçirilen enfeksiyonlar ve diğer çevresel faktörler olduğu düşünülmektedir. Otoantikorların üretilmesine sebep olan pek çok gen gösterilmiştir. Örneğin DRB1 03:01, DQB1 02:01, DRB1 15:01 ve DQB1 06:02 HLA alleli varlığı sistemik lupus eritematozus (SLE) ile, birçok HLA-DRB1 allelinin olması ise romatoid artrit (RA) ile ilişkilendirilmiştir. Bazı otoimmün hastalıklar tek gen mutasyonu sonucu ortaya çıkabilmektedir. Bunlara örnek olarak CD25 gen mutasyonu sebebi ile multipl skleroz ve tip 1 diabetes mellitus gelişmekte, NOD2 mutasyonu sonucu Crohn hastalığı gelişebilmektedir. Geçirilen enfeksiyonlar sonucu T hücre anerjisi bozularak kendi self antijenlerine tepki veren lenfositler etkili olmaktadır. Böylece enfeksiyonun etkenine karşı gelişen bağışık reaksiyon, bireyin self antijenlerine de saldırarak doku hasarı gelişmesine sebep olmaktadır. Bu sırada mikroorganizmalar ve self antijenler arasındaki moleküler benzerlik, otoreaktif hücrelerin yabancı antijenler tarafından doğrudan uyarılması, enflamasyon veya travma sebebiyle hücre

içinde gizlenmiş olan antijenik yapıların hücre yüzeyine çıkması, sitokin düzensizliğinin oluşması gibi faktörler rol oynamaktadır. Bağışık yanıtın düzenlenmesinde ortaya çıkan bu problemler sebebiyle otoreaktif B ve T hücreleri uyarılarak kendi hücre ve doku antijenlere karşı otoantikor ya da hücresel bağışık yanıt gelişimine sebep olmaktadır. Oluşturulan otoantikorlar genellikle IgG tipinde olup nadiren IgM veya IgA tipi antikorlar da üretilebilmektedir. Ortaya çıkan immün yanıt doku ve organ hasarına yol açarak bunların fonksiyonlarında bozulmaya neden olur. Direkt olarak T lenfositlerinin oluşturduğu doku harabiyetinin tipik örnekleri multipl skleroz ve romatoid artrittir. Otoantikor tarafından oluşturulan otoimmün hasara örnek olarak ise sistemik lupus eritematozus (SLE), Hashimoto tiroiditi ve otoimmün hemolitik anemi verilebilir (KLİMUD Otoantikorların Laboratuvar Tanısı Rehberi https://www.klimud.org/public/uploads/content/files/OLTR_2.baskı.pdf, Erişim tarihi: 26.12.2022).

3.4.3. Otoantikorların zararları

Otoantikorlar tepki verdikleri yapılara göre farklı şekillerde hasarlara sebep olurlar. Bu hasarlar genel olarak aşağıdaki şekillerde sınıflandırılabilir.

1. Damar içi pıhtılaşma : Anti-fosfolipid antikorları gibi otoantikorlar kan dolaşımı hücreleri ve damar duvarında bulunan fosfolipidlere bağlanarak damar içinde pıhtıların oluşmasını tetiklerler(72).

2. İnflamasyon gelişmesi ve doku harabiyeti: SLE, Romatoid artritte olduğu gibi ANA pozitifliği vücutta yaygın doku hasarına sebep olabilirken, Hashimoto ve otoimmün diyabette olduğu gibi organa spesifik hasar da oluşturabilir. ANCA pozitifliği de dolaşım sisteminde vaskülit oluşumunu sağlayarak yaygın doku ve organ hasarına sebep olmaktadır.

3. Sitokinlerde fonksiyon bozukluğu : İmmün sistemde özellikle virüsleri inaktive etmek için üretilen tip-1 interferonlar, bunlara karşı gelişen Anti tip-1 interferon antikorları sebebiyle işlevlerini yerine getiremezler. Böylece özellikle viral enfeksiyon geçirenlerde hastalığın şiddeti artmaktadır(65).

4. Sinir iletiminin engellenmesi: Asetil kolin reseptörlerine karşı oluşan otoantikorlar Myastenia Gravis hastalığında, kas-sinir kavşaklarında sinir iletimine engel olarak çizgili kasların çalışmasını bozarlar(73).

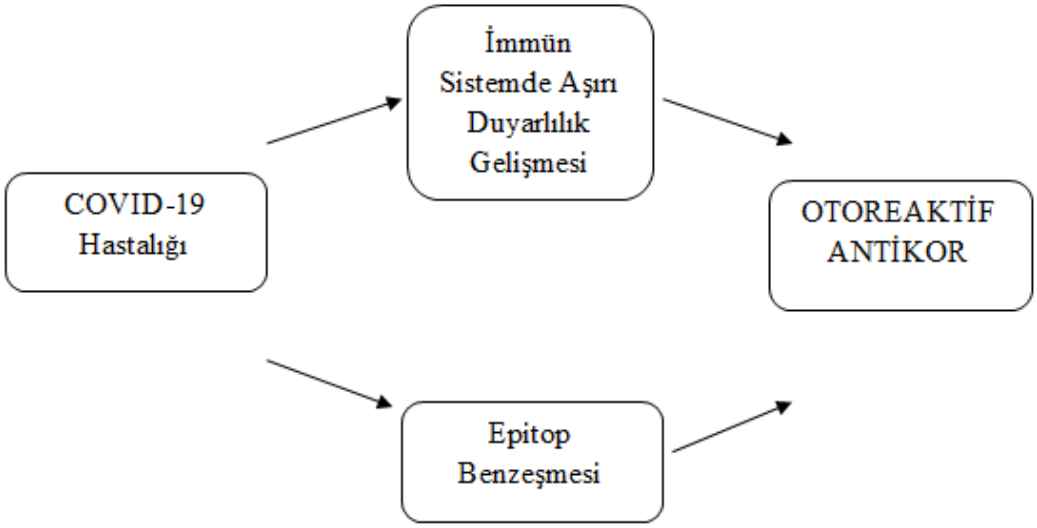
5. Reseptör uyarımının taklit edilmesi : Otontikorlar bir reseptöre bağlanıp onun uyarılmasını sağlayarak hedef doku ya da organı etkilerler. Örneğin ; Graves hastalığında olduğu gibi tirotropin reseptörüne bağlanan otoantikorlar bu reseptörleri uyararak aşırı şekilde tiroid hormonu sentezine sebep olurlar(74).

3.5. COVID-19'da Otoantikorlar

2019 yılının sonlarına doğru isimlendirilen SARS-CoV-2 virüsünün etken olduğu COVID-19 hastalığı hızla bulaşan ve dünya genelinde pandemiye sebep olmuş bir hastalıktır(75). Virüsün vücuda girmesiyle birlikte bağışıklık sistemi hızla müdahale etmektedir. Hemen virüse özgü antikorlar üretilmeye başlanır. Öncelikle IgM düzeylerinin arttığı, daha sonra da IgG yükseldiği görülmektedir. Üretilen bu antikorlar virüsle savaşarak iyileşmeye katkıda bulunurlar. Aynı zamanda virüsle tekrar karşılaşıldığında enfeksiyonun daha hızlı iyileşmesini sağlarlar(76). Buna rağmen bazı vakalarda virüse spesifik olarak üretilen antikorların haricinde, bireyin kendi öz yapı ve antijenlerine saldıran otoantikorların üretildiği gösterilmiştir (Science Daily. COVID-19 can trigger self-attacking antibodies. https://www.sciencedaily.com/releases/2021/12211230130944.htm, Erişim tarihi : 06.12.2022).

Her ne kadar bu otoreaktif antikorların oluşma sebebi kesin olarak bilinmiyor olsa da iki farklı olasılığın varlığı düşünülmektedir. Birinci olasılık; geçirilen koronavirüs enfeksiyonları sonucu immün sisteme katılan hücrelerin bireyin kendi hücre ve dokularına hasar verebilecek derecede aktive olmasıdır. İkincisi olasılık ise; virüse özgü olan antijenik epitoplardan bir bölümünün, hastanın kendi öz antijenleriyle benzer yapıda olmasıdır. Böylece virüse spesifik olarak üretilen antikorların bazılarının kendi hücrelerimize de zarar verdiği düşünülmüştür (Şekil 4)(15,66). Üretilen otoreaktif antikorların enfeksiyonun şiddetini arttıran önemli etmenlerden biri olduğu tespit edilmiştir. Bununla birlikte bazı vakalarda otoantikorların ölümle sonuçlanabilecek ciddi semptomlara sebep olduğu

bulunmuştur(14). COVID-19 hastalarında en sık ANA, anti-tip 1 interferon antikorları, anti-fosfolipid antikorlarının üretildiği görülürken, bu antikorların yanı sıra nadir oranda ANCA, anti siklik sitrüllin peptid antikoru (anti-CCP), eritrosit antikoru gibi otoantikor türlerine de rastlandığı bildirilmiştir(15).



Şekil 4 .COVID-19'da otoantikor üretim teorileri (66)

COVID-19 enfeksiyonunda tespit edilebilen otoantikorlar birkaç başlık altında incelenebilir.

3.5.1. Anti-Nükleer Antikorlar (ANA)

ANA Sistemik Lupus Eritematozis, Sjögren Sendromu ve Sistemik Skleroz gibi hastalıklarda en sık oranda görülen otoantikordur. ANA, hücre çekirdeğinde bulunan birkaç çeşit antijene karşı gelişen otoreaktif antikorlara verilen ortak isimdir. Bu antikorlar hücre çekirdeğinde bulunan DNA, sentromer, histon gibi molekülleri hedef alıp vücutta yaygın inflamasyona neden olarak doku ve organ hasarı oluştururlar. COVID-19'da en sık görülen otoantikordur. Vakaların yaklaşık **%40-50**'sinde ANA pozitifliği tespit edilmiştir(77,78). Aynı zamanda araştırmalar ANA konsantrasyonu ne kadar yüksekse, hastalık şiddetinin de o oranda arttığını göstermiştir. Enfeksiyonu daha ağır geçirenlerde ANA miktarı daha yüksek bulunurken, hafif geçiren vakalarda daha düşük seviyede ANA görülmüştür(79). Sağlıklı bireylerde ANA görülme oranı %5-10 civarında olsa da , ANA oranının

yüksek olması COVID-19 enfeksiyonunun otoimmün yanıtı tetiklemekte olduğunu göstermektedir.

3.5.2. Anti-fosfolipid antikorları

Fosfolipidlerkan hücrelerive damar duvarında yerleşmiş endoteller olmak üzere tüm hücrelerin sitoplazmik zar yapısında bulunan bileşiklerdir. Anti-fosfolipid antikorları bu moleküllere saldırırlar. Sitoplazmik zarlarda yer alan fosfolipidlere bağlanan bu otoantikorların pıhtılaşmayı tetiklediği düşünülmektedir(80). Oluşan pıhtı yapıları ciddi oranda kalp ve dolaşım bozukluğuna sebep olmaktadır. Enfeksiyonu ağır semptomlarla geçiren COVID-19 vakalarında damar yolunda oluşan ciddi pıhtılaşmadan bu otoreaktif antikorlar sorumlu tutulmakta ve meydana gelen trombozlar ölümle sonuçlanabilmektedir(81).

3.5.3. Anti-Tip 1 interferon antikorları

İmmün sistemde görevli, fibroblast ve monositler tarafından sentezlenen tip 1 interferonlar virüslere karşı üretilen sitokinlerden biridir. Bu moleküller virüslerin enfekte ettiği hücrelerde bulunan kendisine ait reseptörlere bağlanarak, bu virüslerin hücre içinde çoğalmasını engelleyen protein yapıdaki maddelerin üretilmesine sebep olurlar. Bu şekilde virüslerin hücre içi replikasyonu engellenerek başka hücreleri enfekte etmesi önlenmiş olur(82). Genellikle durumu kritik olan COVID-19 hastalarının yaklaşık %10'unda tip 1 interferonlara karşı oluşan otoreaktif antikorlara rastlanmıştır(14). Bu antikorlar tip 1 interferonlara tutunarak onların fonksiyonunu engellemekte ve virüsün vücutta hızla yayılımını sağlamaktadır. Bu sebeple enfeksiyonu ağır geçirme nedenlerinden birinin de anti-tip 1 interferon antikorlarının varlığı olduğu düşünülmektedir. Sağlıklı bireylerin enfeksiyonu ağır geçirme nedeninin de bu otoreaktif antikorlar olduğu görülmüştür(83).

