



**T.C.
AMASYA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
MOLEKÜLER TIP ANABİLİM DALI**

**Covid-19'LU HASTALARDA PANKREAS TUTULUMU İLE *VDBP*
GENİ *rs7041* VARYANTI İLİŞKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

**Vuslat ÖZTÜRK
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**AMASYA
MAYIS 2023**

**T.C.
AMASYA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
MOLEKÜLER TIP ANABİLİM DALI**

**Covid-19'LU HASTALARDA PANKREAS TUTULUMU İLE *VDBP*
GENİ *rs7041* VARYANTI İLİŞKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

**Hazırlayan
Vuslat ÖZTÜRK**

Doç. Dr. Akın TEKCAN

MAYIS 2023

ETİK BEYAN

Amasya Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kılavuzuna uygun olarak tez yazım yönergesini dikkate alarak hazırladığım bu tez çalışmada;

Tez içinde sunduğum verileri, bilgiler ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,

Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,

Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,

Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,

Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu, bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

Vuslat ÖZTÜRK

../../2023

TEŞEKKÜR

Tezimin başından sonuna kadar geçen süreçte fikirlerini ve desteğini benden esirgemeyen danışmanım Doç. Dr. Akın TEKCAN'a, çalışma arkadaşım Diyetisyen Dilara GözdenurKÖSE'ye, laboratuvar çalışmalarında geçen süreçte bilgi, birikim ve tecrübelerini benden esirgemeyen Doç. Dr. Serbülent YİĞİT ve Taha Muhammet KAYA'ya, her konuda beni destekleyen ve yanımda olan sevgili ailem; annem Hülya ÖZTÜRK'e, anneannem Aliye KURT'a, bu süreçte bana evini açan dayım Prof. Dr. Murat KURT'a, yengem Prof. Dr. Songül Keçeci KURT'a, sevgili Ahmet Nurol BALCI'yave yanımda olduğunu hissettiren tüm sevdiklerime sonsuz teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

ETİK BEYAN	iii
TEŞEKKÜR	iv
İÇİNDEKİLER.....	v
TABLolar DİZİNİ.....	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ	viii
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ.....	ix
ÖZET	xi
ABSTRACT	xii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	2
2.1. Covid-19	2
2.1.2. Koronavirüsün kökeni ve yapısı	3
2.1.3 Covid-19 'un Bulaş Yolu	5
2.1.4. Covid-19'un patogenezi.....	6
2.1.5. Covid-19'un belirti ve bulguları	6
2.1.6. Covid-19 tanı ve tedavi yöntemleri	8
2.1.7. Covid-19 için risk grupları ve aşılama	9
2.1.8. Türkiye'de ve dünyada koronavirüs	10
2.2. Pankreatit Nedir?.....	10
2.2.1. Pankreatitin tanımı ve epidemiyoloji	12
2.2.2. Pankreasla ilişkili parametreler ve teşhis	13
2.3. VDBProteini ve D Vitamini	17
2.3.1. VDBPgeni ve pankreatit ilişkisi	20
3. MATERYAL METOD	23
3.1. Çalışmanın Yapıldığı Yer ve Örneklem Seçimi.....	23
3.2. Yapılacak Testler/Laboratuvar Tetkikleri ve Müdahaleler	24
3.3. Çalışma Verilerinin Toplanması ve Verilerin Kaydedilmesi.....	24
3.4. İstatistiksel Yöntemler	24
3.5. Örneklem Büyüklüğü	24
3.6. Çalışmada Kullanılan Cihazlar ve Sarf Malzemeler	25
3.7. DNA İzolasyon Aşamaları.....	26
3.8. PCR ve Genotip İzlem Aşamaları	28

3.9. Primerlerin Hazırlanması	29
3.10. Mix dNTP Hazırlama ve PCRAşaması	29
3.11. Jel Elektroforezi	30
3.12. İstatistiksel Analiz	31
4. BULGULAR	33
5. TARTIŞMA	34
6. SONUÇ	39
KAYNAKLAR	40



TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 2.1 Akut pankreatit teşhisi tanı kriterleri.....	11
Tablo 2.2 Akut pankreatit epizodunun şiddetinin sınıflandırılmasına yardımcı olan klinik, biyokimyasal ve radyolojik belirteçler.....	14
Tablo 2.3 Japon önem değerlendirmesi.....	15
Tablo 2.4 Japon önem değerlendirmesi	15
Tablo 2.5 Hasta ve kontrol grubunun araştırmaya dahil edilme kriterleri	23
Tablo 3.1 PCR aşamasında uygulanan protokol.....	30
Tablo 4.1 Covid-19 hasta ve kontrol grubunun yaş, cinsiyet, amilaz, lipaz, ferritin ve kalsiyum değerleri.....	33
Tablo 4.2 Covid-19 hastalarının hasta ve kontrol gruplandırılmasına göre <i>VDBP</i> geni <i>rs7041</i> bölgesi genotip ve allel frekanslarının dağılımı.....	34

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1Koronavirüs şematik diyagramı	4
Şekil 2.2Koronavirüsün şematize edilmiş yapısı	4
Şekil 2.3 SARS-COV ve Covid-19 'nin nükleokapsid (N) proteini için Clustal W analiz sonuçları	5
Şekil 2.4 Covid-19 'un immünopatolojisi.	7
Şekil 2.5Pankreasın yapısı.	12
Şekil 2.6 D vitamininin farklı formları	18
Şekil 2.7 <i>VDBP</i> geni sekans hizalama.	21
Şekil 2.8 <i>VDBP</i> geni sekans hizalama.	22
Şekil 3.1 PCR işlemi sonrası agaroz jel görüntüsü.	31
Şekil 3.2 RFLP işlemi sonrası agaroz jel görüntüsü.	31

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

Bu çalışmada kullanılan bazı kısaltmalar, açıklamaları ilebirlikte aşağıda sunulmuştur.

Simgeler

Açıklama

%	Yüzde Sembolü
µl	Mikrolitre
L	Litre
χ ²	Ki-Kare testi

Kısaltma

Açıklama

Covid-19	Yeni Tip Koronavirüs Hastalığı
MERS	Orta Doğu Solunum Sendromu
2019-nCoV	2019-Yeni KoronaVirüs
SARS-CoV-2	Covid-19 'un Etken Maddesi
YBÜ	Yoğun Bakım Ünitesine
RNA	Ribonükleik Asid
ACE2	Anjiyotensin Dönüştürücü Enzim 2
ORF	Açık Okuma Çerçevesi
AAK1	AP2 İle İlişkili Protein Kinaz 1
DIC	Disemine İntravasküler Pıhtılaşma
PT	Tromboplasin Zamanı
PTT	Parsiyel Tromboplasin Zamanı
IL	İnterlökin
GM-CSF	Granülosit Makrofaj-Koloni Uyarıcı Faktör
IP10	İnterferon-İndüklenebilir Protein-10
MCP1	Monosit Kemotaktik Protein 1
ELISA	Proteinleri Algılayan Enzim Bağlantılı İmmünosorbent
Analizi	
PCR	Polimeraz Zindir Reaksiyonu
rRT-PCR	Gerçek Zamanlı Polimeraz Zindir Reaksiyonu

GA	Güven Aralığı
AP	Akut Pankreatit
BISAP	Akut Pankreatitte Hasta Başı Şiddet İndeksi
HASP	Zararsız Akut Pankreatit Skoru
JSS	Japon Şiddet Skoru
APACHE II	Akut Fizyoloji ve kronik Sağlık DeğerlendirmesiII
BT	Batın Tomografisi
BUN	Kan Üre Azotu
CECT	Kontrastlı Bilgisayarlı Tomografi
CT	Tomografi
CRP	C-Reaktif Protein
MRI	Manyetik Rezonans Görüntüleme
TAP	TripsinojenAktivasyon Peptidi
nmol	Nanomol
D2	Ergokalsiferol
VDR	Vitamin D reseptörü
D3	Kolekalsiferol
7-dehidrokolesterolden	7-DHC
UV ışığı	Spektrum 280-320 UVB
VDBP	Vitamin D Bağlayıcı Protein
kDa	Kilodalton
MAF	Makrofaj Aktivasyon Faktörü
MMP	Metalloproteinaz
GC	Globulin
SNP	Tekli Nükleotid Polimorfizmi
ASP	Aspartik Asit
Glu	Glutamik Asit
rpm	Dakikadaki Dönme Sayısı
SIRS	Sistemik İnflamatuar Yanıt Sendromu

ÖZET

COVID-19'LU HASTALARDA PANKREAS TUTULUMU İLE *VDBP* GENİ *rs7041* VARYANTI İLİŞKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

Vuslat ÖZTÜRK

Amasya Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Moleküler Tıp Anabilim Dalı, Yüksek Lisans, Mayıs/2023
Danışman: Doç. Dr. Akın TEKCAN

Amaç: Yeni tip koronavirüs hastalığı akciğerleri tutan ve tüm solunum yolu boyunca enfeksiyona neden olan bir hastalıktır. Ayrıca sadece solunum yolunu enfekte etmemekle birlikte vücuttaki diğer doku, organ ve sistemlerde de hasara neden olabilmektedir. Virüsün hedef aldığı organlardan birisi ise pankreastır. Klinikte yatan bazı koronavirüs hastalarının pankreas enzim seviyelerinin yüksek olduğu görülmüştür. Buradan yola çıkarak bu araştırmada Covid-19 tanısı konulan hastalarda pankreatit tablosu görülenlerin Vitamin D bağlayıcı protein (*VDBP*) geni *rs7041* varyantında mutasyon varlığının olup olmadığı incelenmesi amaçlanmıştır.

Metod: Covid-19 teşhisi alan pankreas enzim seviyeleri normal 113 hasta ile hem COVID-19 teşhisi almış hem de pankreas enzim seviyeleri yüksek 120 hasta çalışmaya dahil edilmiştir. *VDBP* geninde yer alan 11. tekli nükleotid varyasyonunun *rs7041* genotiplendirilmesi polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ve restriksiyon fragment uzunluk polimorfizmi (RFLP) yöntemiyle belirlenmiştir.

Bulgular: Covid-19 tanısı alan ve pankreas enzim seviyeleri yüksek olan hasta grubunda *VDBP* geni *rs7041* varyantı GG genotipi oranının pankreas enzim seviyeleri normal Covid-19 hastalarına göre daha fazla olduğu belirlenmiştir. Her iki grup arasında yapılan karşılaştırmalar neticesinde aradaki genotip oranları arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu belirlenmiştir ($p=0.004$).

Sonuç: Covid-19 'lu hastaların *VDBP* geninde yer alan *rs7041* varyantının pankreatit oluşumuna yatkınlık oluşturabileceği saptanmıştır. Çalışma sonuçlarının doğrulanması için farklı popülasyonlarda ve daha fazla hasta grubu ile yapılacak çalışmalara ihtiyaç bulunmaktadır.

Anahtar kelimeler: Covid-19, Pankreas, Vitamin D, *VDBP* geni, *rs7041* varyantı.

ABSTRACT

INVESTIGATION OF THE rs7041 VARIABLE OF *VDBP* GENE RELATION WITH PANCREATIC INVOLVEMENT IN PATIENTS WITH Covid-19

Vuslat ÖZTÜRK

Amasya University, Institute of HealthSciences
Department of MolecularMedicine, MSc, April/2023
Advisor: Assoc. Dr. Akın TEKCAN

Objective: The new type of chorus virus disease is a disease that holds lungs and causes infection along the entire respiratory tract. It may not only infect the airway, but also cause damage to other tissue, organs, and systems in the body. One of the organs the virus targets is pancreas. Some corona virus patients lying in the clinic were found to have high levels of pancreatic enzyme. This study aims to examine whetherthe presence of mutation exists in the Vitamin D-connector protein (*VDBP*) gene rs7041 variant of the pancreatitis table for patients diagnosed with Covid-19.

Method: 113 patients with normal pancreatic enzyme levels diagnosed with Covid-19 and 120 patients with both Covid-19 diagnosis and high pancreatic enzyme levels were included in the study. The rs7041 genotyping of the 11th single nucleotide variation in the *VDBP* gene was determined by polymerase chain reaction (PCR) and restriction fragment length polymorphism (RFLP) methods.

Results: In the patient group with Covid-19 diagnosis and high pancreatic enzyme levels, the *VDBP* gene rs7041 variance GG genotype ratio was determined higher than the normal Covid-19 patients. As a result of comparisons between the two groups, the difference between the genotype ratios in the relationship was determined to be statistically significant ($p=0,004$).

Conclusion: Covid-19 patients were determined that the rs7041 halves in the *VDBP* gene could be prone to pancreatitis formation. Different populations and work with more patient groups are needed to verify the results of the study.

Keywords: Covid-19, Pancreas, Vitamin D, *VDBP* gene, variant rs7041.