3.5.4. Anti-Nötrofil Sitoplazmik Antikorlar (ANCA)

COVID-19 pandemisi döneminde yapılan çalışmalar, bazı hastalarda gerek genetik olarak otoimmüniteye yatkınlık, gerekse self antijenlerle bazı viral moleküllerin antijenik benzerliği, gibi sebepler yüzünden, düşük oranda da olsa gelişen ANCA antikorları sonucu meydana gelen yaygın sistemik vaskülit nedeniyle hastalığın şiddetinin arttığını göstermiştir(15,84-87).

Vaskülit, kan damarlarında enflamasyon gelişmesi sonucu bu damarların beslediği doku ve organların hasara uğraması ile meydana gelen bir hastalıktır. ANCA pozitifliği ile oluşan vaskülitler daha çok küçük damar vaskülitleridir. Bu vaskülitler, ANCA'nın daha çok üst ve alt solunum yolları, böbrekler ve derideki küçük arterlere zarar vermesiyle oluşurlar. Bu durum arterlerde enflamasyon ve harabiyetle sonuçlanan nadir görülen otoimmün enflamatuar bir hastalıktır. Ek olarak çoklu organ yetmezliği ile sonuçlanan nekrotizan vaskülit gelişebilir. ANCA'nın vaskülit tanısında önemli olabileceğini ilk olarak 1982'de Davies ve arkadaşları nekrotizan glomerulonefritli vakaların serumlarında ANCA pozitifliğini ve bunların viral enfeksiyonlarla ilişkisini bildirmesiyle başlamıştır. 1985 yılından sonra yapılan araştırmalarda ise sitoplazmik tutulumu gösteren c-ANCA ve perinükleer tutulumu gösteren p-ANCA paternlerinin varlığı gösterilmiştir. Daha sonra bu farklı paternlerin oluşmasına sebep olan hedef antijenler tespit edilmiş ve c-ANCA'nın nötrofil sitoplazmasında bulunan proteinaz 3 (PR3) antijenine bağlandığı, p-ANCA'nın ise çekirdeğin çevresinde yer alan miyeloperoksidaz (MPO) antijenini hedef aldığı tespit edilmiştir. PR3 bir serin proteazdır ve dokuyu yıkarak nötrofillerin enfeksiyon bölgesine göç etmelerini sağlar. Ek olarak nötrofil olgunlaşmasında da görevlidir. MPO ise hipoklorit ve reaktif oksijen oluşumunu sağlayan bakterisidal etkili bir enzimdir. ANCA'nın hedefi olan bu antijenler inaktive durumdaki nötrofillerin sitoplazmik granüllerinin içinde yerleşmişlerdir. Ancak mikroorganizma ürünleri ve enfeksiyona yanıt olarak üretilen sitokinler tarafından uyarılan nötrofillerde bu granüller içindeki antijenler sitoplazmik membranın dışına çıkarak ANCA'nın bağlanmasına elverişli hale gelirler. Bu etkileşim sonucu nötrofiller aktive olarak solunumsal patlama ve degranülasyon meydana gelir. Nötrofil hücre şeklinin bozulması sonucu kapiller sekestrasyon gelişir. Endotel ile etkileşim sonucu da endotel harabiyeti gerçekleşir (KLİMUD Otoantikorların Laboratuvar Tanısı Rehberi https://www.klimud.org/public/uploads/content/files/OLTR_2.baskı.pdf, Erişim tarihi: 26.12.2022).

Bazı vakalarda genetik bir yatkınlık olabilirken, birçok ANCA ilişkili vaskülit hastasında inflamatuar, çevresel ya da enfeksiyonların tetikleyici rol oynadığı düşünülmektedir. COVID-19 pandemisinde virüs tarafından bağışıklık sisteminin

tetiklenmesiyle oluşan ANCA pozitifliği sonucu çoklu organ tutulumu gelişen vaka raporları bildirilmiştir(88-90).

4. GEREÇ VE YÖNTEM

4.1. Örneklerin Toplanması

Çalışmamıza, gerekli izinler (bakanlık, etik kurul) alındıktan sonra Haziran 2021 ile Kasım 2022 tarihleri arasında Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi COVID-19 polikliniğine başvuran, COVID-19 servisi ya da yoğun bakımda yatan, öncesinde araştırılarak bilinen hiçbir otoimmün hastalığı olmadığı belirlenen, COVID-19 PCR testi pozitif olan, 18-90 yaş arasındaki 200 erişkin hasta dahil edilmiştir. Kontrol grubu olarak sağlıklı kan donörlerinden 50 kişi belirlenmiştir. Bu kontrol grubu COVID-19 geçirmemiş, PCR testi negatif olan, bilinen herhangi bir otoimmun hastalığı olmayan aynı yaş grubundaki bireylerden oluşmuştur.

Hastanemize COVID-19 ön tanısı ile başvuran, PCR pozitifliği olan poliklinik, servis ve yoğun bakım hastalarından, aseptik koşullarda 5-6 ml. venöz kan alınarak jelli biyokimya tüpüne aktarılmıştır. Alınan kanlar 30 dakika içinde Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Merkez Laboratuvarı İFA testleri birimine teslim edilmiş, burada santrifüj edildikten sonra serumları ayrılıp, yeterli sayıya ulaşılıncaya kadar -80 derecede saklanmıştır.

4.2. ANCA Parametrelerinin İFA Yöntemiyle Araştırılması

ANCA parametrelerinin araştırılmasında kullanılan yöntemlerden biri indirekt immün floresan antikor yöntemidir. Bu yöntem hücre veya doku kesitlerinin katı faz şeklinde kullanılarak serumda spesifik antikorların araştırıldığı in-vitro tanı testidir. Bu çalışmadaEUROPLUS Granülosit Mozaik EUROPattern Kiti (Euroimmun, Almanya) ticari kiti kullanılmıştır.

İndirekt İFA yöntemi serumda mevcut olan antikorun katı fazda bulunan antijene bağlanmasıyla oluşan komplekse, floresanla işaretlenmiş anti-insan antikorunun da bağlanması temeline dayanır. Katı faz olarak üzerine çeşitli hücre veya doku kesitleri fikse edilmiş slaytlar (lamlar) kulanılmaktadır. Kite ait ANCA slaytlarında her bir hasta için kullanılan bölmelerin her birinde etanolle fikse edilmiş nötrofil, formalinle fikse edilmiş nötrofil, PR3 ANCA, MPO ANCA ve Human Epiteliyal-2 (HEp-2) ve nötrofil birlikteliği olan 5 adet bölme yer almaktadır. Kullanılması gereken serum dilüsyonu 1/10, kullanılan konjugat IgG türünde

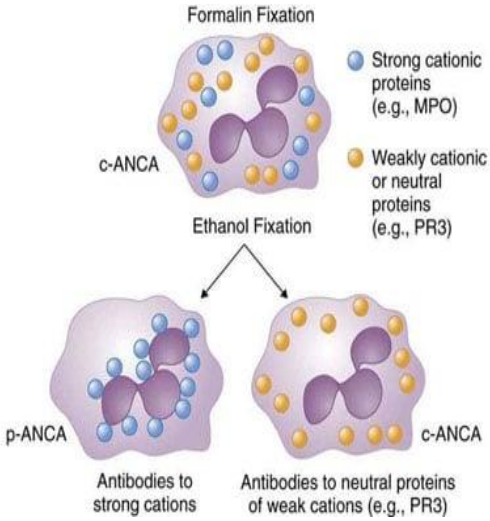
olmalıdır. Her çalışma için mutlaka pozitif ve negatif kontroller çalışmaya dahil edilmelidir. Ticari kit olarak hazır haldeki bu slaytların üzerine önce dilüe hasta serumu damlatılır ve her üretici firmanın kendi prosedürüne uygun sürede bekletilir. Tampon solüsyonla yıkama yapıldıktan sonra FITC (fluorescein isothiocyanate) ile işaretlenmiş anti-insan antikoru (konjugat) eklenir ve tekrar bekletilip sonrasında yine tampon solüsyonla yıkama yapılır. Son olarak floresan mikroskopta incelenmek üzere slaytlar gliserol ile kaplanarak üzeri lamelle kapatılır. Slaytlar mümkün olduğunca bekletilmeden hemen incelenmelidir. Aksi halde floresan şiddetinde azalma görülebilir. İncelendikten sonra da slaytlar mutlaka buzdolabında 2-8 derecede saklanmalıdır (KLİMUD Otoantikorların Laboratuvar Tanısı Rehberi (Nisan 2016) web adresi: https://www.klimud.org/public/uploads/content/files/OLTR_2.baskı.pdf (Erişim tarihi: 26.12.2022).

4.2.1. Floresan mikroskobunda değerlendirme

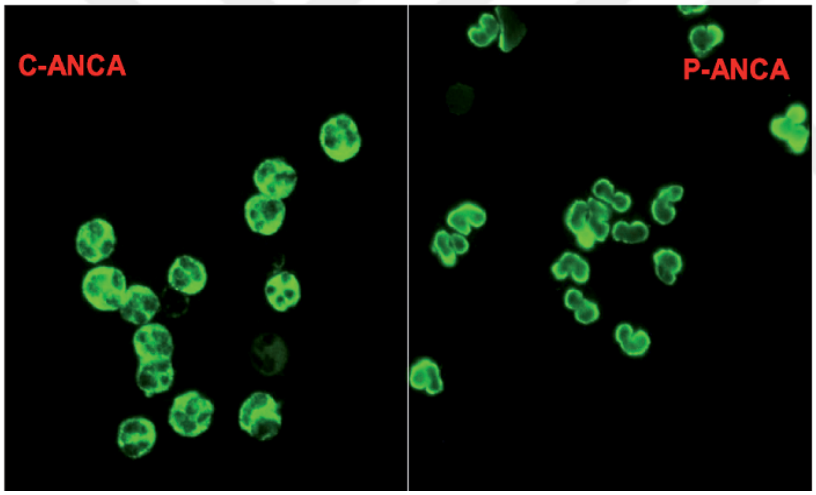
İFA çalışması bitmiş olan slaytlar ultraviyole (uv) lambalı floresan mikroskopta ANCA değerlendirmesi için incelemeye alınır. İlk olarak etanolle fikse edilmiş nötrofiller incelenir. Çünkü perinükleer (p-ANCA) ve sitoplazmik (c-ANCA) ANCA'nın ayırımı sadece bu bölmede yapılabilir. Bu bölmenin incelenmesi sonucu iki farklı patern saptanır (Şekil 5) (91).

c-ANCA : Nötrofil sitoplazmasına yayılmış, sitoplazmik türde dağınık, granüler yeşil renkte bir tutulum mevcuttur. Hücre çekirdeğinde floresan tutulum yoktur (Şekil 6) (https://nkfu.com/anti-notrofil-sitoplazmik-antikor-anca-testi-nedir-nasil-yorumlanır/ , Erişim tarihi: 31.12.2022).

p-ANCA : Nötrofil çekirdeğinin çevresini çepeçevre saran perinükleer türde floresan yeşil tutulum mevcuttur (Şekil 6) (https://nkfu.com/anti-notrofil-sitoplazmik-antikor-anca-testi-nedir-nasil-yorumlanır/ , Erişim tarihi: 31.12.2022).



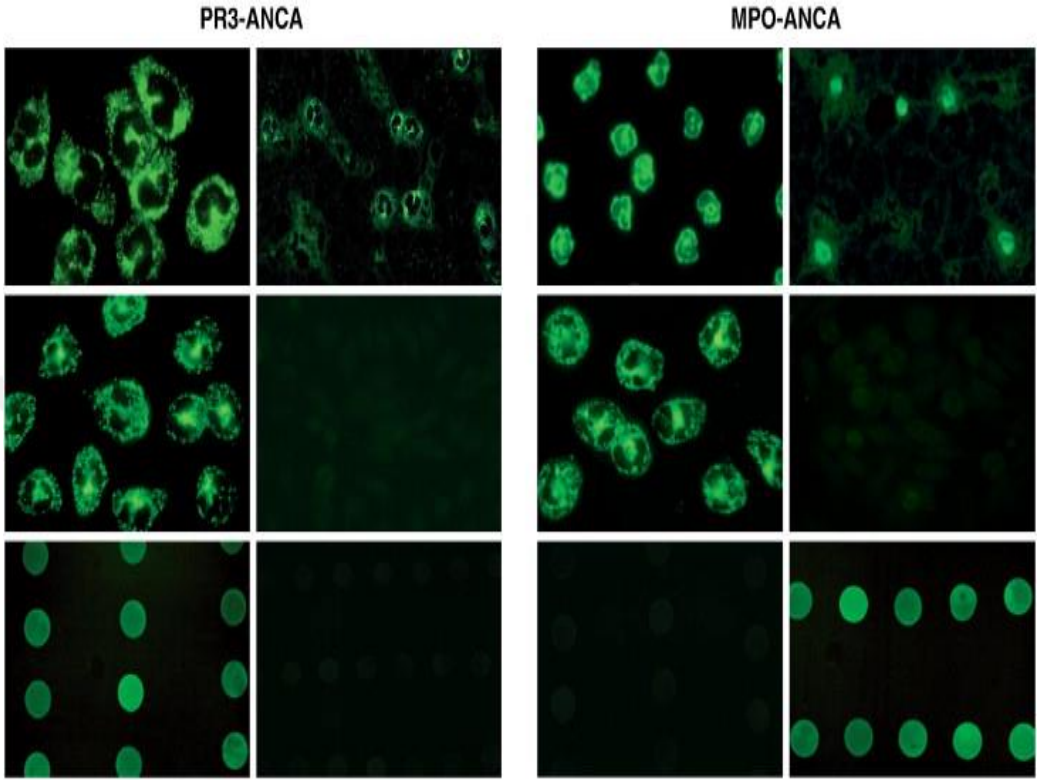
Şekil 5. Etanol ve formalin ile fikse edilmiş nötrofillerde görülen ANCA pozitifliğinin şematize gösterimi(91).



Şekil 6. Floresan mikroskopta c-ANCA ve p-ANCA görünümleri (https://nkfu.com/anti-notrofil-sitoplazmik-antikor-anca-testi-nedir-nasil-yorumlanır/ , Erişim tarihi: 31.12.2022)

Etanol ile fikse edilmiş bölmede perinükleer- sitoplazmik incelemesi yapıldıktan sonra formalinle fikse edilmiş nötrofil bölmesine geçilir. Granüllerin göç etmesi engellenerek sitoplazmadaki oldukları yere sabitlendikleri için formalinli bölmede sadece sitoplazmada floresan boyanma mevcuttur (KLİMUD Otoantikorların Laboratuvar Tanısı Rehberi (Nisan 2016) web adresi: https://www.klimud.org/public/uploads/content/files/OLTR_2.baskı.pdf, Erişim tarihi: 26.12.2022)(91). Ancak formaline duyarlı ANCA tiplerinde, formalinli

nötrofillerde floresan tutulum görülmemektedir. Formaline dirençli c-ANCA tipleri çoğunlukla PR3 bölmesinde pozitif floresan verirler. Formaline dirençli p-ANCA tipleri ise çoğunlukla MPO bölmesinde pozitif floresan vermektedirler (Şekil 7)(92).



Şekil 7 . Formaline dirençli PR3 pozitif c-ANCA ve formaline dirençli MPO pozitif p-ANCA paternleri(92)

ANCA'nın İFA yöntemiyle incelenmesi sırasında, serumda mevcut olan ANA varlığına dikkat edilmesi gerekir. ANCA çalışması dilüsyonu 1/10 olduğundan ANA pozitifliği varsa özellikle p-ANCA'yı perdeleyebilecektir. ANCA negatif, sadece ANA pozitifliği varsa etanolde görünen floresan görünüm, formalinli bölmede kaybolur ya da sadece nükleer boyanma görülür. Bunun ayrımı slaytta nötrofilleri de içeren HEp-2 hücre bölmesinde yapılabilir. ANCA ile birlikte ANA pozitifliği durumunda HEp-2 hücre çekirdeklerinde de floresan tutulum vardır. Ancak bu bölmede incelenen nötrofil çekirdeklerinin hem ANA , hem de ANCA pozitifliği sebebiyle HEp-2 hücre çekirdeklerinden çok daha yoğun floresan verdiği görülür (KLİMUD Otoantikorların Laboratuvar Tanısı Rehberi (Nisan 2016) web

adresi: https://www.klimud.org/public/uploads/content/files/OLTR_2.baskı.pdf, Erişim tarihi: 26.12.2022).

4.2.2. ANCA İFA Test Kiti ile COVID-19'lu Hasta ve Kontrol Grubu Serumlarının Çalışılması

COVID-19'lu hasta ve kontrol grubu serumlarında ANCA araştırması için, EUROPLUS Granülosit Mozaik EUROPattern indirekt immün floresan test kiti (EUROIMMUN, Almanya) kullanılmıştır. Bu test kiti, hasta örneklerinde granülosit sitoplazmalarını hedef alan IgG tipi insan antikorlarının in-vitro koşullarda kalitatif olarak saptanmasını sağlamaktadır. Çalışma yapılıncaya kadar kitler 2-8 derecede buzdolabında saklanmıştır.

Seyreltilmiş hasta serumları substrat konsantrasyonları ile enkübe edilmektedir. Reaksiyon pozitif ise IgG tipi antikorlar antijenlere bağlanmaktadır. Bu antikorlar , FITC-işaretli anti-human antikorları ile boyanmakta ve bu görünüm floresan mikroskobu ile görünür hale getirilmektedir.

4.2.3. ANCA İFA ticari test kitinin özellikleri

Kit içinden çıkan çalışma slaytlarının üzerinde toplam 10 adet 5x5 mm boyutunda reaksiyon alanları mevcuttur. Her bir alanın içinde de 5 adet fikse edilmiş substrat BIOCHIP yer almaktadır.

1-Etanol (EOH) ile fikse granülosit substrat BIOCHIP'i : İnsanlardan elde edilen etanol ile slayta sabitlenmiş granülositler, granülosit sitoplazmasını hedef alan c-ANCA ve p-ANCA'nin tespiti için standart bir substrat olarak kullanılırlar.

2- Formaldehidle (HCHO) fikse granülosit substrat BIOCHIP'i: Bu substrat, MPO'yu hedefleyen p-ANCA ve PR3'ü hedef alan c-ANCA'nın tespit edilmesini sağlar. Çünkü bu otoantikorlar çoğunlukla bu kesitte formaline dirençli yeşil floresan pozitifliği verirler. Formaline duyarlı olan antikorlar bu kesitte floresan vermezler.

3- EOH ile fikse HEp-2 + granülosit BIOCHIP'i: p-ANCA'yı, hücre çekirdeğini hedefleyen ANA antikorlarından immün floresan aracılığıyla ayırmak çoğunlukla zordur. Bu nedenle her bir hasta için mevcut inceleme alanı içinde , granülositlerle birlikte fikse edilmiş HEp-2 hücreleri bölmesi kullanılmıştır. Bu kısım p-ANCA'nın

ANA'dan ayrımına yardımcı olmaktadır. Böylece her iki substrat da aynı anda mikroskop altında incelenebilmektedir.

4 - PR3 BIOCHIP'i: Bu kısım insan nötrofillerinden izole edilmiş yüksek saflıktaki proteinaz 3 (PR3) ile kaplıdır. Bu substrat slaytın bu bölmesine yuvarlak daireler şeklinde fikse edilmiştir. PR3 bağ dokusu proteinlerini parçalayan bir serin proteazdır.Genellikle formaline dirençli c-ANCA antikorları bu kısımda pozitif floresan görünüm vermektedirler.

5- MPO BIOCHIP'i : İnsan nötrofillerinden izole edilmiş yüksek oranda saflaştırılmış myeloperoksidaz (MPO) ile kaplıdır. Bu protein, birçok bakteri için toksik olan oksijen radikallerinin oluşumunda görev alır. MPO slaytın bu bölmesinde daireler şeklinde fikse edilmişlerdir. Çoğunlukla formaline dirençli p-ANCA antikorları bu kısımda pozitif floresan görünüm vermektedirler.

4.2.4. Reaktiflerin hazırlanması ve stabilitesi

Kit içindeki reaktifler, ilk açıldıktan sonra 2-8 derecede saklandığı ve kontaminasyondan korunduğu sürece son kullanma tarihine kadar stabildir.

Slaytlar kullanıma hazırdır. Ambalaj içindeki slaytlar kullanım öncesi oda ısısına getirildikten sonra açılmıştır. Yoğuşan su substrata zarar verebilir.

FITC-işaretli sekonder antikor (Konjugat) kullanıma hazırdır. İlk kulanımdan önce iyice karıştırılmıştır. Işığa duyarlı olduğu için güneş ışığından korunmalıdır.

Pozitif ve negatif kontroller kullanıma hazırdır. İlk kullanımdan önce iyice karıştırılmıştır.

PBS-Tween Solüsyonu : Bir paket "PBS için tuz" bir litre distile su içinde çözdürülmüş ve 2ml Tween 20 ile homojen oluncaya kadar 20 dakika karıştırılmıştır. Hazırlanan PBS-Tween solüsyonu 2-8 derecede bir hafta saklanabilmektedir. Solüsyonun bulanıklaşması durumunda kullanılmamalıdır.

Gliserol (Kapatma maddesi) kullanıma hazırdır.

Reaktif tepsisinin reaksiyon alanları hidrofilik, çevresi ise hidrofobiktir.

4.2.5. Örneklerin hazırlanması ve testin çalışılması

ANCA test kiti için insan serumu ya da EDTA, heparin, sitrat plazma kullanılabilmektedir. İncelenecek hasta serumları 14 güne kadar 2-8 derecede saklanabilmektedir. Serumlar daha uzun süre bekletilecekse -80 derecede dondurucuya kaldırılabilir. Kalitatif değerlendirme için numuneler, 11.1 mikrolitre (µl) hasta serumu 100 µl PBS-Tween solüsyonu ile karıştırılıp 4 saniye vortekslenerek 1/10 oranında dilüe edilmiştir. Seyreltilmiş serumlar aynı gün içinde çalışmaya alınmıştır.

Pipetleme : 30 µl , 1/10 oranında dilüe edilmiş hasta serumları reaktif tepsisindeki reaksiyon alanlarına, hava kabarcığı oluşturmadan pipetlendi.

İnkübasyon : BIOCHIP slaytları reaksiyon tepsisi üzerindeki ilgili girintilere yerleştirilerek reaksiyon başlatıldı. Her hasta serumunun kendi BIOCHIP alanı ile temasta olduğu kontrol edilerek 30 dakika oda sıcaklığında (18-25 derecede) inkübe edildi.

Yıkama : Bir beher içindeki PBS-Tween solüsyonu slaytların üzerine hızlıca dökülerek yıkandı ve hemen ardından içinde PBS-Tween içeren bir küvete bırakılıp 5 dakika bekletildi. Süre sonunda küvet yeni tampon solüsyonla doldurulduu.

Pipetleme : Konjugat kullanılmadan önce iyice karıştırıldı. 25 µl konjugat temiz bir reaksiyon tepsisinin her bir reaksiyon alanına pipetlendi.

İnkübasyon : BIOCHIP slaytları dikkatlice küvetten çıkarıldı. Beş saniye içinde slaytın arkası ve uzun kenarları kağıt havlu ile kurulandı ve hemen reaktif tepsisi üzerindeki girintilere yerleştirildi. BIOCHIP alanları ve pipetlenen sıvılar arasındaki doğru temas kontrol edildi. Bu aşamadan sonra slaytlar direkt güneş ışığından korunarak, oda sıcaklığında 30 dakika bekletildi.

Yıkama : Yıkama küveti yeni PBS-Tween ile doldurulduu. Bir beher ile slaytların üzerine hızlıca PBS-Tween solüsyonu dökülerek yıkandı. Sonrasında hemen içinde PBS-Tween bulunan küvete bırakılıp 5 dakika bekletildi.

Gliserol ile kapatma : Reaksiyon alanı başına 10 mikrolitre gliserol, slaytı kapatacak uzunluktaki lamelin üzerine damlatıldı. BIOCHIP slayt PBS-Tween küvetinden dikkatlice alındı. Arkası ve dört kenarı kağıt havlu ile kurulandı. BIOCHIP slaytlar BIOCHIP alanları aşağı bakacak şekilde gliserol damlatılmış lamellerin üzerine yerleştirildi. Lamelin slayt girintisine oturduğu kontrol edildi. Eğer gerekliyse lamelin pozisyonu düzeltildi.