1. GİRİŞ

Koronavirüsler, insanları ve aynı zamanda çok çeşitli hayvanları enfekte eden zarflı, pozitif tek sarmallı büyük RNA virüsleridir [1]. Koronavirüs hastalığı, şiddetli akut solunum sendromu koronavirüs 2'nin (SARS-CoV-2) neden olduğu bulaşıcı bir hastalıktır [2]. COVID-19, Aralık 2019'da Merkezi Çin Halk Cumhuriyeti'nin Hubei Eyaletinde tanınmış ve birçok ülkeye yayılmıştır [3]. Kuluçka süresi ortalama 5 gündür [2]. COVID-19 enfeksiyonları, çoğu ana organı ve organ sistemini içeren geniş ölçüde değişken fenotipi etkileyen ifadelerle karakterizedir [4]. Semptomatik kişilerin çoğunda burun akıntısı, anozmi, öksürük ve ateşle seyreden bir üst solunum yolu hastalığı olarak başlamaktadır [4]. Bildirilen en yaygın semptomlar ateş (%83), öksürük (%82) ve nefes darlığıdır (%31)[5]. Covid-19 teşhisinde şüpheli hastalardan toplanan nazal salgılar, kan, sputum ve bronkoalveolar lavajlar kullanılır [6]. Numuneler, laboratuvar tanınması için COVID-19'e özel serolojik ve moleküler testlere tabi tutulur [6]. Yoğun topluluklar özellikle risk altındadır ve Çin ile Afrika arasındaki yoğun trafik nedeniyle en savunmasız bölge Afrika'dır [1].

Pankreatit, pankreas enzimlerinin pankreas dokusuna zarar verdiği ve bezin yanı sıra uzak organ ve sistemlerin işlev bozukluğuna yol açtığı pankreasın kendi kendine sindirilmesini ifade eder [7]. Safra taşları, akut pankreatitin en yaygın nedenidir [8].

D vitamini, dermal sentez yoluyla endojen olarak üretilen, güneş ışığından gelen ultraviyole B ışınlarına maruz kalmanın üretimini tetiklediği, pleiotropik yağda çözünen bir hormondur [9]. D vitamini, geniş düzenleyici etkileri olan bir steroid hormon olarak sınıflandırılır [10]. Tüm vücutta kalsiyum homeostazını kontrol eden endokrin sistemde ve paratiroid hormonuyla birlikte kemik mineralizasyonunda çok önemli bir rol oynar [10].

D vitamini bağlayıcı protein (*VDBP*), sistemik dolaşımda D vitamininin yarı ömrünü düzenleyen ana biyolojik parametreyi içerdiğinden, D vitamini homeostazı için çok önemli bir faktör olarak kabul edilir [11,12]. *VDBP*, hücre silahlanma ve apoptoz gibi D vitamini biyolojik fonksiyonlarını desteklemek için hücrelere serum 25 (OH) D3 taşır [13].

VDBP geni 4q11-q13 kromozomunda yer alır. *VDBP* geninin 11. ekzonundaysa 4588 ve rs 7041 olmak üzere bilinen iki adet tek nükleotid polimorfizmi (SNP) tanımlanmıştır [14,15,116,17]. rs7041'deki GAT→GAG ikamesi, aspartik asidin glutamik aside dönüşmesine ve rs4588'deki ACG→AAG ikamesi, Lizin için aminoasit treonin değişikliklerine yol açar [18]. Bu iki mutasyon, D vitamini için daha düşük bağlanma kapasitesine sahiptir ve D vitamini eksikliği, otoimmün hastalıkların patofizyolojisi ile

ilişkilendirilebilir [18]. *VDBP* genindeki genetik mutasyonlar talasemi, koroner arter hastalığı gibi birçok farklı hastalıkla ilişkilendirilmiştir [12,19]. *VDBP* geninin diğer birçok hastalığın öncüsü olmasının yanı sıra gende mevcut olan mutasyonun koronavirüs hastası olan bireylerde pankreatit gelişimine de neden olduğu düşünülmekte ve çalışma yürütülmektedir [20].

Bu araştırmada koronavirüs hastalığı tanısı alan hastalarda pankreatit tablosunun oluşumuna *VDBP* geni rs7041 varyantının sebep olup olmadığı araştırılmış ve sonuca göre tedaviyi şekillendirmek amacıyla koronavirüse bağlı gelişen pankreatitin altında yatan sebebi aydınlatmak hedeflenmiştir.

2.GENEL BİLGİLER

2.1.Covid-19

Küresel sağlığa yönelik en son tehdit, yakın zamanda koronavirüs hastalığı 2019 (Covid-19) olarak adlandırılan solunum yolu hastalığının devam eden salgınıdır. Covid-19, Aralık 2019'da Merkezi Çin Halk Cumhuriyeti'nin Hubei Eyaletinde tanınmış ve birçok ülkeye yayılmıştır [3]. Şiddetli akut solunum sendromuna (SARS) neden olan virüsle yapısal olarak ilişkili yeni bir koronavirüsün neden olduğu hızlı bir şekilde gösterilmiştir [3]. Son 18 yılda koronavirüs hastalığının ortaya çıktığı önceki iki örnekte olduğu gibi — SARS (2002 ve 2003) ve Orta Doğu Solunum Sendromu (MERS) (2012'den günümüze) — Covid-19 salgını halk için kritik zorlukların oluşmasına neden olmuştur [3].

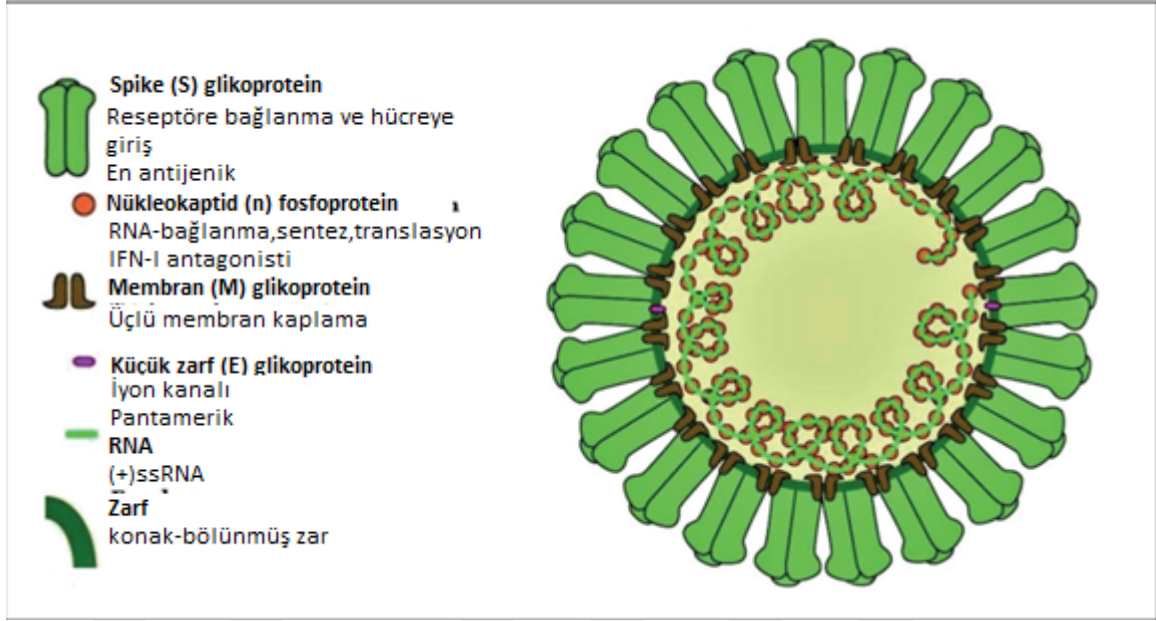
12 Aralık 2019'da, Wuhan Belediye Sağlık Komisyonu, Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından başlangıçta 2019-yeni koronavirüs (2019-nCoV) ve daha sonra Koronavirüs Hastalığı 2019 olarak belirlenen yeni bir koronavirüsün bulaştığı 27 kişiyi bildirmiştir [1,21]. Bildirilen vakalardan yedisi kritik derecede hasta ve Deniz Ürünleri Toptan Satış Pazarına maruz kalma öyküsü vardır [1,21]. Ocak 2020'de, SARS-CoV-2 enfeksiyonu (Covid-19 'un etken maddesi) pozitif olan 41 hasta (ortalama yaş 49) arasında yapılan erken bir çalışma, bunların yarısının %20 diyabet, %15 kardiyovasküler hastalık ve %15 hipertansiyon dahil olmak üzere altta yatan hastalıkları olduğunu bulmuştur [1,21]. Başlıca semptomları %98 ateş, %76 öksürük ve %44 yorgunluktur [1,21]. Bu tür hastalardaki Covid-19 ciddi komplikasyonları arasında solunum sıkıntısı sendromu %29, RNAemi (serum SARS-CoV-2 nükleik asidi) %15, akut kalp hasarı %12 ve diğer ikincil enfeksiyonlar yer alır [1,21].

Toplam enfekte hastaların %32'si Yoğun Bakım Ünitesine (YBÜ) yatırılmıştır. Ölüm oranı %15 olarak belirlenmiştir [1,21].

Özetlemek gerekirse Covid-19 salgını; yeni organizmaların temel biyolojisini ve bunlara karşı duyarlılıklarımızı anlamamanın yanı sıra etkili karşı önlemler geliştirmek için sürekli gözetim, hızlı teşhis ve sağlam araştırma gereklerini ve ortaya çıkan enfeksiyöz patojenler ile sürekli olarak karşılaşılmakta olan zorluğun bir hatırlatıcısıdır [3].

2.1.2.Koronavirüsün kökeni ve yapısı

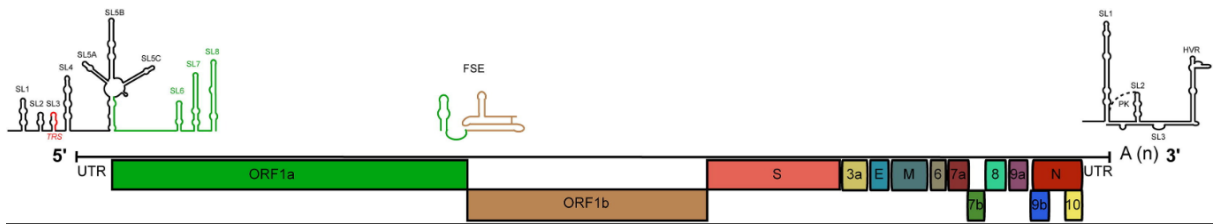
Koronavirüsler, insanları ve aynı zamanda çok çeşitli hayvanları enfekte eden zarflı, pozitif tek sarmallı büyük RNA virüsleridir [1]. Koronavirüsler ilk kez 1966'da soğuk algınlığı olan hastalardan virüsleri eken Tyrell ve Bynoe tarafından tanımlandı [1]. Yüzey çıkıntılarından dolayı koronavirüsler (Latince: korona = taç) olarak adlandırıldılar [1]. Koronavirüsler; pozitif tek damarlı RNA, segmentsiz, nükleoprotein, kapsid, matris ve S-protein (Şekil 2.1) ile ilişkili olarak 150-160 nm boyutunda, pleomorfik veya küresel parçacıklar ile kaplıdır [6]. Alfa, beta, gama ve delta koronavirüsler olmak üzere dört alt aile mevcuttur [1]. Alfa ve beta-koronavirüsler görünüşte memelilerden, özellikle yarasalardan kaynaklanırken, gama ve delta virüsleri domuzlardan ve kuşlardan kaynaklanır [1]. Başlıca dört yapısal gen, nükleokapsid proteini, başak proteini, küçük bir zar proteini ve HCoV-OC43 ve HKU1 beta koronavirüslerinde meydana gelen ilave bir zar glikoproteini ile zar glikoproteinini kodlar [1]. SARS-CoV-2, tüm genom düzeyinde bir yarası koronavirüsü ile %96 aynıdır [1].



Şekil 2.1 Koronavirüs şematik diyagramı [6].

Yeni koronavirüs SARS-CoV-2'nin keşfinden bu yana, bilim adamları virüsün kökenini tartışmaktadırlar [5]. SARS-CoV-2'nin ortamında sentetik olarak üretildiği ile ilgili spekülasyonlar yapılmaktaysa dajenetik veriler bu hipotezi desteklememekte ve SARS-CoV-2'in daha önce bilinen bir virüsten türemediğini göstermektedir [5]. Genom analizi ve daha önce bilinen koronavirüs genomlarıyla karşılaştırma, SARS-CoV-2'nin onu diğer koronavirüslerden ayıran benzersiz özellikler sunduğunu gösterir [5,6]. Bu özellikler: anjiyotensin dönüştürücü enzim 2 (ACE2) reseptörü için optimal afinite ve S1/S2 spike birleşiminde polibazik bölünme bölgesi olması ve bu bölgenin enfektiviteyi ve konak aralığını belirlemesidir [5,6].

Yapılan bir çalışmada SARS-CoV ve Covid-19 nükleokapsid(N) proteini için bir Clustal W analizi gerçekleştirilmiştir ve bu, birbiriyle %90'dan fazla sekans kimliği gösterdiğini göstermiştir (Şekil2.2)[6].



Şekil 2.2Koronavirüsün şematize edilmiş yapısı [22]. SARS-CoV-2 RNA genomu ~ 30 kb uzunluğundadır ve en az 11 açık okuma çerçevesi (ORF) halinde organize edilmiştir. Viral genom 50 uçta kapatılır ve 30 uçta poliadenile edilir. Viral genomun üçte ikisini işgal eden ORF1a ve ORF1b, yapısal olmayan proteinleri

(nsp1 ila nsp16) kodlarken, başak (S), zarf (E), zar (M) ve nükleokapsid (N), yapısal genler tarafından kodlanır. Ek olarak, yardımcı proteinler de yapısal genler tarafından kodlanır. Tanımlanan cis-etkili düzenleyici öğeler ayrıca 50 uçta (SL1 ila SL8), ORF1a/b çerçeve kaydırma bölgesinde (FSE) ve 30 çevrilmemiş bölgede gösterilir. SL: gövde döngüsü; TRS: transkripsiyon düzenleyici dizi; FSE: çerçeve kaydırma ögesi; PK: sözde düğüm; HVR: aşırı değişken bölge.