4.2.6. Hasta ve kontrol grubuna ait slaytların floresan mikroskobu ile incelenerek değerlendirilmesi

Slaytlar bekletilmeden floresan mikroskobunda, mavi ışık veren uv lamba altında, 40'lık objektifle incelemeye alındı. Her hasta için ilk olarak etanol ile fikse edilmiş nötrofil alanı incelendi. ANCA antikoru negatif olan örneklerin nötrofilleri floresan vermemişti ve koyu görünümdeydi.

Etanollü ve formalinli alanda nötrofillerin sitoplazmalarına düzgün olarak dağılmış granüler bir floresan pozitifliği, PR3 alanında da yeşil dairesel floresan görünümü veren hasta sonuçları c-ANCA, formaline dirençli, PR3 pozitif olarak kaydedildi. Etanollü alanda c-ANCA görünümü vermiş, ancak formalinli alanda bu floresan kaybolmuş ve PR3'te de floresan yoksa bu hastalar c-ANCA, formaline duyarlı, PR3 negatif olarak kaydedildi.

Etanol ile fikse nötrofil alanında, nötrofillerin parçalı çekirdeklerini şerit şeklinde çevreleyen perinükleer floresan görülen, formalinli alanda yine stoplazmaya dağılmış floresan görünümü devam eden ve MPO alanında da dairesel yeşil floresan veren hastalar p-ANCA, formaline dirençli, MPO pozitif olarak kaydedildi. Formaline duyarlı olup bu alanda ve MPO'da floresan vermeyen hastaların sonuçları ise p-ANCA, formaline duyarlı, MPO negatif olarak kaydedildi. PR3 ve MPO negatifliği durumunda buradaki dairesel alanlar yeşil floresan vermeyip karanlık görünümdeydiler.

Bazı hastalarda etanol ile sabitlenmiş nötrofillerde belirgin olmayan dağınık bir perinükleer floresan boyanma görüldü. Bu görüntü, ANA pozitifliği durumunda yanıltıcı olabileceğinden HEp-2 + granülosit alanı da incelenerek gerçek ANCA

pozitifliği arandı. Bu alanda düşük titrede HEp-2 interfaz hücrelerinde şüpheli ANA paternleri farkedildi. Ancak bu alandaki granülositlerde floresan negatifti.ANCA testinin serum dilüsyonu (1/10) ANA İFA testinin serum dilüsyonundan (1/100) daha düşük olduğundan ANCA araştırırken gördüğümüz bu şüpheli floresanlar kayda değer bulunmadı. Yine de pandemi sırasında yapılan araştırmalara göre COVID-19 hastalarında en sık görülen (%45-50) otoantikorun ANA olduğu bildirildiğinden, böyle hastalarda 1/100 dilüsyonla ANA İFA'nın önerilebileceği düşünüldü.

4.2.7. Test sonuçlarının istatistiksel analizi

Bu araştırma kapsamında elde edilen veriler SPSS Versiyon 20.00 paket programında analiz edilmiştir. Kategorik değişkenler arasında ilişki olup olmadığının belirlenmesi için Ki-Kare (Chi-Square Test) testi uygulanmıştır. Beklenen değerlerin %20'den az olması durumunda ise Ki-Kare testinden elde edilen p değeri yerine Fisher Kesinlik Testi sonucunda elde edilen p değeri rapor edilmiştir. İstatistiksel testlerden elde edilen bulgular yorumlanırken p değerinde kritik sınır olarak 0,05 değeri kullanılmıştır.

5. BULGULAR

Çalışmamıza 200 COVID-19 enfeksiyonu geçiren, PCR testi pozitif olan hasta ve 50 kontrol grubu dahil edilmiştir. Hasta grubuna ait yaş, cinsiyet ve tedavi görülen klinikle ilgili veriler kaydedilmiştir. 50 kontrol grubunun serumlarında ANCA negatif bulunmuştur.

Toplam 200 hasta grubundaki 12 hastada p-ANCA, 15 hastada ise c-ANCA pozitifliği tespit edilmiştir. Bu sonuçlara göre elde edilen p-ANCA pozitiflik oranının % 6, c-ANCA pozitiflik oranının ise % 7,5 olduğu dikkat çekmektedir.

Tablo 2. COVID-19 Hasta ve Kontrol Grubunda ANCA Pozitiflik Oranları

	p-ANCA (+)	c-ANCA (+)	ANCA (-)	TOPLAM
COVID-19 Hasta grubu	12 (%6)	15 (%7,5)	173 (%86,5)	200
Kontrol grubu	0	0	50 (100)	50

p-ANCA pozitif olan 11 hastanın formaline duyarlı ve MPO negatif olduğu, 1 hastanın ise formaline dirençli MPO pozitif olduğu görülmüştür. 15 c-ANCA pozitifliğinin tümünün formaline duyarlı, PR3 negatif olduğu bulunmuştur.

Tablo 3 ve Tablo 4'te hasta grubundaki p-ANCA ve c-ANCA pozitifliğinin cinsiyete göre dağılımı gösterilmiştir. Bu verilere göre erkek hastalarda ANCA pozitifliğinin daha yüksek olduğu görülmüştür.

p-ANCA otoantikorunun pozitiflik durumu ve cinsiyet arasındaki ilişkinin belirlenmesi amacıyla gerçekleştirilen Ki-Kare testine ait bulgular Tablo 3'de gösterilmiştir.

Tablo 3'e göre, kadınlardaki pozitiflik oranı %3,81, erkeklerdeki pozitiflik oranı ise %10'dur. Gerçekleştirilen Ki-kare testi sonucunda, hastalardaki p-ANCA pozitiflik durumu ve cinsiyet arasında anlamlı bir ilişki bulunmamıştır ($X2= 2,869$, $p>0,05$).

Tablo 3. p-ANCA Antikor Pozitifliğinin Cinsiyet ile İlişkisi

Cinsiyet/p-ANCA	Pozitif	Negatif	X^2	p
Kadın	4	101	2,869	0,090
Erkek	8	72		

c-ANCA otoantikorunun pozitiflik durumu ve cinsiyet arasındaki ilişkinin belirlenmesi amacıyla gerçekleştirilen Ki-Kare testine ait bulgular Tablo 4'de gösterilmiştir.

Tablo 4. c-ANCA Antikor Pozitifliğinin Cinsiyet ile İlişkisi

Cinsiyet/c-ANCA	Pozitif	Negatif	X^2	p
Kadın	7	101	0.775	0.379
Erkek	8	72		

Tablo 4'e göre, kadınlardaki pozitiflik oranı %6,48, erkeklerdeki pozitiflik oranı ise %10'dur. Gerçekleştirilen Ki-kare testi sonucunda, hastalardaki c-ANCA pozitiflik durumu ve cinsiyet arasında anlamlı bir ilişki bulunmamıştır (X2= 0,775, p>0,05).

Tablo 5 ve Tablo 6'da p-ANCA ve c-ANCA pozitifliğinin tedavi görülen kliniklere göre dağılımı gösterilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre p-ANCA veya c-ANCA pozitif hastaların sayısının, poliklinik ya da serviste yatan hastalara kıyasla COVID-19 yoğun bakım ünitesinde yatanlarda daha yüksek olduğu dikkat çekmektedir.

p-ANCA otoantikorunun pozitiflik durumu ve numunenin alındığı klinik arasındaki ilişkinin belirlenmesi amacıyla gerçekleştirilen Fisher Kesin Ki-Kare testine ait bulgular Tablo 5'te gösterilmiştir.

Tablo 5. p-ANCA Antikor Pozitifliğinin Klinikler ile İlişkisi

Klinik/p-ANCA	Pozitif	Negatif	Fisher	p
Covid Yoğun Bakım	8	56		
Covid Servis	4	60	8,229	0,015
Covid Poliklinik	0	57		

Tablo 5'e göre, COVID-19 yoğun bakımda pozitiflik oranı %12,50, COVID serviste pozitiflik oranı %6,25 ve COVID poliklinikte pozitiflik oranı %0'dır. Gerçekleştirilen Fisher Kesin Ki-Kare testi sonucunda, p-ANCA pozitiflik durumu ve numunenin alındığı klinik arasında anlamlı bir ilişki bulunmuştur (Fisher= 8,229, $p<0,05$). Buna göre, anlamlı ilişkinin COVID poliklinikten alınan numunelerdeki p-ANCA otoantikor oranının COVID yoğun bakım ve COVID servisten alınan numunelerdeki p-ANCA otoantikor oranınına göre daha az olmasından kaynaklandığı ifade edilebilir.

c-ANCA otoantikorunun pozitiflik durumu ve numunenin alındığı klinik arasındaki ilişkinin belirlenmesi amacıyla gerçekleştirilen Fisher Kesin Ki-Kare testine ait bulgular Tablo 6'te gösterilmiştir.

Tablo 6. c-ANCA Antikor Pozitifliğinin Klinikler ile İlişkisi

Klinik/c-ANCA	Pozitif	Negatif	Fisher	p
Covid Yoğun Bakım	13	56		
Covid Servis	2	60	16,866	0,000
Covid Poliklinik	0	57		

Tablo 6'ya göre, COVID yoğun bakımda pozitiflik oranı %18,84, COVID serviste pozitiflik oranı %3,22 ve COVID poliklinikte pozitiflik oranı %0'dır. Gerçekleştirilen Fisher Kesin Ki-Kare testi sonucunda, c-ANCA pozitiflik durumu ve numunenin alındığı klinik arasında anlamlı bir ilişki bulunmuştur (Fisher= 16,866, $p<0,05$). Buna göre, anlamlı ilişkinin COVID yoğun bakımdan alınan numunelerdeki c-ANCA otoantikor oranının, COVID servis ve COVID polikliniklerinden alınan numunelerdeki c-ANCA otoantikor oranınına göre daha fazla olmasından kaynaklandığı ifade edilebilir.

Tablo 7 ve Tablo 8'de p-ANCA ve c-ANCA pozitifliğinin yaş gruplarına göre dağılımı yapılmıştır. Bu verilere göre 60 yaş üstü hastalarda pozitiflik oranlarının daha yüksek olduğu gözlenmiştir.

p-ANCA otoantikorunun pozitiflik durumu ve yaş arasındaki ilişkinin belirlenmesi amacıyla gerçekleştirilen Fisher Kesin Ki-Kare testine ait bulgular Tablo 7'de gösterilmiştir.

Tablo 7. p-ANCA Antikor Pozitifliğinin Yaş ile İlişkisi

Yaş/p-ANCA	Pozitif	Negatif	Fisher	p
60 Yaş Altı	1	74	6,715	0,029
60 Yaş Üstü	11	99		

Tablo 7'ye göre, 60 yaş altı hastalardaki pozitiflik oranı %1,33, 60 yaş üstündeki hastalarda pozitiflik oranı ise %10'dur. Gerçekleştirilen Fisher Kesin Ki-kare testi sonucunda, hastalardaki p-ANCA pozitiflik durumu ve yaş arasında anlamlı bir ilişki bulunmuştur (Fisher= 6,715, $p<0,05$). Buna göre, anlamlı ilişkinin 60 yaş üstü hastalardan alınan numunelerdeki p-ANCA otoantikor oranının 60 yaş altı hastalardan alınan numunelerdeki p-ANCA otoantikor oranına göre daha fazla olmasından kaynaklandığı ifade edilebilir.

c-ANCA otoantikorunun pozitiflik durumu ve yaş arasındaki ilişkinin belirlenmesi amacıyla gerçekleştirilen Ki-Kare testine ait bulgular Tablo 8'de gösterilmiştir.

Tablo 8. c-ANCA Antikor Pozitifliğinin Yaş ile İlişkisi

Yaş/c-ANCA	Pozitif	Negatif	X^2	p
60 Yaş Altı	3	74	2,961	0,085
60 Yaş Üstü	12	99		

Tablo 8'e göre, 60 yaş altı hastalardaki pozitiflik oranı %3,90, 60 yaş üstündeki hastalarda pozitiflik oranı ise %10,08'dir. Gerçekleştirilen Ki-kare testi sonucunda, hastalardaki c-ANCA pozitiflik durumu ve yaş arasında anlamlı bir ilişki bulunmamıştır (X2= 2,961, p>0,05).

Tablo 9'da ANCA pozitifliğinin COVID-19 hasta ve kontrol grubuna göre dağılımı gösterilmiştir. Elde edilen verilere göre hasta grubunda ANCA pozitifliği tespit edilirken, kontrol grubunda pozitiflik görülmemiştir.

ANCA otoantikorunun pozitiflik durumu ve iki farklı grup arasındaki ilişkinin belirlenmesi amacıyla gerçekleştirilen Ki-Kare testine ait bulgular Tablo 9'da gösterilmiştir.

Tablo 9. COVID-19 Hasta ve Kontrol Grubunda ANCA Pozitifliğinin Karşılaştırılması

Grup/ANCA	Pozitif	Negatif	X^2	p
Covid Hasta Grubu	27	173	7.567	0.006
Kontrol Grubu	0	50		

Tablo 9'a göre, COVID hasta grubundaki pozitiflik oranı %13,50, kontrol grubundaki hastalarda pozitiflik oranı ise %0'dır. Gerçekleştirilen Ki-Kare testi

sonucunda, hastalardaki ANCA pozitiflik durumu ve grup arasında anlamlı bir ilişki bulunmuştur (X^2= 7,567, p<0,05).

6. TARTIŞMA

COVID-19 hastalarında diğer hastalıklara göre daha az oranda da olsa otoantikorlara rastlanmıştır. Bu otoantikorların hastalığın şiddetini arttırdığı ve iyileşme sürecini uzattığı gösterilmiştir. Diğer taraftan hastalık döneminde oluşan otoantikorun, hastalık sonrasında da vücutta uzun süre kalabildiği tespit edilmiştir (Science Daily. COVID-19 can trigger self-attacking antibodies. https://www.sciencedaily.com/releases/2021/12211230130944.htm, Erişim tarihi : 16.12.2022). Literatür taraması sonucunda, COVID-19'lu hastalarda ANCA antikorunun araştırılması ile ilgili daha çok vaka raporlarının mevcut olduğu, ancak çalışmamıza benzer çalışmaların az sayıda olduğu dikkat çekmiştir. Araştırmamızın sonuçlarına göre; 200 COVID-19 hasta grubunda p-ANCA pozitiflik oranı %6, c-ANCA oranı ise %7,5 olarak bulunmuştur. Vlachoyiannopoulos ve ark.'nın yaptıkları benzer bir araştırmada p-ANCA ve c-ANCA pozitiflik oranını her biri için %6,9 olarak bulmuşlardır(84). Pozitiflik oranlarımız bu çalışma ile karşılaştırıldığında sonuçların benzerlik gösterdiği dikkat çekmektedir.

Çalışmamızda ANCA pozitif hastaların özellikle COVID yoğun bakım ünitesinde tedavi gören 60 yaş üstü hastalar olduğu göze çarpmaktadır. Özellikle yoğun bakım hastalarında otoantikor pozitifliğinin görülmesi, bu antikorların hastalığın siddetini arttırabileceğini göstermektedir. Son yıllarda gerçekleştirilen çalışmalar da bu bulguyu destekler nitelikte olmuştur. Caso ve Ehrenfeld isimli araştırıcılar, kendi çalışma gruplarıyla yaptıkları araştırmalarda SARS-CoV-2'nin hızlı bir otoimmün düzensizliğin gelişiminde tetikleyici bir faktör olarak hareket edebileceğini ve böylece genetik yatkınlığı olan bireylerde özellikle yoğun bakım hastalarında şiddetli interstisyel pnömoniye yol açabileceğini bildirmişlerdir(85,86). Zhou ve arkadaşlarının, durumu kritik 21 COVID-19'lu hasta üzerinde yaptıkları çalışmada çeşitli otoantikor pozitifliğinin %20-50 arasında bir prevalans gösterdiğini bildirerek bu tür kritik hastalarda immünosüpresyon tedavisinin önerilebileceğini savunmuşlardır(87). Angileri ve ark.'nın 2020 yılındaki bir çalışmasında, SARS-CoV-2'nin özellikle spike glikoproteini ile insan proteinleri arasında çoklu peptit dizisi benzerliği bulunduğundan, COVID-19'da gözlenen otoimmün tepkinin sebebinin yüksek olasılıkla moleküler taklit olabileceği öne sürülmüştür(93).

COVID-19 hastalarında gelişebilen ANCA'ya bağlı vaskülitler, bu otoantikorların üst ve alt solunum sistemi, böbrekler, ve cilt dahil olmak üzere vücuttaki küçük arterlere zarar verdiği enflamatuar bir hastalıktır. Ta ve ark. 2022 yılında, COVID-19 enfeksiyonundan iyileşirken, öncelikle mukokutanöz hemorajik büller, yüksek ANCA seviyeleri ile şüphelenilen ve ardından böbrek biyopsisi ile doğrulanan ANCA pozitifliği sebebiyle vaskülit gelişen bir hastayı vaka raporu olarak bildirmişlerdir(88). Bu çalışma, araştırmamızda tespit edilen ANCA pozitifliğinin neden yoğun bakım hastalarında yoğunlaştığını açıklamaktadır. Bu ünitedeki hastalarda ANCA'ya bağlı gelişen vaskülit çoklu organ yetmezliğine sebep olabilmektedir.

İzci ve ark.'nın 2021 yılında yaptığı çalışmada COVID-19 tanısı almış iki farklı ANCA'ya bağlı vaskülit olgusu bildirmişlerdir(94). Birinci vaka, COVID-19 sonrası akut böbrek hasarı ile başvuran serum kreatinini artmış 26 yaşında erkek hastadır. Bu vakada MPO pozitif p-ANCA tespit edilmiştir. Böbrek biyopsisinde nekrotizan glomerulonefrit görülmüştür. İmmünosüpresyon uygulanıp hemodiyaliz ile taburcu edilmiştir. İkinci olgu ateş, öksürük ve nefes darlığı nedeniyle hastaneye kaldırılan 36 yaşında bir kadındır. COVID-19 teşhisi konulduktan sonra, bilateral akciğer parankiminde kaviter lezyonlar ve akut böbrek hasarı gelişmiştir. Bu vakada PR3 pozitif c-ANCA tespit edilmiş ve böbrek biyopsisinde nekrotizan glomerulonefrit gözlenmiştir(94). Bu çalışma bize, COVID-19 sonrası ANCA ilişkili vaskülitin sadece yoğun bakımda ve yaşlı vakalarda değil, genç kadın ve erkeklerde de görülebileceğini göstermektedir.

Bizim çalışmamızın sonucuna benzer başka bir çalışmada, Uppal ve ark. 2020 yılında COVID-19 tanısı konan, şiddetli solunum yetmezliği ile başvuran, solunumu ve böbrek fonksiyonu giderek kötüleşen, MPO pozitif p-ANCA'sı yüksek pozitif bulunan 64 yaşındaki erkek vakayı birinci olgu olarak bildirmişlerdir. İkinci olgu ise diabetes mellituslu 46 yaşında, ateş , öksürük ve yaygın döküntü ile başvuran, COVID-19 tanısı konan erkek hastadır. Böbrek fonksiyonları giderek kötüleşen hastada PR3 pozitif c-ANCA tespit edilmiştir(19). Hussein ve ark.'nın 2020 yılında gerçekleştirdiği benzer bir çalışmada ise 37 yaşında, bilinen herhangi bir tıbbi hastalığı olmayan acil servise göğüs ağrısı, öksürük, nefes darlığı, hemoptizi ve

yaygın eklem ağrısı şikayetleri ile başvuran, COVID-19 ve c-ANCA PR3 pozitifolan, pulmoner kanama ile kaybedilen Suudi bir kadın hasta vaka sunumu olarak bildirilmiştir. Bu raporda da, genç bir vakada COVID-19 ve ANCA birlikteliği görülmektedir(20).

Mayıs 2020'de Maritati ve ark.'nın gerçekleştirdikleri bir çalışmada, SARS-CoV-2 enfeksiyonundan hemen sonra hızla ilerleyen glomerülonefrit ve akciğer tutulumu ile ANCA pozitifliğine bağlı bir vaskülit ve antifosfolipid sendromu gelişen 64 yaşındaki bir kadın hastayı bildirmişlerdir. Nefes darlığı ve öksürük nedeniyle acil servise başvuran hasta antibiyotik ve steroid tedavilerine direnç göstermiş, göğüs bilgisayarlı tomografisinde akciğer parankiminin yaklaşık %25'ini tutan buzlu cam opasiteleri ile bilateral interstisyel pnömoni görülmüştür. Hastada c-ANCA PR3 pozitif bulunmuştur(95).

Literatürdeki 2021 yılında yapılmış başka bir araştırmada da COVID-19 enfeksiyonunun nadir bir komplikasyonu olarak şiddetli pulmoner-renal sendrom ile ortaya çıkan, COVID-19 enfeksiyonu ile ANCA'ya bağlı vaskülit arasında olası bir ilişki vakası sunulmuştur. Bu çalışma Madanchi ve ark. tarafından gerçekleştirilmiştir. Hasta septik şok ve akut solunum sıkıntısı sendromu ile komplike olan ciddi bir COVID-19 pnömonisi nedeniyle başvurmuş, tedavi edilerek taburcu olmuş ancak dört ay sonra ciddi bir akut pulmoner-renal sendrom gelişmiş 53 yaşında bir erkek hastadır. Vakada böbrek yetmezliği ve şiddetli akut ve mekanik ventilasyon gerektiren yaygın alveolar kanama oluşmuştur. Bu olguda p-ANCA MPO pozitifliği tespit edilmiştir(96).

Allena ve ark.'nın Mayıs 2021'de yaptıkları çalışmada, ani başlayan nefes darlığı ve hemoptizi şikayetleri ile başvuran, yakın zamanda ciddi bir SARS-CoV-2 enfeksiyonu geçirmiş olan 60 yaşında bir kadın olguyu bildirmişlerdir. Bu vakada MPO pozitif p-ANCA tespit edilmiştir. Renal biyopsi nekrotizan glomerülonefriti desteklemiştir. Bu hastaya immünsüpresif tedavi başlanmış ve klinik düzelme göstermiştir(97).

Cobilinschi ve ark. 2021 yılında, 67 yaşında, ateş, nefes darlığı ve hafif öksürük şikayetleri ile COVID-19 geçiren, her iki bacağında ağrılı nekrotik ülser

benzeri lezyonlar, perilezyonel ödem ve eritem ile başvuran bir kadın hastayı olgu sunumu olarak bildirmişlerdir. Bu vakada yüksek titreli p-ANCA pozitifliği bulunmuştur. Deri biyopsisinde küçük damarlarda belirgin nötrofilik infiltrat ve vasküliti düşündüren nekroz alanları görülmüştür. Hastaya COVID-19 tarafından tetiklenen ANCA üretimi sebebiyle gelişen vaskülit tanısı konmuş ve kortikosteroidlerle tedavi edilmiştir(98).

Wali ve ark. 2021 yılında, bilinen bir tıbbi geçmişi olmayan 26 yaşındaki bir kadın hastada COVID-19 enfeksiyonunun bir sonucu olduğuna inanılan diffüz alveoler kanama olgusu sunmuşlardır. Hastanın p-ANCA ve anti-glomerüler bazal membran antikorları pozitif bulunmuştur. COVID-19'un uzun vadeli komplikasyonları ve diffüz alveolar kanama arasındaki ilişki tam olarak bilinmemekle birlikte, COVID-19 enfeksiyonunun inflamatuar sürecinin, diffüz alveolar kanamaya yol açan vaskülitte rol oynayabileceği ileri sürülmüştür(99).

Tüm bu araştırmalar, COVID-19 enfeksiyonu ile ANCA otoantikoru üretimi sonucu gelişebilecek sekonder vaskülit ve organ hasarı arasında bir ilişki olabileceğini göstermektedir.