SARS-CoV-2, 27 viral proteini kodlayan 11 açık okuma çerçevesi (ORF'ler) ile 29 903 nükleotid uzunluğunda tek sarmallı pozitif anlamda bir RNA genomu içeren zarflı bir virüstür [22]. ORF1a/b 21.290 nükleotid uzunluğundadır ve 16 yapısal olmayan proteini (nsp1–nsp16) kodlar [22]. Genomun son kısmı, dört yapısal ve altı yardımcı proteini kodlayan 8613 nükleotittir [22]. Yapısal proteinler başak (S, virüs eki ve majör antijenik protein), zarf (E), matris (M) ve nükleokapsid (N) proteinleridir, yardımcı proteinler ise ORF3a, ORF6, ORF7a, ORF7b, ORF8 ve ORF10'dur [22]. SARS-COV ve Covid-19 'ninnükleokapsid (N) proteini için Clustal W analiz sonuçları şekil 2.3'de gösterilmiştir.

CLUSTAL 2.1 çoklu sekans hizalama	
SARS-CoV-Nprotein	MSDNGPQSNQRSAPRITFGGGPTDSTDNQNGGRNGARPKQRRPQGLPNNTASWFTALTQH
2019-nCoV-Nprotein	MSDNGPQ-NQRNAPRITFGGGSDSTGSNQNNGERSGARSKQRRPQGLPNNTASWFTALTQH
	***** ***,*****:***,**** ***,*****
SARS-CoV-Nprotein	GKEELRFPRGQGVPIINTNSGPDDQIGYYRRATRRVRGGDGKMKELSPRHYFYLLGTGPEA
2019-nCoV-Nprotein	GKEDLKFRGQGVPIINTNSPDDQIGYYRRATRRIRGGDGKMKDLSPRHYFYLLGTGPEA
	,:**:*****:*****:*****:*****
SARS-CoV-Nprotein	SLPYGANKGIVWATEGALNTPKDHIGTRNPNNAATVLQLPQGTTLPGFYAEGSRGG
2019-nCoV-Nprotein	GLPYGANKDGIWATEGALNTPKDHIGTRNPANNAIVLQLPQGTTLPGFYAEGSRGG
	,*****:***:***** *****
SARS-CoV-Nprotein	SQASSRSSSRGNSRNSTPGSSRGNSPARMASGGGTALALLLDRLNQLESKVSQKGGQ
2019-nCoV-Nprotein	SQASSRSSSRGNSRNSTPGSSRGTSARMAGNGGDAALALLLDRLNQLESKVSQKGGQ
	*****:***,*****:*****:***:*****:*****
SARS-CoV-Nprotein	QQQGQTVTKKSAAEASKKPRQKRTATKQYNVTQAFGRRGPEQTQGNFGDQDLIRGTDYK
2019-nCoV-Nprotein	QQQGQTVTKKSAAEASKKPRQKRTATKAYNVTQAFGRRGPEQTQGNFGDQELIRGTDYK
	*****:***** *****
SARS-CoV-Nprotein	HWPQIAQFAPSASAFFGMSRIGMEVTPSGTWLTYHGAIKLDDKDPQFQDNVILLNKHIDA
2019-nCoV-Nprotein	HWPQIAQFAPSASAFFGMSRIGMEVTPSGTWLTYTGAIKLDDKDPNFKDQVILLNKHIDA
	*****:***:*****
SARS-CoV-Nprotein	YKTFPPTPEPKDKKKKTDEAQPLPQRQKKQPTVTLPAADMDDFSRQLQNSMSGASADST
2019-nCoV-Nprotein	YKTFPPTPEPKDKKKKADETQALPQRQKKQPTVTLPAADLDDFSKQLQQSHSADSTQA
	*****:***,***** *****:***:***:***,*,*,*,*
SARS-CoV-Nprotein	QA
2019-nCoV-Nprotein	--

Şekil 2.3 SARS-COV ve Covid-19 'ninnükleokapsid (N) proteini için Clustal W analiz sonuçları [6].

2.1.3 Covid-19 'un Bulaş Yolu

Koronavirüs hastalığı, şiddetli akut solunum sendromu koronavirüs 2'nin (SARS-CoV-2) neden olduğu bulaşıcı bir hastalıktır [2]. SARS-CoV-2'nin medyan kuluçka süresi

~5 gündür (2 ila 14 gün arasında) ve semptom geliştiren kişiler bunu enfeksiyondan sonraki ~12 gün içinde (8 ila 16 gün arasında) yapar [2].

Mevcut bilgiler, SARS-CoV-2'nin konakçı hücelere anjiyotensin dönüştürücü enzim (ACE) 2 reseptörü (R) — bir metalopeptidaz yoluyla bağlandığını göstermektedir [1,4]. Yapay zeka, bu proteinleri bozan AP2 ile ilişkili protein kinaz 1 (AAK1) ile ilişkili ilaçların hedef hücelere viral girişi engelleyebileceğini tahmin ediyor [1].

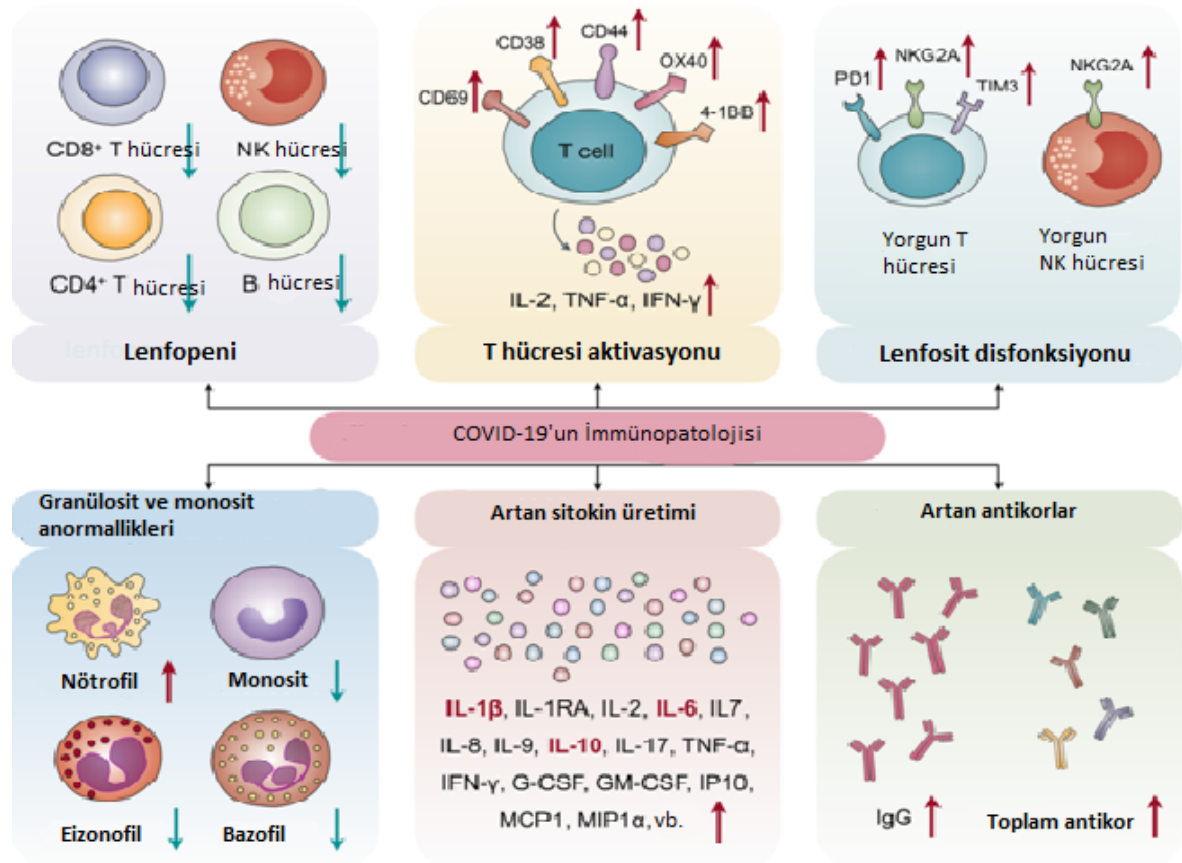
2.1.4. Covid-19'un patogenezi

Covid-19 enfeksiyonları, çoğu ana organı ve organ sistemini içeren geniş ölçüde değişken fenotipi etkileyen ifadelerle karakterize edilir. Araştırmalar sonucunda Covid-19 ile ilişkili pıhtılaşma bozukluğu olarak bilinen edinilmiş bir sendrom ortaya çıktı ve venöz, arteriyel ve mikrodolaşım sistemlerinin tutulumu ile çok faktörlü ve diğer viral hastalıklardan farklı olarak yaygın olduğunu kanıtlanmıştır [4]. Mevcut bilgiler, Covid-19 ile ilişkili koagülopatiyi erken evrelerinde dissemine intravasküler pıhtılaşma ve trombotik mikroanjiyopatiden ayırmaktadır ve tromboprofilaksi için antikoagülan tedavi, kardiyoloji, hematoloji ve tromboz alanlarındaki tüm büyük topluluklar tarafından önerilmekle birlikte, optimal tedavi henüz oluşturulmamıştır [4]. Dissemine intravasküler pıhtılaşmanın (DIC), küçük ve daha az yaygın olarak orta büyüklükteki kan damarlarının trombotik tıkanmasına yol açan sistemik pıhtılaşma aktivasyonu ile çeşitli hastalık ve durumları karmaşıklaştıran bir sendrom olarak kabul edilmektedir [4]. DIC'nin laboratuvar özellikleri, karşılaşılan aşamaya bağlı olarak büyük ölçüde değişir [4]. Erken DIC'de hemostatik sistemin kompanse aktivasyonu vardır, ancak dekompanse hemostatik aktivasyona ilerleme ile karakteristik bulgular gözlenir [4]. Bunlar arasında trombositopeni, artmış PT ve PTT, yüksek fibrin(ojen) bozunma ürünleri ve azalmış proteaz inhibisyonu yer alır [4].

2.1.5. Covid-19'un belirti ve bulguları

Covid-19 semptomatik kişilerin çoğunda burun akıntısı, anozmi, öksürük ve ateşle seyreden bir üst solunum yolu hastalığı olarak başlıyor [4]. Klinik progresyon olanlarda alt solunum yolu tutulumu vardır [4]. SARS-CoV-2 enfeksiyonu olan hastalar, nüfusun büyük bir kısmı asemptomatik taşıyıcılar olmak üzere hafif ila şiddetli arasında değişen semptomlar gösterebilir [5]. Bildirilen en yaygın semptomlar ateş (%83), öksürük (%82) ve nefes darlığıdır (%31)[5]. Pnömonili hastalarda, göğüs röntgeni genellikle çoklu beneklenme ve buzlu cam opaklığı gösterir [5].

SARS-CoV-2'nin normal bağışıklık tepkilerini bozarak, Covid-19'lu şiddetli ve kritik hastalarda bağışıklık sisteminin bozulmasına ve kontrolsüz inflamatuvar yanıtlara yol açtığı gösterilmiştir (Şekil 2.4) [23]. Bu hastalarda lenfopeni, lenfosit aktivasyonu ve disfonksiyonu, granülosit ve monosit anormallikleri, yüksek sitokin seviyeleri ve immünoglobulin G (IgG) ve toplam antikorlarda artış görülür [23].



Şekil 2.4 Covid-19 'un immünopatolojisi [23]. Covid-19 'un bağışıklık modelleri arasında lenfopeni, lenfosit aktivasyonu ve işlev bozukluğu, granülosit ve monosit anormallikleri, artan sitokin üretimi ve artan antikorlar bulunur. Lenfopeni, özellikle ağır vakalarda Covid-19 hastalarının önemli bir özelliğidir. CD69, CD38 ve CD44 hastaların CD4+ ve CD8+ T hücrelerinde yüksek ifadelerde bulunur ve ciddi vakalardan kaynaklanan virüslere özgü T hücrelerinde yüksek düzeyde IFN- γ , TNF- α ve IL-2 ile merkezi bellek fenotürüsergilenir. Bununla birlikte, lenfositler programlanan hücre ölümü proteini-1 (PD1), T hücre immünoglobulin alanı ve mucin etki alanı-3 (TIM3) ve katil hücre lectin benzeri alıcı alt ailesi C üyesi 1 (NKG2A) yukarı düzenlemeyle birlikte bir tükenme fenotürü gösterir. Nötrofil seviyeleri ciddi hastalarda önemli ölçüde daha yüksektir, eozinofil, bazofil ve monosit yüzdesi de azalır. Özellikle IL-1 β , IL-6 ve IL-10'nin artmış sitokin üretimi, ciddi Covid-19 'in bir diğer önemli özelliğidir. IgG seviyeleri de artırılır ve toplam antikorların daha yüksek bir seviyesi vardır (8).