7. SONUÇLAR

Araştırmamızın sonucunda COVID-19 hastalarında p-ANCA ve c-ANCA görülme oranları literatür çalışmaları ile uyumlu bulunmuştur. Pozitiflik oranlarının özellikle 60 yaş üstü ve yoğun bakım hastalarında yoğunlaşması, COVID-19'un tetiklediği otoantikorların hastanın kliniğini nasıl hızla kötüleştirebildiğinin göstergesi olmuştur. Ancak literatürde son yıllarda daha genç yaştaki COVID-19 geçiren hastalarda da ANCA'ya bağlı vaskülit olguları bildirilmiştir. Konuyla ilgili bu vaka sunumları COVID-19'un hastalarda sekonder vaskülite neden olma potansiyeline sahip olduğunu göstermiştir. COVID-19 kaynaklı sekonder vaskülitin patogenezi hala belirsizdir. Ancak bazı araştırmacılar SARS-CoV-2 antijeni ile otoantikorlar arasında bir çapraz reaktivite olduğunu varsaymışlardır. SARS-CoV-2 ile otoimmünite arasındaki ilişkiyi anlamak, vaskülit tanısında ve hastalığın tedavisinde önem taşımaktadır.

Gerçekleştirilmiş olan olgu sunumları ışığında, COVID-19'un ANCA ile ilişkili vaskülit dahil olmak üzere otoimmün hastalıkları tetikleyebileceği sonucuna varılmıştır. Bu nedenle COVID-19 hastalarında, özellikle akut böbrek hasarı ve pulmoner kanama geliştiğinde bu tanı dikkate alınmalıdır. Ayrıca bu iki hastalık arasındaki ilişki göz önünde bulundurularak yeni ANCA'ya bağlı vaskülit tanısı alan tüm hastalarda immünsüpressif tedaviye başlamadan önce SARS-CoV-2 enfeksiyonu ekarte edilmelidir.

Bu çalışma, COVID-19 enfeksiyonunu geçiren hastalarda, bu enfeksiyonun ANCA pozitifliği ile bağlantılı vaskülit formlarıyla ilişkisinin anlaşılmasına yardımcı olabilecektir. COVID-19 hastalarında ANCA pozitifliği araştırılarak, bu hastalara vaskülit riski açısından tedavinin daha erken safhada başlanması sağlanabilecektir. Belli risk grubunda olan hastalar varsa bu hastalar daha sık aralıklarla takip edilebilir. COVID-19 tanısı konan ve PCR testi pozitif olan hasta popülasyonunda ANCA pozitifliği ihtimali sebebiyle , bu hastalarda enfeksiyonun seyrine göre gelecekte vaskülit gelişme riski önceden öngörülerek, tedavide planlama protokolleri geliştirilebilir. Ayrıca bu tip hastalarda sonraki süreçte vaskülit gelişme riski nedeniyle, toplumda bu konuyla ilgili bilinç oluşturulabilecektir.

Literatürde bu konuyla ilgili yapılan çalışma sayısı azdır. Çalışmamızın verileri daha geniş kapsamlı araştırmalar için zemin oluşturacaktır. SARS-CoV-2'nin otoantikor oluşumuna sebep olup olmadığı konusunda ileriye yönelik daha fazla bilimsel araştırmanın yapılmasının gerekli olduğu kanaatindeyiz.

8. KAYNAKLAR

1. Zhu N, Zhang D, Wang W, Li X, et al. A novel Coronavirus from Patients with pneumonia in China, 2019. N Engl J Med. 2020; 382:727-733.

2. Zhou P, Yang XL, Wang XG, Hu B, Zhang L, Zhang W, et al. A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. Nature. 2020;579:270-273.

3. Su S, Wong G, Shi W, Liu J, Lai ACK, Zhou J et al. Epidemiology, genetic recombination, and pathogenesis of coronaviruses. Trends in Microbiology. 2016;24(6):490-502.

4. Zhang YZ, Holmes EC. A genomic perspective on the origin and emergence of SARS-CoV-2. Cell. 2020;181(2):223-227.

5. Zhu N, Zhang D, Wang W, et al. China Novel Coronavirus Investigating and Research Team. A Novel Coronavirus from Patients with Pneumonia in China, 2019. N Engl J Med. 2020;382(8):727-733.

6. Zheng S, Fan J, Yu F, et al. Viral load dynamics and disease severity in patients infected with SARS-CoV-2 in Zhejiang province, China, January-March 2020: retrospective cohort study. BMJ. 2020;369:m1443.

7. Navas Martín SR, Weiss S. Coronavirus replication and pathogenesis: Implications for the recent outbreak of severe acute respiratory syndrome (SARS), and the challenge for vaccine development. J Neurovirol. 2004;10:75-85.

8. Huang C, Wang Y, Li X, Ren L, Zhao J, Hu Y, Zhang L, Fan G, Xu J, Gu X, et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. Lancet. 2020;395:497 506.

9. Chen G, Wu D, Guo W, et al. Clinical and immunological features of severe and moderate coronavirus disease 2019. J Clin Invest. 2020;130:2620-2629.

10. Li G, Chen X, Xu A. Profile of specific antibodies to the SARS-associated coronavirus. N Engl J Med. 2003;349(5):508-509.

11. Azkur AK, Akdis M, Azkur D, et al. Immune response to SARS-CoV-2 and mechanisms of immunopathological changes in COVID-19. Allergy. 2020;10.1111/ all.14364.

12. Haugbro K, Nossent JC, Winkler T, et al. Anti-dsDNA antibodies and disease classification in antinuclear antibody positive patients: the role of analytical diversity. Ann Rheum Dis. 2004;63:386-394.

13. Roggenbuck D, Egerer K, von Landenberg P, et al. Antiphospholipid antibody profiling-Time for a new technical approach?. Autoımmun Rev. 2012;11:821-826.

14. Bastard P, Rosen LB, Zhang Q, et al. Autoantibodies against type I IFNs in patients with life-threatening COVID-19. Science. 2020; 370:eabd4585.

15. Gao ZW, Zhang HZ, Liu C, et al. Autoantibodies in COVID-19: frequency and function. Autoımmun Rev. 2021;20(3):102754.

16. Sacchi MC, Tamiazzo S, Stobbione P, et al. SARS-CoV-2 infection s a tirgger of autoımmune response. Clinical Translational Science. 2021;14:898-907.

17. Woodruff MC, Ramonell RP, Lee FE-H, et al. Clinically identifiable autoreactivity is common in severe SARS-CoV-2 infection. MedRxiv. 2020;10.

18. Liu Y, Ebinger JE, Mostafa R, et al. Pradoxical sex-specific patterns of autoantibody response to SARS-CoV-2 infection. Journal of Translational Medicine. 2021;19:1-13.

19. Uppal NN. et al. De Novo ANCA- Associated Vasculitis with Glomerulonephritis in COVİD-19. Kidney İnternational Reports. 2020.

20. Hussein A, Al Khalil K, Bawazir YM. Anti-Neutrophilic Cytoplasmic Antibody (ANCA) Vasculitis Presented as Pulmonary Hemorrhage in a Positive COVID-19 Patient: A Case Report. 2020; Cureus 12(8); e9643.

21. Zhou Y, Yang Y, Huang J, Jiang S, Du L. Advances in MERS-CoV Vaccines and Therapeutics Based on the Receptor-Binding Domain. Viruses. 2019 Jan 14;11(1).

22. Tan W, Zhao W, Ma X, et al. A Novel Coronavirus Genome Identified in a Cluster of Pneumonia Cases — Wuhan, China 2019−2020, Notes from the Field, China CDC Weekly.

23. Kadam SB, Sukhramani GS, Bishnoi P, Pable AA, Barvkar VT. SARS-CoV-2, the pandemic coronavirus: Molecular and structural insights. J Basic Microbiol. 2021; 61:180-202.

24. Gorkhali R, Koirala P, Rijal S, Mainali A, Baral A, Kumar Bhattarai H. Structure and function of major SARS-CoV-2 and SARS-CoV proteins. Bioinformatics and Biology Insights. 2021; 15:1-32.

25. Hoffmann M, Kleine-Weber H, Schroeder S, Kruger N, Herrler T, Erichsen S, et al. SARSCoV-2 cell entry depends on ACE2 and TMPRSS2 and is blocked by a clinically proven protease inhibitor. Cell. 2020; 181(2): 271–280.

26. Zhu C, He G, Yin Q, Zeng L, Ye X, Shi Y, Xu W. Molecular biology of the SARS-CoV-2 spike protein: A review of current knowledge. J Med Virol. 2021; 93:5729-5741.

27. Romano M, Ruggiero A, Squeglia F, Maga G, Berisio R. A structural view of SARSCoV-2 replication machinery: RNA synthesis, proofreading and final capping. Cells 2020; 9:1267.

28. Das A, Ahmed R, Akhtar S, Begum K, Banu S. An overview of basic molecular biology of SARS-CoV-2 and current COVID-19 prevention strategies. Gene Reports. 2021; 23:101122.

29. Andersen KG, Rambaut A, Lipkin WI, Holmes EC, Garry RF. The proximal origin of SARSCoV-2. Nature Medicine. 2020;26:450–452.

30. Liu C, Zhou Q, Li Y, Garner LV, Watkins SP, Carter LJ. Research and development on therapeutic agents and vaccines for COVID-19 and related human coronavirus diseases. ACS Cent Sci. 2020; 6:315-331.

31. Gao Y, Yan L, Huang Y, Liu F, Zhao Y, Cao L, et al. Structure of the RNA-dependent RNA polymerase from COVID-19 virus. Science 2020; 368:779-782.

32. von der Thüsen J, van der Eerden M. Histopathology and genetic susceptibility in COVID 19 pneumonia. Eur J Clin Invest. 202;50:e13259.

33. Hanley B, Lucas SB, Youd E, Swift B, Osborn M. Autopsy in suspected COVID 19 cases. J Clin Pathol. 2020;73: 239-242.

34. To KK, Tsang OT, Leung WS, Tam AR, Wu TC, Lung DC, Yip CC, Cai JP, Chan JM, Chik TS, et al. Temporal profiles of viral load in posterior oropharyngeal saliva samples and serum antibody responses during infection by SARS CoV 2: An observational cohort study. Lancet Infect Dis. 202;20:565-574.

35. de Wit E, van Doremalen N, Falzarano D, Munster VJ. SARS and MERS: recent insights into emerging coronaviruses. Nat Rev Microbiol. 2016;14(8):523-534.

36. Li W, Moore MJ, Vasilieva N, et al. Angiotensinconverting enzyme 2 is a functional receptor for the SARS coronavirus. Nature. 2003;426(6965):450-454.

37. Simmons G, Bertram S, Glowacka I, et al. Different host cell proteases activate the SARS-coronavirus spikeprotein for cell-cell and virus-cell fusion. Virology. 2011;413(2):265-274.

38. Sawicki SG, Sawicki DL. Coronavirus transcription: a perspective. Curr Top Microbiol Immunol. 2005;287:31-55.

39. Hussain S, Pan J, Chen Y, et al. Identification of novel subgenomic RNAs and noncanonical transcription initiation signals of severe acute respiratory syndrome coronavirus. J Virol. 2005;79(9):5288-5295.

40. de Wilde AH, Snijder EJ, Kikkert M, van Hemert MJ. Host Factors in Coronavirus Replication. Curr Top Microbiol Immunol. 2018;419:1-42.

41. Groeneveld AB. Vascular pharmacology of acute lung injury and acute respiratory distress syndrome. Vascul Pharmacol. 2002;39(4-5):247-256.

42. Rokni M, Ghasemi V, Tavakoli Z. Immune responses and pathogenesis of SARS-CoV-2 during an outbreak in Iran: Comparison with SARS and MERS. Rev Med Virol. 2020;30(3):e2107.

43. Prompetchara E, Ketloy C, Palaga T. Immune responses in COVID-19 and potential vaccines: Lessons learned from SARS and MERS epidemic. Asian Pac J Allergy Immunol. 2020;38(1):1-9.

44. Barnes BJ, Adrover JM, Baxter-Stoltzfus A, et al. Targeting potential drivers of COVID-19: Neutrophil extracellular traps. J Exp Med. 2020;217(6):e20200652.

45. Li X, Geng M, Peng Y, Meng L, Lu S. Molecular immune pathogenesis and diagnosis of COVID-19. J Pharm Anal. 2020;10(2):102-108.

46. Yazdanpanah F, Hamblin MR, Rezaei N. The immune system and COVID-19: Friend or foe?. Life Sci. 2020;256:117900.

47. Li G, Chen X, Xu A. Profile of specific antibodies to the SARS-associated coronavirus. N Engl J Med. 2003;349(5):508-509.

48. Long QX, Liu BZ, Deng HJ, et al. Antibody responses to SARS-CoV-2 in patients with COVID-19. Nat Med. 2020;26(6):845-848.

49. Wang Z, Yang X, Zhong J, et al. Exposure to SARS-CoV-2 generates T-cell memory in the absence of a detectable viral infection. Nat Commun. 2021;12(1):1724.

50. Dan JM, Mateus J, Kato Y, et al. Immunological memory to SARS-CoV-2 assessed for up to 8 months after infection. Science. 2021;371(6529):eabf4063.

51. Xu Z, Shi L, Wang Y, et al. Pathological findings of COVID-19 associated with acute respiratory distress syndrome [published correction appears in Lancet Respir Med. 2020 Feb 25]. Lancet Respir Med. 2020;8(4):420-422.

52. Giamarellos-Bourboulis EJ, Netea MG, Rovina N, et al. Complex Immune Dysregulation in COVID-19 Patients with Severe Respiratory Failure. Cell Host Microbe. 2020;27(6):992-1000.

53. Wan S, Yi Q, Fan S, et al. Relationships among lymphocyte subsets, cytokines, and the pulmonary inflammation index in coronavirus (COVID-19) infected patients. Br J Haematol. 2020;189(3):428-437.

54. Tufan A, Avanoğlu Güler A, Matucci-Cerinic M. COVID-19, immune system response, hyperinflammation and repurposing antirheumatic drugs. Turk J Med Sci. 2020;50(SI-1):620-632. Published 2020 Apr 21.

55. Wu D, Yang XO. TH17 responses in cytokine storm of COVID-19: An emerging target of JAK2 inhibitor Fedratinib. J Microbiol Immunol Infect. 2020;53(3):368-370.

56. Lin L, Lu L, Cao W, Li T. Hypothesis for potential pathogenesis of SARS-CoV-2 infection-a review of immune changes in patients with viral pneumonia. Emerg Microbes Infect. 2020;9(1):727-732.

57. Li X, Xu S, Yu M, et al. Risk factors for severity and mortality in adult COVID-19 inpatients in Wuhan. J Allergy Clin Immunol. 2020;S0091-6749(20)30495-4.

58. Abbas AK, Lichtman AH, Pillai S. Basic Immunology: Functions and Disorders of the Immun System (6th Edition). India. Elsevier. 2019.

59. Pugliese A. Central and peripheral autoantigen presentation in immune tolerance. Immunology. 2004;111:138-146.

60. Nemazee D. Mechanisms of central tolerance for B cells. Nature Reviews Immunology. 2017;17:281-294.

61. Saouaf SJ, Brennan PJ, Shen Y, et al. Mechanisms of peripheral immune tolerance. Immunologic Research. 2003;28:193-199.

62. Elkon K, Casali P. Nature and functions of autoantibodies. Nat Clin Pract Rheumatol. 2008;4:491-498.

63. Haugbro K, Nossent JC, Winkler T, et al. Anti-dsDNA antibodies and disease classification in antinuclear antibody positive patients: the role of analytical diversity. Ann Rheum Dis. 2004;63:386-394.

64. Roggenbuck D, Egerer K, von Landenberg P, et al. Antiphospholipid antibody profiling-Time for a new technical approach?. Autoımmun Rev. 2012;11:821-826.

65. Chauvineau-Grenier A, Bastard P, Servajean A, et al. Autoantibodies Neutralizing Type I Interferons in 20% of COVID-19 Deaths in a French Hospital. Journal of Clinical Immunology. 2022;42:459-470.

66. Dişli F. Otoantikorlar: COVID-19'un İhmal Edilen Yönü. COVID-19 ve Sağlık Araştırmaları-6. Editör: Umut Gülaçtı. Efe Akademi Yayınları, Fatih/İstanbul. Haziran 2022;(1):59-68.

67. Gao ZW, Zhang HZ, Liu C, et al. Autoantibodies in COVID-19: frequency and function. Autoımmun Rev. 2021;20(3):102754.

68. Salle V. Coronavirus-induced autoimmunity. Clinical Immunology. 2021;226:108694.

69. Suurmond J, Diamond B. Autoantibodies in systemic autoımmune diseases: specificity and pathogenicity. The Journal of Clinical İnvestigation. 2015;125:2194-2202.

70. Tsujihata Y, So T, Hashimoto Y,et al. A single amino acid substitution in a self protein is sufficient to trigger autoantibody response. Molecular Immunology. 2001;38:375-381.

71. Martin-Villa JM, Regueiro JR, De Juan D, et al. T-lymphocyte dysfunctions occuring together with apical gut epithelian cell autoantibodies. Gastroenterology. 1991;101:390-397.

72. Sene D, Piette JC, Cacoub P. Antiphospholipid antibodies, antiphospholipid syndrome and infections. Autoimmun Rev. 2008;7:272-277.

73. Phillips WD, Vincent A. Pathogenesis of myasthenia gravis: update on disease types, models and mechanisms. F1000Research. 2016;5.

74. Smith TJ, Hegedüs L. Graves' Disease. New England Journal of Medicine. 2016;375:1552-1565.

75. Ciotti M, Ciccozzi M, Terrinoni A, Jiang WC, Wang CB, Bernardini S. The COVID-19 pandemic. Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences. 2020;57:365-388.

76. Chen J, Gao K, Wang R, et al. Review of COVID-19 antibody therapies. Annual Review of Biophysics. 2021;50:1-30.

77. Sacchi MC, Tamiazzo S, Stobbione P, et al. SARS-CoV-2 infections a trigger of autoımmune response. Clinical Translational Science. 2021;14:898-907.

78. Woodruff MC, Ramonell RP, Lee FE-H, et al. Clinically identifiable autoreactivity is common in severe SARS-CoV-2 infection. MedRxiv. 2020;10.

79. Seeßle J, Waterboer T, Hippchen T, et al. Persistent symptomps in Adult Patients 1 year After Coronavirus disease 2019 (COVID-19): A Prospective Cohort Study. Clin Infect Dis. 2022;74:1191-1198.

80. Hampton T. Autoantibodies may drive COVID-19 blood clots. JAMA. 2021;325:425.

81. Zuo Y, Estes SK, Ali RA, et al. Prothrombotic antiphospholipid antibodies in COVID-19. Sci Transl Med. 2020; 12(570):eabd3876.

82. Acosta PL, Byrne AB, Hijano DR, Talarico LB. Human Type I Interferon Antiviral Effects in Respiratory and Reemerging Viral Infections. J Immunol Res. 2020;2020:1372494.

83. van der Wijst MG, Vazquez SE, Hartoularos GC, et al. Type I interferon autoantibodies are associated with systemic ımmune alterations in patients with COVID-19. Sci Transl Med.2021;13:eabh2624

84. Vlachoyiannopoulos PG, Magira E, Alexopoulos H, Jahaj E, Theophilopoulou K, Kotanidou A, Tzioufas A. Autoantibodies related to systemic autoimmune rheumatic diseases in severely ill patients with COVID-19. Ann Rheum Dis. 2020;79(12):1661-1663.

85. Caso F, Costa L, Ruscitti P, Navarini L, Del Puente A, Giacomelli R, Scarpa R. Could Sars-coronavirus-2 trigger autoimmune and/or autoinflammatory mechanisms in genetically predisposed subjects?. Autoımmun Rev. 2020;19(5):102524.

86. Ehrenfeld M, Tincani A, Andreoli L, Cattalini M, Greenbaum A, Kanduc D, Reig JA, Zinserling V. Covid-19 and autoimmunity. Autoimmun Rev. 2020;19(8):102597.

87. Zhou Y, Han T, Chen J, et al. Clinical and autoimmune characteristics of severe and critical cases of COVID-19. Clin Transl Sci. 2020;13(6):1077-1086.

88. Ta H, Awada H, Kang P, Gilbert N, Haller N, Mostow E, Lane J, Singh I. Antineutrophil Cytoplasmic Autoantibody (ANCA)- Associated Vasculitis With Mucosal İnvolvement Fallowing COVID-19 Pneumonia. Cureus. 2022;14(11):e31441.

89. Moody R, Wilson K, Flanagan KL, Jaworowski A, Plebanski M. Adaptive immunity and the risk of autoreactivity in COVID-19. Int J Mol Sci. 2021;22:1–5.

90. Moeinzadeh F, Dezfouli M, Naimi A, Shahidi S, Moradi H. Newly Diagnosed Glomerulonephritis During COVID-19 Infection Undergoing Immunosuppression Therapy, a Case Report. Iran J Kidney Dis. 2020;14(3):239-242.

91. Hoffman GS, Specks U. Antineutrophil cytoplasmic antibodies. Arthritis Rheum. 1998;41:1521-1537.

92. Damoiseaux J, Steller U, BuschtezM, Vaessen M, Rosemann A, Paassen P, Stöcker W, FechnerK, Tervaert JWC. EUROPLUS ANCA BIOCHIP mosaic: PR3 and MPO antigen microdots improve the laboratory diaagnostics of ANCA-associated vasculitis. J Immun Met. 2009:348(1-2):67-73.

93. Angileri F., Legare S., Marino Gammazza A., et al. Moleküler taklit, COVID-19'daki çoklu organ hasarını açıklayabilir. Otoimmün Rev. 2020;19(8):102591.

94.Izci Duran T, Turkmen E, Dilek M, Sayarlioglu H, Arik N. ANCA-associated vasculitis after COVID-19. Rheumatol Int. 2021;41:1523–1529.

95. Maritati F, Moretti MI, Nastasi V, Mazzucchelli R, Morroni M, Bagnarelli P, Rupoli S, Tavio M, Galiotta P, Bisello W, Ranghino A.ANCA-Associated Glomerulonephritis and Anti-Phospholipid Syndrome in a Patient with SARS-CoV-2 Infection: Just a Coincidence?. Case Rep Nephrol Dial 2021;11:214–220.

96. Madanchi N, Stingo FE, Patrick KC, Muthusamy S, Gupta N, Imran Fatani Y, Shah N. Possible association between COVID-19 infection and de novo antineutrophil cytoplasmic antibody-associated vasculitis. Cureus. 2021;13:e20331.

97. Allena N, Patel J, Nader G, Patel M, Medvedovsky B. A rare case of SARS-CoV-2-induced microscopic polyangiitis. Cureus. 2021;13:e15259.

98. Cobilinschi C, Cobilinschi C, Constantinescu A, Draniceanu I, Ionescu R: New-onset ANCA-associated vasculitis in a patient with SARS-COV2. Balkan Med J. 2021;38:318-20.

99. Wali HA, Tabb D, Baloch SA. Diffuse alveolar hemorrhage associated with severe acute respiratory syndrome coronavirus 2. Cureus. 2021;13:e20171.