Artan sitokin üretimi, şiddetli Covid-19 'un bir başka temel özelliğidir [23]. Şiddetli Covid-19 vakalarının çoğu, IL-1 β , IL-2, IL-6, IL-7, IL-8, IL-10, granülosit koloni uyarıcı faktör (G-CSF) dahil olmak üzere enflamatuar sitokinlerde aşırı bir artış gösterir [23]. Artan sitokin üretimi, şiddetli Covid-19 'un bir başka temel özelliğidir. Şiddetli Covid-19 vakalarının çoğu, IL-1 β , IL-2, IL-6, IL-7, IL-8, IL-10, granülosit koloni uyarıcı faktör (G-CSF) dahil olmak üzere enflamatuar sitokinlerde aşırı bir artış gösterir; granülosit makrofaj-koloni uyarıcı faktör (GM-CSF), interferon-indüklenbilir protein-10 (IP10), monosit kemotaktik protein 1 (MCP1), makrofaj enflamasyon proteini, IFN-y ve TNF-a, "sitokin fırtınasını" temsil ediyor. Özellikle IL-1 β , IL-6 ve IL-10, şiddetli vakalarda en yüksek üç sitokindir [23].

Öte yandan nükleik asit testleriyle birlikte SARS-CoV-2'ye özgü antikorların (IgM ve IgG) saptanması, Covid-19 teşhisinin temelini oluşturur [23]. Zhang ve ark. artmış bir IgG yanıtının, hastalığın ciddiyeti ile yakından ilişkili olduğunu bulmuştur; bu, ciddi ve ciddi olmayan vakalar arasında ayırım yapmak için basit bir tamamlayıcı belirteç olduğunu göstermektedir [23].

2.1.6. Covid-19 tanı ve tedavi yöntemleri

Şüpheli hastalardan toplanan nazal salgılar, kan, sputum ve bronkoalveolar lavajları klinik örnekler olarak kullanılır [6]. Numuneler, laboratuvar tanılama için Covid-19 'e özel özel serolojik ve moleküler testlere tabi tutulur [6]. Serolojik testler, spesifik covid-19 proteinlerini algılayan enzim bağlantılı immünosorbent analizi (ELISA) veya Western blots kullanır. Şüpheli SARS-CoV-2 enfeksiyonu vakalarına, ters gerçek zamanlı PCR (RT-PCR) testi uygulanarak spesifik ve benzersiz viral dizilerin saptanmasıyla doğrulanır [5,6].

Diğer virüsler gibi, SARS-CoV-2 de bir giriş reseptörü olarak anjiyotensin dönüştürücü enzim II (ACE2) aracılığıyla reseptör aracılı endositozu kullanarak akciğer alveoler epitel hücrelerini enfekte eder [1]. Yapay zeka, bu proteinleri bozan AP2 ile ilişkili protein kinaz 1 (AAK1) ile ilişkili ilaçların hedef hücrelere viral girişi engelleyebileceğini tahmin ediyor [1].

2.1.7. Covid-19 için risk grupları ve aşılama

425 doğrulanmış vaka üzerinde yapılan son araştırmalar, mevcut salgının etkilenen kişi sayısının her yedi günde bir ikiye katlanabileceğini ve her hastanın ortalama olarak 2,2 kişiye enfeksiyon bulaştırdığını göstermektedir [1]. Yoğun topluluklar özellikle risk

altındadır ve Çin ile Afrika arasındaki yoğun trafik nedeniyle en savunmasız bölge kesinlikle Afrika'dır [1]. Son araştırmalar, 60 yaş ve üzerindeki hastaların, enfekte olma ihtimalinin daha düşük olabileceğine veya bu durumda daha hafif semptomlar ve hatta asemptomatik enfeksiyon gösterebilecek çocuklara göre daha yüksek risk altında olduğunu göstermektedir [1].

Tüm virüs aşıları, koruyucu bağışıklığı tetiklemek için şiddetli akut solunum sendromukoronavirüs 2'nin (SARS-CoV-2) zayıflamış (zayıflatılmış) veya etkisizleştirilmiş bir formunu kullanır. Canlı atenüe aşılar, virüsün hala büyüyüp çoğalabilen ancak hastalığa neden olmayan zayıflamış bir formunu kullanır [24]. İnaktive aşılar, genetik materyali ısı, kimyasallar veya radyasyonla yok edilen virüsler içerir, bu nedenle hücrelere bulaşamaz ve çoğalamazlar, ancak yine de bir bağışıklık tepkisini tetikleyebilirler [24].

Protein bazlı aşılar: İki tip protein bazlı aşı vardır, yani alt birim ve virüs benzeri parçacık aşıları [24]. Protein alt birim aşıları, rekombinant protein teknikleriyle üretilen viral antijenik parçalardan oluşur [24]. Tüm virüs aşılara kıyasla üretilmesi kolaydır ve nispeten güvenlidir ve iyi tolere edilirler. Protein alt birim aşılarının sınırlaması, düşük immünojenisiteye sahiptir [24]. Bu nedenle, adjuvanlar genellikle immünojeniteyi geliştirmek için alt birim aşılarla birlikte kullanılır [24]. Alt birim aşılarının ötesinde, diğer protein bazlı SARS-CoV-2 aday aşıları, koronavirüs yapısını taklit eden ancak genetik materyali olmadığı için bulaşıcı olmayan boş virüs kabukları kullanır; 'virüs benzeri parçacıklar' olarak adlandırılır [24].

Viral vektör aşısı: Virüsler, konakçının hücrelerini işgal ederek ve protein yapma makinelerini ele geçirerek hayatta kalır ve çoğalır, böylece virüsün genetik kodunu okur ve yeni virüsler üretir [24]. Bu virüs parçacıkları, bir bağışıklık tepkisini tetikleyebilen moleküller olan antijenler içerir [24].

2.1.8. Türkiye’de ve dünyada koronavirüs

2020 Münih Güvenlik Konferansı'nda DSÖ genel direktörü TedrosAdhanomGhebreyesus, " Biz sadece bir salgınla mücadele etmiyoruz; birinfodemi ile savaşıyoruz" demiştir. Sahte haberler, yanlış bilgilendirme ve komplo teorileri, sosyal medya çağında yaygın hale gelmiş ve Covid-19 salgınının başlangıcından bu yana hızla artmıştır [25]. Bu durum son derece kaygı vericidir çünkü sağlık kurumlarına ve programlarına olan güveni sarsmaktadır [25]. Bu algının aksine yapılan çalışmalar ve

istatistikler sonucunda koronavirüsün bir pandemik salgına neden olduğu aşikardır ve yayılmanın önüne geçmek için önlemlerin alınması ve tedavinin sağlanması gerekmektedir [26]. Vaka tespit oranı günlük olarak değişmektedir ve Johns Hopkins Üniversitesi ve diğer forumlar tarafından sağlanan web sitesinde neredeyse gerçek zamanlı olarak izlenebilir [26].

2.2. Pankreatit Nedir?

Embriyolojik olarak pankreas, yaklaşık 8 haftalık gebelikte ventral ve dorsal pankreasın füzyonunun ürünü olan endodermal bir yapıdır [27]. Fonksiyonel pankreasın kendisi endokrin ve ekzokrin bileşenlere ayrılmıştır [27]. Ekzokrin pankreas (asiner hücreler ve duktal dokudan oluşur) pankreas dokusunun yaklaşık %85'ini temsil eder ve duodenuma zimojen ve bikarbonat salgılanmasından sorumludur [27]. Endokrin pankreas (kendisi alfa, beta ve delta hücrelerinden oluşan Langerhans adacıklarından oluşur) genel dolaşıma hormonal sekresyondan (glukagon, insülin ve somatostatin, vs.) sorumludur [27].

Kronik pankreatit, parankimal yaralanma veya strese karşı kalıcı patolojik tepkiler geliştiren genetik, çevresel ve/veya diğer risk faktörlerine sahip bireylerde pankreasın patolojik fibroinflamatuvar sendromu olarak tanımlanır [28]. Kronik pankreatitin patofizyolojisi oldukça karmaşıktır ve asiner hücre hasarı, asiner stres tepkileri, kanal disfonksiyonu, kalıcı veya değişmiş inflamasyon ve/veya nöro-immün karışmayı içerir, ancak bu mekanizmalar tam olarak anlaşılmamıştır [28]. Kronik pankreatit, atrofi ve/veya fibrotik doku ile yer değiştirme nedeniyle endokrin ve ekzokrin kompartmanın ilerleyici kaybıyla sonuçlanan pankreasın devam eden enflamasyonu ile karakterizedir [28]. Pankreasın akut nekroinflamatuvar değişiklikleri ile karakterize edilen ve histolojik olarak asiner hücre yıkımı ile karakterize edilen bir bozukluğu temsil eder [27]. Kronik pankreatit terimi geleneksel olarak, en sık alkoliklerde ve sigara içenlerde ve nadiren de genetik olarak yatkın kişilerde görülen, pankreas dokusunda, ağrı, endokrin dokuda ilerleyici skarlaşmaya neden olan pankreasın kronik iltihaplanması sendromunu tanımlamak için kullanılır [28]. Pankreas bezi disfonksiyonu (esas olarak Langerhans adacıklarının kaybı nedeniyle), ekzokrin pankreas yetmezliği (pankreasın ürettiği sindirim enzimlerinin eksikliği, sindirimin bozulmasına neden olur) ve pankreas duktal adenokarsinomu riskinde artış ile gözlenir [28].

Akut pankreatit ise, yüksek komplikasyon oranı ve artmış ölüm riski ile ilişkili inflamatuvar bir durumdur [29]. Öykü, fizik muayene ve tanısal testlerin sonuçları ile tanı konulabilir [29]. Görüntüleme, akut pankreatitin tanı ve evrelemesinde, nedeninin belirlenmesinde ve komplikasyonlarının belirlenmesinde önemli bir rol oynar (Tablo 2.1)

[29]. Kontrastlı bilgisayarlı tomografi, özellikle hastalığın yaygınlığını değerlendirmek için 72 saat sonra yapıldığında en faydalı görüntüleme tekniğidir [29].

Tablo 2.1 Akut pankreatit teşhisi tanı kriterleri [29].

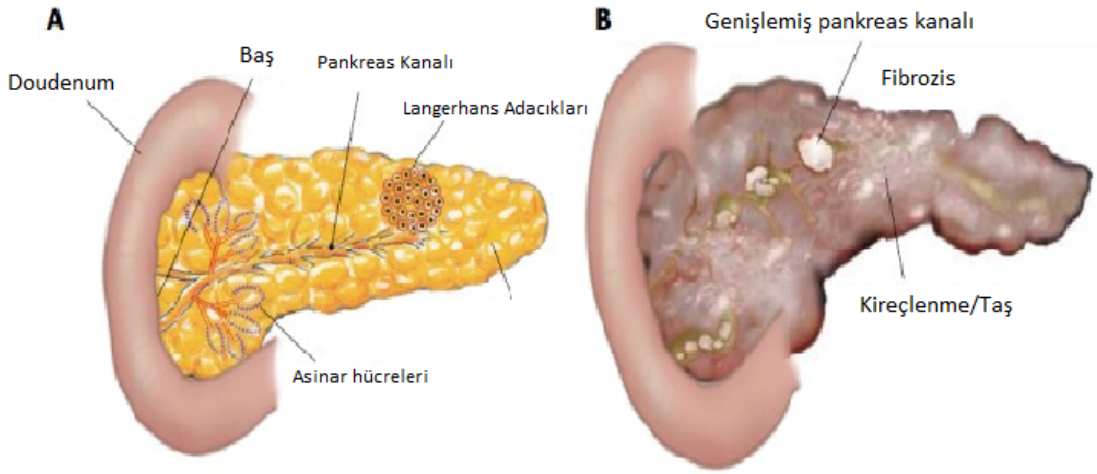
Akut pankreatit ile uyumlu karın ağrısı (sıklıkla sırta yayılan kalıcı, şiddetli, epigastrik ağrının akut başlangıcı).

Normalin üst sınırından en az üç kat daha fazla serum lipaz aktivitesi (veya amilaz aktivitesi).

Akut pankreatitin kontrastlı bilgisayarlı tomografide ve daha az yaygın olarak manyetik rezonans görüntüleme veya transabdominal ultrasonografide karakteristik bulguları.

Akut pankreatitin gelişiminde pankreas asinar hücreleri merkezi rol oynamaktadır. Safra taşı veya alkol gibi tetikleyici faktörler, asinar hücreleri uyararak, sindirim enzimlerinin (tripsinojen, prokarboksipeptidaz A1) aktive olmasına neden olmaktadır. İnce bağırsağa ulaşmadan bu enzimlerin aktive olması anahtar rol oynamaktadır [30].

Başka bir tanıma göre pankreatit, pankreas enzimlerinin pankreas dokusuna zarar verdiği ve bezin yanı sıra uzak organ ve sistemlerin işlev bozukluğuna yol açtığı pankreasın kendi kendine sindirilmesini ifade eder [7]. Safra taşları, akut pankreatitin en yaygın nedeni olmaya devam etmektedir. Safra taşıyla ilişkili akut pankreatit, Birleşik Krallık'taki tüm vakaların yaklaşık yarısını oluştururken, akut pankreatit vakalarının %25'e kadarı alkole atfedilebilir [8]. Sağlıklı ve pankreatit görülen pankreas şekil 2.5'te gösterilmiştir.



Şekil 2.5 Pankreasın yapısı [31]. A: Pankreas yaprak benzeri bir yapıdır ve iki tip hücreye sahiptir: Asiner pankreas kanalı hücrelerini içeren ekzokrin hücreler ve Langerhans adacıklarını içeren endokrin hücreler; B: Pankreastaki iltihaplanma süreci, fibrozu (dokuda yara izi), kalsifikasyonları veya taşları ve genişlemiş pankreas kanalını destekler.

Xiao ve ark. tarafından yapılan sistematik bir incelemede, küresel birleştirilmiş akut pankreatit insidansının, erkekler ve kadınlar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmaksızın, yılda 100 000 genel nüfus başına 34 vaka (%95 güven aralığı (GA) 23-49) olduğunu bildirmiştir [7].

2.2.1. Pankreatitin tanımı ve epidemiyoloji

Yunanca "pan" (tümü) ve "kreas" (et veya et) köklerinden gelen "pankreas" terimi, ilk olarak Efesli Ruphos (c. 100 yy.) tarafından kıkırdağı veya kemiği olmayan bir organı tanımlamak için kullanılmıştır [27]. Erken köklerine rağmen, Hollandalı bir anatomist olan Nicholaes Tulp (1593-1674) tarafından akut pankreatitin ilk klinik tanımının yayınlanması çok sonralarına kadar değildi [27].

Kronik pankreatitin insidansı, prevalansı ve doğal seyri hakkında sadece birkaç popülasyona dayalı epidemiyolojik çalışma yapılmıştır [28]. Bu nedenle, bu bozukluğa ilişkin epidemiyolojik bilgilerin çoğu, sağlık sigortası kayıtlarından veya hastane çizelgelerinden elde edilen verilere dayanan, genellikle veri kalitesi ve tanının uygun bir şekilde doğrulanmaması nedeniyle sınırlanan çalışmalardan elde edilir [28].

İngiliz Gastroenteroloji Derneği Birleşik Krallık'ta yaptığı çalışmalarda görülmüştür ki akut pankreatit insidansı yılda 100 000 kişi başına ~56 vaka iken, ABD'de yılda 220 000'den fazla hastaneye yatış akut pankreatite bağlanmaktadır [8,32]. Akut pankreatit insidansının da yaşla birlikte arttığı kaydedilmiştir [8,32]. Erkek popülasyonun insidansı kadınlardan %10-30 daha yüksek görülmektedir [8,32]. Akut pankreatit ile tüm hastane başvurularının ~%20-30'u şiddetli bir seyir gösterirken, bu hastaların ~%25'inde yaşamı tehdit eden ciddi komplikasyonlar gelişecektir [8,32]. Şiddetli akut pankreatitte mortalite %30 kadar yüksek olabilir, ancak akut pankreatitte genel mortalitenin %5 olduğu tahmin edilmektedir ve insidansın son on yılda önemli ölçüde arttığını bildirmektedir [8,32].

Buna ek olarak yapılan çalışmalarda görülmüştür ki kadın ve erkeklerin eşit oranlarında akut pankreatit gelişir; bununla birlikte, alkol kötüye kullanımı erkeklerde akut pankreatit ile daha sık ilişkilendirilirken, safra taşları kadınlarda akut pankreatit ile daha sık ilişkilidir [33]. Unutulmamalıdır ki, alkole bağlı pankreatitteki erkekler ve kadınlar arasındaki farklılıklar, oranlar alkol tüketim miktarlarının bir fonksiyonu olarak belirlendiğinde ortadan kalkar [33]. Son veriler, pankreatit insidansı ile sigara içme veya sigara ve alkol kötüye kullanımı kombinasyonları arasındaki ilişkiyi göstermektedir [33]. Batı ülkelerinde, tüm kronik pankreatit vakalarının %40-70'i alkol kötüye kullanımına bağlanmaktadır ve Japonya için benzer oranlar bildirilmiştir [28].

2.2.2. Pankreasla ilişkili parametreler ve teşhis

AP, potansiyel olarak ciddi komplikasyonları olan acil serviste yaygın bir sunumdur. Sağlık hizmeti sunucuları, etkili tedavi ve tedavi için şiddetli AP ve dekompanseasyon açısından en yüksek risk altındaki hastaları hızlı bir şekilde belirlemelidir [34]. Son birkaç on yılda, her birinin farklı dezavantajları ve güçlü yönleri olan çoklu puanlama sistemleri geliştirilmiştir [34]. Akut Pankreatitte Hasta Başı Şiddet İndeksi (BISAP), Panc 3, Zararsız Akut Pankreatit Skoru (HAPS) ve Japon Şiddet Skoru (JSS) gibi modern skorlama sistemlerinin, sunum ve kabul sırasındaki çeşitli veri noktalarına dayalı olarak AP'nin ciddiyetini etkin bir şekilde tahmin ettiği ve Ranson, Glasgow gibi daha tarihsel tahmin kriterleriyle olumlu şekilde karşılaştırdığı gösterilmiştir [34]. Akut pankreatit epizodunun şiddetinin sınıflandırılmasına yardımcı olan klinik, biyokimyasal ve radyolojik belirteçler tablo 2.2'de verilmiştir. Hastalığın şiddetini ölçmek ve tahmin etmek için çok sayıda skorlama sistemi olmasına rağmen, acil servisten AP'nin güvenli bir şekilde taburcu edilmesi için bir kılavuz yoktur [34].

Tablo 2.2 Akut pankreatit epizodunun şiddetinin sınıflandırılmasına yardımcı olan klinik, biyokimyasal ve radyolojik belirteçler.

Obezite
APACHE II skoru kabulde ≥ 8
Başvuru sırasında organ işlev bozukluğu kanıtı
Başvurudan 48 saat sonra CRP ≥ 150 mg/L
Kabulden 48 saat sonra Glaskow skoru > 3
Kontrastlı BT'de nekroz kanıtı
Prokalsitonin $> 1,8$ ng/mL

Kısaltmalar: APACHE, Akut Fizyolojik ve Kronik Sağlık Değerlendirmesi; CRP, C-Reaktif Protein; BT, Batın Tomografisi [8].

Ayrıca BISAP (Bedside Index of Severity in Acute Pancreatitis/Akut Pankreatitte Başucu Şiddet İndeksi) skorum sistemi, birkaç prospektif kohort çalışmasında daha fazla doğrulanmıştır ve klinik ortamlarda, özellikle nekroz ve mortalite tahmini için yararlı olduğu kanıtlanmıştır [34]. BISAP, Ranson, APACHE II ve BT önem derecesidahi olmak üzere çeşitli puanlama yöntemlerinin karşılaştırmalı bir çalışmasında, BISAP puanlama sisteminin risk sınıflandırması açısından diğerlerine benzer olduğu ve ayrıca risk altındaki hastaların erken tespiti açısından benzer olduğu bulunmuştur [34]. BISAP'a göre ana avantajı, kalıcı organ yetmezliğinin öngörülmesidir [34]. BISAP'ı hesaplamak için bir anamnez ve fizik muayene, temel laboratuvarlar ve bir göğüs röntgeni çalışması gereklidir ve bunların tümü bir acil servis çalışmasında makul bir şekilde elde edilir [34].

Ek olarak, 11 puanlık puanlama sisteminin birçok bileşeni, ortak acil servis tetkiklerinde elde edilmez. 1980'lerde Ranson kriterlerini daha az kriter kullanarak basitleştirme girişimleri, doğruluğu geliştirmede başarısız oldu [34]. Uluslararası olarak kullanılan Glasgow kriterleri Ranson skorum sistemine benzer, ancak bunun yerine AP'yi 48 saatte sekiz kriterle değerlendirir [34]. Üç veya daha fazla kriterin varlığı şiddetli AP'yi düşündürür [34]. Hem Ranson hem de Glasgow skorum sistemleri, klinik ortamda orta düzeyde performansa sahiptir ve şiddetli AP duyarlılıkları %80 civarındadır [34]. Akut Fizyoloji ve Kronik Sağlık Değerlendirmesi II (APACHE II) kritik hastalık skorum sistemi ayrıca pankreatit şiddetini, mortaliteyi ve yoğun bakım ünitesine yatış ihtiyacını tahmin etmede faydalı olabilir [34].

Şiddetli akut pankreatiti doğru bir şekilde tahmin etmek, klinisyenler için bir zorluk olmuştur [35]. Ranson kriterleri, Glasgow skoru, AP skorunda (BISAP) hasta başı şiddet

indeksi, APACHE II, sistemik inflamatuvar yanıt sendromu (SIRS), C-reaktif protein (CRP), hematokrit dahil olmak üzere çeşitli skorlama sistemleri ve tahmin belirteçleri vardır ve kan üre nitrojeni (BUN)[35]. Erken şiddet değerlendirmesi, özellikle başvuru gününde önemlidir, çünkü bu, nekroz ve organ yetmezliğini önlemek için müdahalelerin uygulanması için bir fırsat penceresi olarak kabul edilir [35]. Şu anda, başvuru günündeki şiddet tahmini en iyi ihtimalle %75 doğrudur, Japonlar, biri klinik parametrelere dayalı prognostik bir skor, diğeri ise kontrastlı bilgisayarlı tomografi (BT) (CECT) görüntülemeye dayanan 2 faktörden oluşan farklı bir şiddet değerlendirme sistemi geliştirmiştir (Tablo 2.3ve 2.4) [35].

Tablo 2.3Japon önem değerlendirmesi [35].

Baz fazlalığı ≤ 3 mEq/L veya şok (sistolik kan basıncı <80 mm Hg)
$\text{PaO}_2 \leq 60$ mm Hg (oda havası) veya solunum yetmezliği (solunum cihazı yönetimi gereklidir)
$\text{BUN} \geq 40$ mg/dL (veya $\text{Cr} \geq 2$ mg/dL) veya oligüri (IV sıvı resüsitasyonundan sonra bile günlük idrar çıkışı <400 mL)
$\text{LDH} \geq$ normalin üst sınırının 2 katı
Trombosit sayısı $\leq 100.000/\text{mm}^3$
Serum Ca $\leq 7,5$ mf/dL
$\text{CRP} \geq 15$ mg/dL
SIRS kriterlerinde pozitif ölçüm sayısı ≥ 3
Yaş ≥ 70 y
Prognostik şideet değerlendirmesi. Karşılanan her kriter için puan verilir. 3 puan ve üzeri ciddi hastalık varlığını gösterir [35].

Tablo 2.4Japon önem değerlendirmesi [35].

Enflamasyonun ekstrapankreatik ilerlemesi	
Ön pararenal boşluk	0 puan
Mezokolonun kökü	1 puan
Böbreğin alt kutbunun ötesinde	2 puan
Pankreasın hipo-arttırılmış alanları-3 pankreas segmenti (baş, gövde, kuyruk)	
Her segmentte veya sadece pankreas çevresinde lokalize	0 puan

2 segment dahil	1 puan
2 veya daha fazla segmentin tamamı dahil	2 puan
2 veya daha fazlası şiddetli hastalığı gösterir.	

Akut pankreatitli tüm hastalar, ilk laboratuvar çalışmalarının bir parçası olarak tam kan hücresi sayımı, temel metabolik panel, karaciğer fonksiyon testleri (LFT'ler), pıhtılaşma profili, C-reaktif protein (CRP) ve toplam albümin almalıdır. Hipoksisi olan hastalarda arteriyel kan gazı yapılmalıdır [36].

Karın kontrastlı BT taraması ve karın manyetik rezonans görüntüleme (MRI), pankreas patolojisinin görselleştirilmesi için en iyi görüntüleme yöntemleridir [37]. Her ne kadar bu testler hafif AP'li hastalarda rutin olarak endike değildir [37]. Karın BT taraması hem pankreatiti teşhis etmek için kullanılır hem de çoğu zaman şiddet skalasının belirlenmesine yardımcı olur [37].

Başlangıçta veya ilk 72 saatte 14 286 nmol/L (150 mg/dL) veya daha yüksek bir CRP seviyesi, şiddetli akut pankreatiti düşündürür ve daha kötü bir klinik gidişin habercisidir [36]. Bu nedenle, başvuru sırasında ve başvurudan sonraki ilk 72 saat boyunca günlük olarak CRP değerlendirilmelidir [36]. Akut Fizyolojik Değerlendirme ve Kronik Sağlık Değerlendirmesi (APACHE) II Puanları başvuru sırasında ve başvurudan sonraki ilk 72 saat boyunca günlük olarak hesaplanmalıdır [36]. Başlangıçta veya ilk 72 saatte 8 veya daha yüksek bir APACHE II Skoru, şiddetli akut pankreatiti düşündürür ve daha kötü bir klinik gidişin habercisidir [36]. Bir hasta, yeterli intravenöz sıvı resüsitasyonuna rağmen 48 saatten uzun süredir kalıcı organ yetmezliği belirtileri gösteriyorsa şiddetli akut pankreatit teşhisi konmalıdır [36].

Pankreatik enzimlerin uygunsuz salınımı ve aktivasyonu akut pankreatite neden olur [8]. Pankreatik zimojenlerin aktivasyonunda anahtar enzimin tripsin olduğu düşünülmüştür [8]. Tripsinojenin tripsin için uygunsuz aktivasyonu ve aktif tripsinin pankreastan ani klirensinin olmaması, pankreas iltihabına ve ardından inflamatuvar kaskadın tetiklenmesine neden olur [8]. İnterlökin (IL)-1, IL-6, IL-8, tümör nekroz faktörü α ve trombosit aktive edici faktör dahil olmak üzere 2 sitokin salınır [8]. Bunlar da, C-reaktif protein (CRP) gibi akut faz reaksiyon proteinlerinin hepatik sentezini indükler [8]. Lökosit göçü ve aktivasyonu, hem lokal hem de sistemik komplikasyonlar için ana belirleyici faktörü temsil edebilir [8].