9. ÖZGEÇMİŞ

Adı	Zeynep	**Soyadı**	AYAYDIN
Doğum Yeri		**Doğum Tarihi**	
Uyruğu		**Tel**	
E-posta			

EĞİTİM DÜZEYİ

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	**Mezuniyet Yılı**

İŞ DENEYİMİ

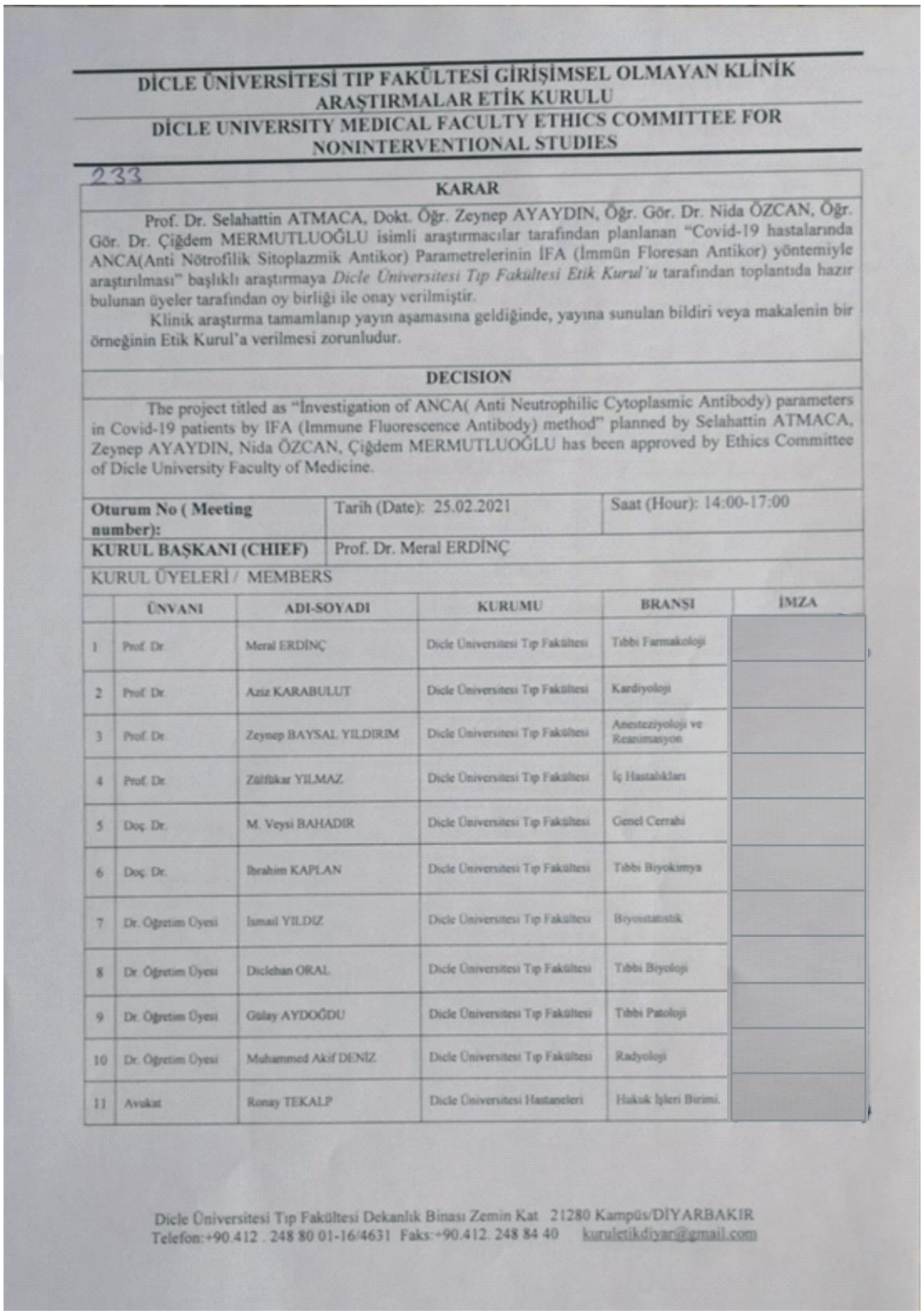
Görevi	**Kurum**	**Süre (Yıl - Yıl)**

Yabancı Dil Sınav Notu								

ALES Puanı			

10. EKLER

10.1. Etik Kurul Raporu



DİCLE ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ GİRİŞİMSEL OLMAYAN KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU

DİCLE UNIVERSITY MEDICAL FACULTY ETHICS COMMITTEE FOR NONINTERVENTIONAL STUDIES

233

KARAR

Prof. Dr. Selahattin ATMACA, Dokt. Öğr. Zeynep AYAYDIN, Öğr. Gör. Dr. Nida ÖZCAN, Öğr. Gör. Dr. Çiğdem MERMUTLUOĞLU isimli araştırmacılar tarafından planlanan "Covid-19 hastalarında ANCA(Anti Nötrofilik Sitoplazmik Antikor) Parametrelerinin İFA (İmmün Floresan Antikor) yöntemiyle araştırılması" başlıklı araştırmaya *Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurul'u* tarafından toplantıda hazır bulunan üyeler tarafından oy birliği ile onay verilmiştir.

Klinik araştırma tamamlanıp yayın aşamasına geldiğinde, yayına sunulan bildiri veya makalenin bir örneğinin Etik Kurul'a verilmesi zorunludur.

DECISION

The project titled as "İnvestigation of ANCA(Anti Neutrophilic Cytoplasmic Antibody) parameters in Covid-19 patients by IFA (Immune Fluorescence Antibody) method" planned by Selahattin ATMACA, Zeynep AYAYDIN, Nida ÖZCAN, Çiğdem MERMUTLUOĞLU has been approved by Ethics Committee of Dicle University Faculty of Medicine.

Oturum No (Meeting number):	Tarih (Date): 25.02.2021	Saat (Hour): 14:00-17:00
KURUL BAŞKANI (CHIEF)	Prof. Dr. Meral ERDİNÇ	

KURUL ÜYELERİ / MEMBERS

	ÜNVANI	ADI-SOYADI	KURUMU	BRANŞI	İMZA
1	Prof. Dr.	Meral ERDİNÇ	Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi	Tıbbi Farmakoloji	
2	Prof. Dr.	Aziz KARABULUT	Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi	Kardiyoloji	
3	Prof. Dr.	Zeynep BAYSAL YILDIRIM	Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi	Anesteziyoloji ve Reanimasyon	
4	Prof. Dr.	Zülfikar YILMAZ	Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi	İç Hastalıkları	
5	Doç. Dr.	M. Veysi BAHADIR	Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi	Genel Cerrahi	
6	Doç. Dr.	İbrahim KAPLAN	Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi	Tıbbi Biyokimya	
7	Dr. Öğretim Üyesi	İsmail YILDIZ	Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi	Biyoistatistik	
8	Dr. Öğretim Üyesi	Diclehan ORAL	Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi	Tıbbi Biyoloji	
9	Dr. Öğretim Üyesi	Gülay AYDOĞDU	Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi	Tıbbi Patoloji	
10	Dr. Öğretim Üyesi	Muhammed Akif DENİZ	Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi	Radyoloji	
11	Avukat	Ronay TEKALP	Dicle Üniversitesi Hastaneleri	Hukuk İşleri Birimi.	

Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlık Binası Zemin Kat 21280 Kampüs/DİYARBAKIR
Telefon:+90.412 . 248 80 01-16/4631 Faks:+90.412. 248 84 40 kuruletikdiyar@gmail.com

10.2. Makale

International Archives of Medical Research 14:1 (2022) 30-38

REVIEW

COVID-19 Associated Autoimmunity: "Are Autoantibodies Neglected?"

Received Date: 31.10.2022, Accepted Date: 23.12.2022 **DOI: 10.56484/iamr.1197191**

Zeynep AYAYDIN[1a*], Nida OZCAN[1b], Selahattin ATMACA[1c]

[1]Dicle University, Faculty of Medicine, Department of Medical Microbiology, Diyarbakir,
ORCID ID: [a]0000-0002-4701-1212, [b]0000-0001-6898-7516, [c]0000-0002-2730-5790

Özet:

Koronavirüsler soğuk algınlığı gibi hafif enfeksiyon tablolarından, daha ağır klinik tablolara neden olabilen büyük bir virüs ailesidir. 31 Aralık 2019'da Çin'in Wuhan şehrinde etiyolojisi bilinmeyen pnömoni vakaları bildirilmiştir. 7 Ocak 2020'de hastalığın adı Coronavirus Disease-2019 (COVID-19) , etkenin adı da SARS-CoV-2 olarak adlandırılmıştır. Araştırmalar, hastalığın kötüleşmesinin immünopatolojik olduğunu göstermiştir. Virüse karşı şiddetli bir immünolojik yanıtın başlaması ve sitokin seviyelerinin yükselmesi sonucu klinik progresyon hızlıca kötüleşmektedir. Şiddetlenen immünolojik yanıtın yanı sıra, bazı çalışmalarda otoantikorların hastalığa etkisi üzerinde durulmuştur. Bazı hastalarda kendi hücre ve dokularını hedef alan otoantikorlar rapor edilmiştir. Bu otoantikorların nasıl oluştuğu tam olarak bilinmese de, immün sistemin kişinin kendi hücrelerine karşı duyarlılaşması ve virüse ait epitoplardan bazılarının kendi antijenlerimizle benzerlik gösterebileceği teorileri üzerinde durulmaktadır. Otoantikorların hastalığın şiddetini arttırarak iyileşme sürecini uzattığı gösterilmiştir. COVID-19 vakalarında en sık (Anti-nükleer antikor) ANA, anti-fosfolipid antikorları ve anti-tip 1 interferon antikorları saptanmıştır. Nadiren diğer otoantikortürlerine de (Anti-nötrofil sitoplazmik antikor (ANCA), Anti-siklik sitrullin peptid antikor (Anti-CCP) vb.) rastlanmıştır. COVID-19 hastalığında otoantikorların oluşumu ile ilgili ileriye yönelik daha çok sayıda bilimsel araştırma yapılması gerekmektedir.

Anahtar kelimeler : *COVID-19, SARS-CoV-2, Otoantikorlar, Anti-Nükleer Antikorlar, Anti-Nötrofil Sitoplzmik Antikorlar*

Corresponding author: E-mail: zeynepayaydin@gmail.com

© 2011 Published by International Archives of Medical Research. All rights reserved.

11. ORİJİNALLİK RAPORU

Turnitin Originality Report

Processed on: 03-Jan-2023 22:54 +03
ID: 1988309269
Word Count: 9234
Submitted: 1

Similarity Index	Similarity by Source	
10%	Internet Sources:	10%
	Publications:	2%
	Student Papers:	1%

Covid-19 hastalarında ANCA (Anti Nötrofilik Sitoplazmik Antikor) Parametrelerinin İFA (İmmün Floresan Antikor) Yöntemiyle Araştırılması By Zeynep Ayaydin

4% match (Internet from 20-Aug-2022)
https://dergipark.org.tr/en/download/issue-full-file/56260

3% match (Internet from 11-Oct-2022)
https://www.klimik.org.tr/wp-content/uploads/2021/10/KLI%CC%87MI%CC%87K-COVID-19-Simpozyumu-Ozet-Kitabi.pdf

3% match (Internet from 25-Aug-2021)
http://docplayer.biz.tr/90538126-Klinik-ornekten-sonuc-raporuna-uygulama-rehberi.html

1% match (Internet from 11-Nov-2020)
https://www.selcukmedj.org/tr-tr/search-article-makale-arama/el/

I 1. ÖZET 1.1. Türkçe Özet Covid-19 hastalarında ANCA (Anti Nötrofilik Sitoplazmik Antikor) Parametrelerinin İFA (İmmün Floresan Antikor) Yöntemiyle Araştırılması Öğrenci: Zeynep AYAYDIN Danışman: Prof. Dr. Selahattin ATMACA Anabilim Dalı: Tıbbi Mikrobiyoloji Amaç: Coronavirus Disease-2019 (COVID-19) hastalığı, beta koronavirüs ailesine ait olduğu tespit edilen yeni bir koronavirüsün neden olduğu bir pandemidir. Literatürde COVID-19 hastalığı sırasında veya sonrasında gelişebilen Anti-Nötrofilik Sitopazmik Antikor (ANCA) pozitifliği ile ilişkili vaskülit tablosu sonucunda oluşan immun glomerulonefrit ve pulmoner kanama vakaları bildirilmiştir. Bu araştırma ile, COVID- 19 enfeksiyonunun otoimmüniteyi uyarmasıyla oluşabilecek ANCA pozitifliği sebebiyle gelişebilecek olan vaskülit riskini ortaya koymayı amaçladık. Gereç ve Yöntem: Çalışmamıza, Haziran 2021 ile Kasım 2022 tarihleri arasında Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi acil servis ya da COVID polikliniğine başvuran, sonrasında COVID servisi veya yoğun bakımda yatan, önceden bilinen herhangi bir otoimmün hastalığı olmayan, COVID-19 Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) testi pozitif olan 18-90 yaş arasındaki 200 erişkin hasta dahil edilmiştir. Kontrol grubu olarak sağlıklı kan donörlerinden 50 kişi belirlenmiştir. Bu kontrol grubu COVID-19 geçirmemiş, PCR testi negatif olan, bilinen herhangi bir otoimmün hastalığı olmayan ve aynı yaş grubundaki bireylerden oluşmuştur. Hastanemize COVID-19 ön tanısı ile başvuran PCR pozitifliği olan hastalardan, çalışma ile ilgili bilgilendirilmiş onam formu alındıktan sonra aseptik koşullarda 5-6 ml. venöz kan alınarak jelli biyokimya tüpüne aktarılmıştır. Alınan kanlar 30 dakika içinde Dicle 1 Üniversitesi Hastanesi Merkez Laboratuvarı İFA testleri birimine teslim edilmiştir. Burada santrifüj edildikten sonra serumları ayrılıp -80 derecede saklanmıştır. İFA laboratuvarında immün floresan yöntemi ve floresan mikroskobu kullanılarak bu serumlarda ANCA antikoru araştırılmıştır. Hasta