Akut pankreatitte IL-1 indüksiyonu bildirilmiştir ve çok sayıda rapor pankreas patogenezinde IL-1 ve IL-1 reseptörünün (IL-1R) rolüne işaret etmiştir. IL-1 dönüştürücü

enzim (ICE), IL 1 β 'nin pro-IL-1 β 'den salgılanmasından sorumludur ve deneysel pankreatit, bir ICE inaktivatörü (VE-13045) ile ön tedavi ile önemli ölçüde hafifletildi, bu da pankreatitin histolojik derecelendirmesinin azalmasına ve ölmüne neden oldu [31]. Ek olarak, IL-1 β 'nin pankreatit patogenezinde de rol oynadığına inanılmaktadır [31]. Yüksek bir serum IL-1 β seviyesi, akut pankreatit gelişimi ile ilişkilendirilmiştir [31]. IL-6, inflamasyon ve immün yanıtlarda rol oynayan çok önemli bir proinflamatuvar sitokindir. IL-6'nın akut ve kronik pankreatit gelişiminde olduğu kadar pankreas kanserinde de önemli bir rolü olduğu gösterilmiştir [31]. IL-6, eylemine gp130 proteini aracılık eder ve Janus kinaz/sinyal transdüserlerinin ve aktivatörlerinin (JAK/STAT) sinyal yolağının aktivasyonuna öncülük eder [31].

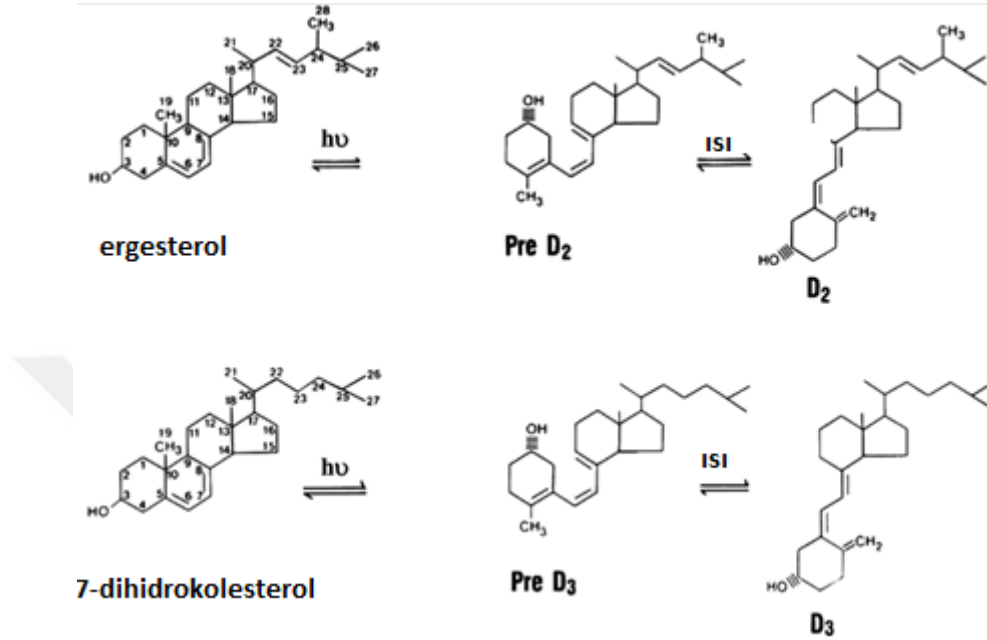
Akut pankreatit atağı sırasında alanin aminotransferazın >150 IU/L'ye yükselmesi, akut pankreatitin biliyer nedeni için öngörücü bir faktördür [38]. Tripsinojen aktivasyon peptidi (TAP) ve tripsinojen-2'nin biyokimyasal ölçümü, doğrulukları nedeniyle akut pankreatit için tanısal bir belirteç olarak daha kullanışlıdır, ancak değerlendirmeleri bulunabilirlik nedeniyle sınırlıdır [38]. Erken yükselen idrar TAP düzeylerinin şiddetli akut pankreatit ile ilişkili olduğu gösterilmiştir [38]. AP tanısı bir hastanın seyrinde erken başlar ve AP ile uyumlu klinik semptom ve özelliklerle başvuran hastalarda şüphelenilmelidir epigastrik karın ağrısı, bulantı, kusma, sırtta yayılan karın ağrısı %40-70'inde görülür [37]. Bu ağrı birkaç saatten birkaç saate kadar sürebilir. Birkaç gün sürebilen AP'li hastaların yaklaşık %90'ında bulantı da görülmüştür [37].

2.3. VDBProteini ve D Vitamini

Son veriler, D vitamini eksikliğinin Avrupa genelinde yaygın olduğunu göstermektedir. 14 popülasyon çalışmasının analizi, 55 844 Avrupalı bireyin %13'ünün, yaş grubu, etnik karışım ve çalışma popülasyonlarının enleminden bağımsız olarak yıllık ortalama serum 25(OH)D konsantrasyonlarının <30 nmol/L olduğunu ortaya koydu [39]. D vitamininin klasik rolü kalsiyum ve fosfat homeostazını düzenlemektir [40]. Artan kanıtlar, D vitamini sisteminin, bağışıklık sistemi, kan şekeri kontrolü ve kan basıncı düzenlemesi gibi birden fazla organı ve metabolik süreci etkileyebilecek çeşitli fizyolojik işlevlere sahip olduğunu ortaya koymuştur [40].

D vitamini diyetle alınabilir. Yağlı balıklar hariç çoğu gıda, takviye edilmediği sürece çok az miktarlarda D vitamini içerir. Balıktaki D vitamini D₃'tür, oysa takviye için kullanılan D₂'dir (ergokalsiferol) [41]. D vitamininin farklı formları şekil 2.6'da verilmiştir. D₂,

bitkilerde ve mantarlarda aleminde (örneğin kültür mantarları) ergosterolün UVB ışınlaması ile üretilir [41]. Yan zincirde C22 ve C23 arasında bir çift bağa ve C24'te bir metil grubuna sahip olmasıyla D3'ten farklıdır. D2, ilk D vitamini analogu olarak bilinir [41].



Şekil 2.6 D vitamininin farklı formları [41].

D vitamini, tüm vücutta kalsiyum homeostazını kontrol eden endokrin sistemde ve paratiroid hormonuyla birlikte kemik mineralizasyonunda çok önemli bir rol oynar [10]. Uygun bir 25-hidroksivitamin D [25(OH)D] durumu, sağlıklı bir vücut ağırlığının korunmasına yardımcı olur ve obeziteyi önler [10]. D vitamini doğuştan gelen ve adaptif bağışıklıkta yer alır ve safra asitlerinin detoksifikasyonunda rol oynar, mikrobiyotanın interstisyuma girişini sınırlayarak bağırsak homeostazında önemli rol oynar ve Treg hücrelerinin oluşumunu destekleyerek ve Th1/i baskılayarak bağışıklık sistemini düzenler [10]. Th17 hücreleri. Vitamin D reseptörü (VDR), enzimler ve metabolitler, lenfositler, monositler, makrofajlar ve dendritik hücreler gibi çeşitli bağışıklık hücrelerinde farklı ekspresyon seviyelerine sahiptir [10]. D vitamini, geniş düzenleyici etkileri olan bir steroid hormon olarak sınıflandırılır [10]. Birçok hücre tipinin farklılaşması, aktivasyonu ve proliferasyonunda yer alan birçok farklı genin ekspresyonunun düzenlenmesini etkiler [10].

D vitamini, esas olarak dermal sentez yoluyla endojen olarak üretilen, güneş ışığından gelen ultraviyole B ışınlarına maruz kalmanın üretimini tetiklediği, pleiotropik yağda çözünen bir hormondur [9]. Deride vitamin D₃ (D₃) üretimi enzimatik bir süreç değildir

[41]. D3 (kolekalsiferol), 7-dehidrokolesterolden (7-DHC), B halkasının güneşten gelen UV ışığı (spektrum 280-320 UVB) radyasyonu ile kırıldığı ve pre-D3'ü oluşturduğu iki aşamalı bir işlemle üretilir, termo-duyarlı ancak katalitik olmayan bir işlemde D3'e izomerleşir [41]. Derideki melanin, UVB'nin 7-DHC'ye ulaşmasını engeller, haliyle giyim ve güneş kremi gibi D3 üretimini sınırlar [41]. Deride alım veya sentezin ardından, lipofilik inaktif vitamin D, sistemik dolaşım içinde geri dönüşümlü olarak D vitamini bağlayıcı protein ve daha az oranda albümine bağlanır ve daha sonra 25(OH)D'ye enzimatik dönüşüme uğradığı karaciğere taşınır [42]. D vitamini bağlayıcı protein (*VDBP*), sistemik dolaşımda D vitamininin yarı ömrünü düzenleyen ana biyolojik parametreyi içerdiğinden, D vitamini homeostazı için çok önemli bir faktör olarak kabul edilir [11,12]. *VDBP*, D vitamini ve tüm metabolitlerinin bağlanması için tek bir bağlanma bölgesine sahiptir [42]. *VDBP* veya insan grubuna özgü bileşen (Gc) globulin, karaciğer tarafından salgılanan 55 kDa'lık bir proteindir ve D vitamini taşınması ve depolanması, hücre dışı G-aktinin temizlenmesi, enflamasyon ve makrofaj aktivasyon faktöründe (MAF) nötrofiller alımı için C5a'nın kemotaktik aktivitesinin artırılması gibi önemli fizyolojik fonksiyonlara sahiptir [14]. Ayrıca 1,25 (OH) 2D, KOAH'ta parankimal yıkıma katkıda bulunan çeşitli matriks metalloproteinazların (MMP'ler) ekspresyonunu da inhibe eder [14].

Bununla birlikte, D vitamini hareketi hem D vitamini reseptörünün hem de D vitamini bağlayıcı proteinin gruba özel bileşen globulin (GC) olarak da bilinen birlikte çalışmasını gerektirir [40]. Birçok doku ve organda ifade edilen D vitamini reseptörü, aktif metabolit 1,25 (OH) 2D3 aracılığıyla tepki verir ve biyolojik etki ile sonuçlanır; GC-globulin ise kan akışındaki D vitamini'nin başlıca plazma taşıyıcısıdır [40]. GC-globulin, bağlama işlevinin ötesinde aktin temizleme, yağ asidi taşımacılığı, kemotaksiler ve makrofaj aktivasyonu dahil olmak üzere birçok önemli biyolojik fonksiyona sahiptir [40].

2.3.1. *VDBP* geni ve pankreatit ilişkisi

1959 yılında tanımlanan D vitamini bağlayıcı protein (*VDBP*, D vitamini bağlayıcı protein, GS globulin), en yaygın whey (Peynir altı suyu proteini) proteinlerinden biridir ve D vitamini dolaşımının yaklaşık %90'ini taşır [15]. *VDBP* geni 4q11-q13 kromozomunda yer alır ve *VDBP* geninin 11. ekonunda bilinen iki adet tekli nükleotid polimorfizmi (SNP) rs4588 ve rs 7041; ve üç izotipi (DBP1F, DBP1S ve DBP2) bulunmaktadır [14-17]. Bir birey, mevcut iki haplotipe bağlı olarak her varyant için homozigot veya heterozigot olabilir [14,15,12]. *VDBP*, mutasyonun 25 (OH) D konsantrasyonunu etkileyebileceği ana genlerden

biridir [15]. Bunun nedeni, D vitamininin çoğunun kanda plazma, serebrospinal sıvı ve metabolizma sürecinde bulunan *VDBP* ile birlikte dolaşmasıdır [15]. *VDBP* allellerinin frekans dağılımı etnik olarak çeşitlidir. rs7041 (T), *VDBP*'de 432 konumunda aspartik asit (ASP) kodlarken dünya popülasyonlarında yaygın bir ıddialı olmakla birlikte, rs7041 (G) bu konumda glutamik asit (Glu) kodlamasının daha nadir görülen bir allellidir [13]. *VDBP*, hücre silahlanma ve apoptoz gibi D vitamini biyolojik fonksiyonlarını desteklemek için hücrelere serum 25 (OH) D3 taşır [13]. Normal nesnelerle ilgili olarak, *VDBP*'nin plazma konsantrasyonu 200–600 µg/mL'dir ve bu, *VDBP*'deki genetik varyasyonla ilişkili olabilir [13].

VDBP, D vitamini ve metabolitlerine bağlanır ve bunları çeşitli hedef dokulara taşır. *VDBP* gen mutasyonları meydana geldiğinde, hasta yeterli güneş ışığına maruz kalmasına veya D vitamini takviyesi almasına rağmen serum D vitamini düzeyi düşecektir [18]. *VDBP* geninin iki tek nükleotid polimorfizmi (SNP'ler), rs7041 ve rs4588, geniş çapta çalışılmıştır. rs7041'deki GAT→GAG ikamesi, aspartik asidin glutamik aside yol açmasına ve rs4588'deki ACG→AAG ikamesi, Lizin için amino asit treonin değişikliklerine yol açar [18]. Bu iki mutasyon, D vitamini için daha düşük bağlanma kapasitesine sahiptir ve D vitamini eksikliği, otoimmün hastalıkların patofizyolojisi ile ilişkilendirilebilir [18].

VDBP genindeki genetik mutasyonlar talasemi, koroner arter hastalığı gibi birçok farklı hastalıkla ilişkilendirilmiştir [12,19]. *VDBP* geninin diğer birçok hastalığın öncüsü olmasının yanı sıra gende mevcut olan mutasyonun koronavirüs hastası olan bireylerde pankreatit gelişimine de neden olduğu düşünülmekte ve çalışma yürütülmektedir. Vitamin D, spesifik olarak *VDBP*'ye bağlanır. *VDBP* genindeki polimorfizmler nedeniyle dolaşımdaki Vitamin D seviyelerinin dengesi ve vücuttaki aktivitesi değişebilir [20]. Vitamin D seviyesinin dengesizliği de akut pankreatit için önemli bir risk faktörü olan hiperkalsemiye neden olur. Bu sebeple Vitamin D seviyeleri ile akut pankreatit arasında bir ilişki olduğu ileri sürülmektedir [20].

rs7041 ve rs4588 lokuslarındaki *VDBP* gen polimorfizmi ile Covid-19 prevalansı ve ölüm oranları arasındaki ilişkinin araştırıldığı bir çalışmada; prevalans ve ölüm oranlarının rs7041 lokusundaki GT genotipi arasında pozitif korelasyon görülürken, yaygınlık ve ölüm oranlarının rs7041 lokusundaki TT genotipi ile arasında negatif korelasyon bulunmuştur [43]. Bununla birlikte prevalans ve ölüm oranları ile rs4588 lokusundaki polimorfizm arasında anlamlı bir korelasyon bulunamamıştır [43]. *VDBP* geninin tüm ekzonları şekil 2.7 ve 2.8' verilmiştir.

Nucleotide Sequence (1425 nt):

ATGAAGAGGGTCTGGTACTACTGCTTGCTGGCATTGGACATGCTTTAGAGAGAGGCCGGGATTATG
 AAAAGAATAAAGTCTGCAAGGAATTCTCCCATCTGGGAAAGGAGGACTTCACATCTCTGTCAGTACTGCT
 GTACAGTAGAAAAATTTCCAGTGGCACGTTTGAACAGGTGAGCCAACTTGTGAAGGAAGTTGTCTCCTTG
 ACCGAAGCCTGCTGTGCGGAAGGGGCTGACCCTGACTGCTATGACACCAGGACCTCAGCACTGTCTGCCA
 AGTCTGTGAAAGTAATTCTCCATTCCCCGTTACCCAGGCACTGCTGAGTGTGCACCAAAGAGGGCCT
 GGAACGAAAGCTCTGCATGGCTGCTCTGAAACACCAGCCACAGGAATCCCTACCTACGTGGAACCCACA
 AATGATGAAATCTGTGAGGCGTTTCAGGAAAGATCCAAAGGAATATGCTAATCAATTTATGTGGGAATATT
 CCACTAATTACGGACAAGCTCCTCTGTCACTTTTAGTCAGTTACACCAAGAGTTATCTTTCTATGGTAGG
 GTCCTGCTGTACCTCTGCAAGCCCACTGTATGCTTTTGAAGAGAGAGACTCCAGCTTAAACATTTATCA
 CTCTCACCACCTCTGTCAAATAGAGTCTGCTCACAATATGCTGCTTATGGGGAGAAGAAATCAAGGCTCA
 GCAATCTCATAAAGTTAGCCCAAAAGTGCCTACTGCTGATCTGGAGGATGTTTTGCCACTAGCTGAAGA
 TATTACTAACATCCTCTCCAAATGCTGTGAGTCTGCCTCTGAAGATTGCATGGCCAAAGAGCTGCCTGAA
 CACACAGTAAAGCTCTGTGACAATTTATCCACAAGAATTCTAAGTTTGAAGACTGTTGTCAAGAAAAA
 CAGCCATGGACGTTTTGTGTGCACTTACTTCATGCCAGCTGCCCACTCCCCGAGCTTCCAGATGTAGA
 GTTGCCCAACAACAAAGATGTGTGTGATCCAGGAAACACCAAGTCATGGATAAGTATACATTTGAACTA
 AGCAGAAGGACTCATCTTCCGGAAGTATTCCTCAGTAAGGTAAGTCTGAGCCAACCTAAAAAGCCTTGGTG
 AATGCTGTGATGTTGAAGACTCACTACCTGTTTTAATGCTAAGGGCCCTCTACTAAAGAAGGAACATC
 TTCTTTTATTGACAAGGGACAAGAACTATGTGCAGATTATTAGAAAAATACATTTACTGAGTACAAGAAA
 AAGTGGCAGAGCGACTAAAAGCAAAATGCTGTATGCCACACCCACGGAAGTGGCAAGCTGGTTAACA
 AGCACTCAGACTTTGCCTCCAAGTGTGTCCATAAACTCACCTCCTCTTACTGTGATTGAGAGATTGA
 TGCTGAATTGAAGAATATCCTGTAG

Şekil 2.7 *VDBP* geni sekans hizalama. Mavi vurgulama; alternatif ekzonları gösterir.

Nucleotide Sequence (1482 nt):

ATGCTGTGGTCTTGGAGTGAGGAGAGAGGAGGTGCTGCAAGACTCTCTGGTAGAAAAATGAAGAGGGTCC
 TGGTACTACTGCTTGGTGGCATTGGACATGCTTTAGAGAGAGGCCGGGATTATGAAAAGAATAAAGT
 CTGCAAGGAATTTCTCCATCTGGGAAAGGAGGACTTCACATCTCTGTCAGTACTGCTGTACAGTAGAAAA
 TTTCCAGTGGCACGTTTGAACAGGTGAGCCAACTTGTGAAGGAAGTTGTCTCCTTGACCGAAGCCTGCT
 GTGCGGAAGGGGCTGACCCTGACTGCTATGACACCAGGACCTCAGCACTGTCTGCCAAGTCTGTGAAAG
 TAATTCTCCATTCCCCGTTACCCAGGCACTGCTGAGTGTGCACCAAAGAGGGCCTGGAACGAAAGCTC
 TGCATGGCTGCTCTGAAACACCAGCCACAGGAATCCCTACCTACGTGGAACCCACAAATGATGAAATCT
 GTGAGGCGTTCAGGAAAGATCCAAAGGAATATGCTAATCAATTTATGTGGGAATATTCCACTAATTACGG
 ACAAGCTCCTCTGTCACTTTTAGTCAGTTACACCAAGAGTTATCTTTCTATGGTAGGGTCTGCTGTACC
 TCTGCAAGCCCAACTGTATGCTTTTTGAAGAGAGAGACTCCAGCTTAAACATTTATCACTTCTCACCCTC
 TGTCAAATAGAGTCTGCTCACAATATGCTGCTTATGGGGAGAAGAAATCAAGGCTCAGCAATCTCATAAA
 GTTAGCCCCAAAAGTGCCCTACTGCTGATCTGGAGGATGTTTTGCCACTAGCTGAAGATATTACTAACATC
 CTCTCCAAATGCTGTGAGTCTGCCTCTGAAGATTGCATGGCCAAAGAGCTGCCTGAACACACAGTAAAC
 TCTGTGACAATTTATCCACAAGAATTCTAAGTTTGAAGACTGTTGTCAAGAAAAAACAGCCATGGACGT
 TTTTGTGTGCACTTACTTTCATGCCAGCTGCCAACTCCCCGAGCTTCCAGATGTAGAGTTGCCCAACAAC
 AAAGATGTGTGATCCAGGAAACACCAAGTCATGGATAAGTATACATTTGAACTAAGCAGAAGGACTC
 ATCTTCCGGAAGTATTCTCAGTAAGGTACTTGAGCCAACCTAAAAAGCCTTGGTGAATGCTGTGATGT
 TGAAGACTCAACTACCTGTTTTAATGCTAAGGGCCCTCTACTAAAGAAGGAAGTATCTTCTTTCATTGAC
 AAGGGACAAGAACTATGTGCAGATTATTAGAAAAATACATTTACTGAGTACAAGAAAAAAGTGGCAGAGC
 GACTAAAAGCAAAATGCTGTATGCCACACCCACGGAAGTGGCAAGCTGGTTAACAAGCACTCAGACTT
 TGCTCCAAGTGTGTTCCATAAACTCACCTCCTCTTACTGTGATTGAGAGATTGATGCTGAATTGAAG
 AATATCCTGTAG

Şekil 2.8 *VDBP* geni sekans hizalama. Mavi vurgulama; alternatif ekzonları gösterir.

2021 yılında yapılan başka bir araştırmada Covid-19 ve pankreatit arasındaki ilişki incelenmiş ve sonuç olarak Covid-19 'un çoğunlukla potansiyel hafif pankreas

hasarlanmaları, klinik olarak komplikasyonsuz hafif–orta pankreatit bulguları ile ortaya çıktığı görülmüştür (44). Ayrıca Covid-19 hastalarında pankreas enzimlerindeki artış giderek daha fazla tanınmaktadır. Ancak bu popülasyonda akut pankreatitin gerçek prevalansı hakkında çok az şey bilindiği öne sürülmektedir (44).

2021 yılında yapılmış başka bir araştırmada da SARS-CoV-2 virüsünün pankreas hasarının mekanizması henüz bilinmemekle birlikte pankreatite neden olan virüsün konakçı hücrelere girişi ACE2 reseptörleri aracılığı ile olduğu; pankreasın ekzokrin bezleri ve adacık hücrelerinde ACE2'nin mRNA düzeylerinin, akciğer alveoler epitel hücrelerinden daha güçlü bir şekilde ifade edilmesi nedeniyle pankreas SARS-CoV-2 enfeksiyonu için potansiyel bir hedef olabileceğinden bahsedilmiştir (45). Sonuç olarak pandemi sürecinde akut pankreatit vakalarında SARS-COV-2 araştırılmalı ve SARS-COV-2 enfeksiyonu olan hastalarda karın ağrısı semptomu geliştiğinde amilaz ve lipaz düzeylerinin bakılması gerektiğine değinilmiştir (45).

3. MATERİYAL METOD

3.1. Çalışmanın Yapıldığı Yer ve Örneklem Seçimi

Bu çalışma Amasya Sabuncuoğlu Şerefeddin Eğitim ve Araştırma Hastanesinde yatan koronavirüs teşhisi almış 233 hastanın periferik kan örnekleri üzerinden yürütülmüştür. Çalışmada koronavirüs hastası olan kişilerin klinik verileri değerlendirilmiş ve uzmanların görüşleri dikkate alınarak hem koronavirüs hastası hem de pankreatit olduğunu gösteren parametrelere bakılarak pankreas tutulumu gösteren 120 hasta birey, hasta grubunun içine dahil edilmiştir. Tüm hasta grubunun içerisinde pankreas tutulumu göstermeyen 113 koronavirüs hastası ise kontrol grubuna dahil edilmiştir. Çalışma tüm hastalardan rutin incelemelerin yapılması amacıyla alınan kan örnekleri üzerinden yürütülmüştür. Koronavirüs hastalığı için rutin uygulamada; koronavirüs hastalığı şüphesi ile hastaneye başvuran hastaların nazofarenksinden alınan sürüntü örnekleri üzerine RT-PCR işlemi uygulanmaktadır ve hastalara akciğer grafisi görüntüleme yöntemi uygulanmaktadır. Akciğer grafisi, RT-PCR testi ve biyokimyasal parametrelere bakılarak kişilere Covid-19 teşhisi konmaktadır. Bu çalışmada, uygulanan bu rutin süreçte, hastalardan biyokimyasal tetkikler için alınan ve imha edilmek üzere saklanan kan örnekleri üzerinden çalışmamız yürütülmüştür. Hastalardan ek olarak kan örneği alınmamıştır. Bu çalışma, Amasya Üniversitesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından (07.10.2021/144) onaylanmıştır. Hasta ve kontrol grubunun araştırmaya dahil edilme kriterleri tablo 2.5’te verilmiştir.

Tablo 2.5 Hasta ve kontrol grubunun araştırmaya dahil edilme kriterleri

Gönlülerin niteliği	Covid-19 teşhisi alan hastalar
Hasta grubu	120
Kontrol grubu	113
Çalışmaya dahil edilme kriterleri:	Hasta grubu: Amasya Üniversitesi Sabuncuoğlu Şerefeddin Eğitim ve Araştırma Hastanesinde yatan, Covid-19 teşhisi olan ve pankreatit tablosuna sahip olan hastalar
	Kontrol grubu: Amasya Üniversitesi Sabuncuoğlu Şerefeddin Eğitim ve Araştırma Hastanesinde yatan Covid-19 teşhisi alan hastalar

3.2. Yapılacak Testler/Laboratuvar Tetkikleri ve Müdahaleler

Rutin tetkikler için daha önce alınmış olan Biyokimya laboratuvarındaki dondurulmuş kan örneklerinden DNA eldesi gerçekleştirilmiş ve ardından sırasıyla; polimeraz zincir reaksiyonu ve restriksiyon fragment uzunluk polimorfizmi teknikleri uygulanmıştır. Söz konusu teknikler aşağıda yer verilen başlıkların altında ayrıntılı olarak anlatılmıştır.

3.3. Çalışma Verilerinin Toplanması ve Verilerin Kaydedilmesi

Çalışmada incelenen örneklerle ait tanımlayıcı veriler, araştırmada araştırmacı olarak yer alan Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji AD. Ve İç Hastalıkları AD. uzmanları tarafından çalışmaya dahil edilmiştir.

Araştırmayı planlayan ekip rutin olarak; Covid-19 Real-Time PCR testlerinin yapılması, hastaların klinik değerlendirmelerinin yapılması, hastaların akciğer tomografilerinin değerlendirilmesi, biyokimyasal incelemelerin yapılması ile hastaların tedavi ve takiplerinin yapılması işlemlerini yürütmektedir. Bu açıdan bakıldığında Covid-19 tanısı konma süreçlerinde yer alan ve emek harcayan personel çalışmanın içerisinde bulunmaktadır.

3.4. Örneklem Büyüklüğü

Hasta ve kontrol grubuna dahil edilmesi gereken örneklem büyüklüğünü hesaplamak amacıyla G*Power istatistik analiz programı kullanılmıştır. Gerekli veriler daha önce ilgili genlerle yapılan araştırmalarda elde edilen oranlar üzerinden belirlenmiştir. Buna göre effect size 0,314 olarak belirlenmiş olup, alfa hata: 0,05; 1-beta: 0,95; Df:5 olarak kullanılmıştır. Yapılacak ki-kare istatistik analizinde iki grup oranları arasında fark bulunabilmesi için çalışmaya dahil edilmesi gereken minimum total örneklem sayısı 200 olarak belirlenmiştir. Bu örneklem sayısı hasta grubunda 100, kontrol grubunda ise 100 olacak şekilde düzenlenmiştir.

3.5. Çalışmada Kullanılan Cihazlar ve Sarf Malzemeler

Bu araştırmada hassas terazi, vorteks, santrifuj, otoklav, derin dondurucu (-80°C), otomatik pipetler, steril kabin, elektroforez cihazı, ısı bloğu, görüntüleme sistemi, mikrodalga fırın, ısıtma tablalı karıştırıcı ve Polimeraz Zincir Reaksiyonu cihazı kullanılmıştır. İşlemler sırasında kullanılan malzemeler;

- vorteks cihazları, İka Vorteks 4 digital ve Biocota;
- santrifüj cihazı, Mikro 120, HettichZentrifugen;
- ısıtma işlemler, ThermoBATHFinepcr, ALB128 ve Samsung Mikrodalga Fırın;
- sterilizasyon işlemleri, Otoklav Nüve Steamart ot40l;
- derin dondurucu,Thermoscientific 88000 series;
- pipetler, Brand 100 µL ve 1000 µL;
- PCR ve RFLP işlemi, Thermo Px2 ThermalCycler;
- Isıtma/karıştırma işlemleri, Biosan TS-100C Thermo-Shaker;
- santrifüjcihazları, İsolab Mikro ve BeckmanCoulterMicrofuge 16 Mikro;
- tartı, Mettler Toledo Hassas Terazi;
- görüntüleme cihazı, BioradChemidocMpİmaginSystem;
- elektroforez cihazı, CleavarScientific;
- DNA izolasyon kiti, GeneAll;
- Elektroforez ve görüntüleme sırasında kullanılan jel için,Merc-Sigma Aldrich EDTA, Sigma Etidyum Bromür, Vwr Life SciencesTriss ve Carlo Eba Borik Asit;
- PCR işlemi sırasında, SimplyAgaroz tozu, A.B.T. yükleme solüsyonu, Mix 10 mM dNTP, ThermoscientificTaq Polimeraz, ThermoscientificBuffer, Oligomer *VDBP*-R ve Oligomer *VDBP*-F primerleri;
- RFLP işlemi sırasında, HaeIII^{EURx}MolecularBiologyProducts (*VDBP*) (0.5µL) kesim enzimi ve Buffer şeklinde sıralanabilir.

3.6. DNA İzolasyon Aşamaları

Amasya Sabuncuoğlu Şerefeddin Eğitim ve Araştırma Hastanesinde Hastalardan rutin kontrol için daha önceden alınıp biyokimyasal tetkikler tamamlandıktan sonra saklanan kan örnekleriizolasyon aşamaları başlayana kadar Amasya Üniversitesi Merkezi Laboratuvarında -80 °C de saklanmıştır. İzolasyon aşamasına başlamadan önce -80 °C de saklanan kanlar +4 °C ye alınmış daha sonra oda sıcaklığına gelmesi için buzdolabı dışında bekletilmiştir.

İzolasyon aşamasına başlamadan önce kullanılacak çözeltiler (Proteinaz K, Buffer BL, Buffer TW) hazırlanmıştır.

Proteinaz K çözeltisini hazırlamak için kutuya 6 ml PK storagebuffer eklendi, çözünmesi beklendi ve kullanıma hazır hale getirilmiştir. (Daha sonra kullanmak için +4 derecede saklanır).

BufferBL'nin kutu içerisinde 90 ml Buffer sıvısı bulunmaktadır. 200 ml'ye tamamlamak için 110 ml etanol eklenmiş ve kullanıma hazır hale getirilmiştir (Sonra kullanmak için oda sıcaklığında saklanır).

BufferTW'nin kutu içerisinde 50 ml sıvısı bulunmaktadır. 250 ml'ye tamamlamak için 200 ml etanol eklenmiş ve kullanıma hazır hale getirilmiştir (Sonra kullanılmak üzere oda sıcaklığında saklanır).

DNA izolasyon aşamasına başlamadan önce vorteks cihazı, santrifüj cihazı açılmıştır. Thermobath 56°C dereceye ayarlanmış, kabin temizlenmiştir.

Önceden hazırlanmış olan Proteinaz K kabine alınmış ve 25 tane Eppendorf tüpü hazırlanmış, kapakları kapatılmış, protokol numaraları yazılmıştır.

Tüplerin kapakları açılmış, her tüpe 20 µl Proteinaz K koyulmuştur (tek sarı pipet ucuyla). Proteinaz K ile iş bittiğinde +4°C'e kaldırılmıştır.

Tüplerin üzerine 200 µl kan örneği eklenmiştir (her kan için ayrı sarı pipet ucu kullanılmış, 100+100 µl şeklinde eklenmiş, kanın karışması için sonuncuyu ekleyince pipetaj yapılmıştır).

Numunelerden örnekler alındıktan sonra geriye kalan kan numuneleri +4°C'e kaldırılmıştır.

Tüplerde bulunan karışımın üzerine 200 µl Buffer BL eklenmiştir (100+100 µl şeklinde, sarı uçlu pipetle, kanlara değdirmeden tüplere eklenmiş, değdiğinde uç değiştirilmiştir).

Eppendorf tüplerinin kapakları kapatılmış, vortekste 3000 rpm'de yaklaşık 10 sn karıştırılmıştır (Kapakların açılmamasına ve hepsinin aynı sürede karışmasına dikkat edilmiştir).

Karışımlar vorteksten sonra 56°C de 10 dk ısıtılmıştır. Kanlar ısınırken DNA Ekstraksiyon Kiti içerisinde çıkan GeneAmp marka TYPE G tüpleri hazırlanmış, yeşil kısımlara protokol numaraları yazılmış ve çalışmaya hazır hale getirilmiştir.

Isıtıcıdan çıkan tüplerin tamamının kapakları açılmıştır. Her birine 200 µl etanol eklenmiştir. (100+100 µl şeklinde, sarı pipetle, kanlara değdirmeden eklenmiş, değdiğinde kullanılan uç yenisi ile değiştirilmiştir). Bu aşamada DNA gözle görülebilmektedir.

Tüplerin kapakları kapatılmıştır. 3000 drpm'de yaklaşık 10 sn vortekste karıştırılmıştır.

Vorteksten alınan tüpler pipet yardımı ile TYPE G tüplerine aktarılmıştır. (Kanları tüplere aktarırken mümkün oldukça köpürtmemeye dikkat edilmiştir).

Tüplerin kapağı kapatılmış ve 2 dk boyunca 10 000 rpm'de santifüj edilmiştir.

Santrifüjden sonra tüpler kabine getirilmiştir. Altta kalan, atık geçen şeffaf tüpler çöpe atılmış ve yeşil filtreli kısmın altına yeni şeffaf tüp takılmıştır.

Tüplerin kapakları açılmış, üzerlerine 600 µl Buffer BW eklenmiş ve kapaklar kapatılmıştır.

Tüpler 10 000 rpm'de 2 dk santrifüj edilmiştir. Santrifüj yapılırken diğer Eppendorf tüpleri hazırlanmış ve protokol numaraları yan kısımlarına yazılmıştır.

Santrifüjden çıkan TYPE G tüplerinin altta kalan şeffaf kısımları çöpe atılmış ve yerine yeni şeffaf tüp takılmıştır.

Tüplerin üzerine 700 µl Buffer TW eklenmiş ve kapakları kapatılmıştır. Ardından 10 000 rpm'de 2 dakika santrifüj edilmiştir.

Alta geçen atıklar çöpe dökülmüş, aynı şeffaf tüpün baş kısmı kurulanıp tekrardan yeşil tüpün altına takılmıştır. 14 000 rpm'de 2 dk santrifüj edilmiştir. Bu aşama son temizleme aşamasıdır.

Yeşil tüpler protokol numarası verilen eppendorf tüplerine yerleştirilmiştir. Alttaki şeffaf kısımlar çöpe atılmıştır.

Ardından tüplere 150 µl Buffer AE eklenmiştir. (75+75 şeklinde sarı pipet ucuyla örneklerin tam ortasına konulmuştur).

Tüpleri santrifüj cihazına koyarken kapaklar ortaya gelecek şekilde dizilmiştir. 14000 rpm'de 2 dk santrifüj edilmiştir.

Santrifüj işleminden sonra yeşil tüpler çöpe atılmıştır, şeffaf kısmın kapakları kapatılmış ve -20 °C'ye kaldırılmıştır (Santrifüjde kırılan kapak olduğu takdirde içerisindeki sıvı sarı pipetle çekilerek yeni eppendorf tüpüne aktarılmış, tüpe protokol numarası yazılmıştır). Bir süre -20 °C de saklanan örnekler için izolasyon aşamasına geçilmiştir.

3.7. PCR ve Genotip İzlem Aşaması

İzole edilen DNA'ların PCR ve RFLP analizleri 19 Mayıs Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı Laboratuvarında gerçekleştirilmiştir. PCR ve görüntüleme aşamaları için bir ön hazırlık yapılmış ve çalışmaya başlanmıştır.

0.5M'lik EDTA: 250 ml distile edilmiş su içinde 46,53 gr EDTA çözülmüş ve pH'ı sodyum hidroksit yardımıyla 8.0'e ayarlanmıştır. Ardından otoklav ile steril hale getirilmiştir. Kullanıma hazır hale gelen solüsyon daha sonra kullanılmak üzere oda sıcaklığında saklanmıştır.

1x Yoğunluklu Trisedta Solüsyonu: Elektroforez cihazı kullanılarak DNA'ların elektroforezi işlemi için jel yapımında ve elektroforez tankı tabanında kullanılmak üzere Trisedta solüsyonu hazırlanmıştır. 54 gram Trizma Base, 27,5 gram borik asit, 20 mililitre 0,5M'lik edta, 1 litre distile su, erlene eklenmiş ve 1 saat manyetik karıştırıcıda karıştırılmıştır. Bu işlemin sonucunda stok Trisedta solüsyonu (5x yoğunluklu) elde edilmiştir. Elektroforez tankı tabanında ve jel yapımında kullanılacak olan 200 ml 5x yoğunluklu stok Trisedta solüsyonu 800 ml distile su ile seyreltilerek yoğunluk 1x'e düşürülmüştür.

Agaroz Jel hazırlama: 100 ml 1x yoğunluklu trisedta solüsyonuna, önceden tartılmış 2,5 gr agaroz eklenmiştir. Agaroz deniz yosunundan elde edilen bir şeker molekül zinciridir. Daha sonra erlenmayerde mümkün olduğu kadar homojen olacak şekilde çalkalanarak karıştırılmış ve agaroz eriyip homojen şekilde dağılana kadar mikrodalga fırında (800 watt, 2 dk) ısıtılmıştır. Mikrodalga fırından çıkartılan karışım 55-60°C'ye düşmesi beklendikten sonra 7 ml etilyum bromür eklenmiştir ve karışım erlenmayerde çalkalanmıştır. Etidyum bromür, nükleik asitlerin bazları arasına bağlanarak DNA fragmentlerinin jelde saptanmalarını sağlayan florasan boyadır ve kanserojendir. Oluşan karışım jelin baş kısımlarında kuyular oluşturacak şekilde özel olarak tarak bulunan agaroz jel kabına dökülmüştür. Agaroz jel kabındaki jel +4°C'de donduktan sonra kabta bulunan taraklar dikkatlice uzaklaştırılmış ve jel kaptan alınmıştır. Böylece agaroz jel görüntüleme için kullanıma hazır hale gelmiştir.

3.8. Primerlerin Hazırlanması

Kurutulmuş olarak teslim alınan sentetik primerler stok haline getirebilmek için VDBP-front için 100 mikromol stok oluşturabilmek için 397 mikrolitre steril su eklenmiştir.

VDBP-revers için 100 mikromol stok oluşturabilmek için 410 mikromol su steril su eklenmiştir.

Kısa süre santrifüj edilmiştir. Daha sonra 37 °C ve 400 rpm’de 30 dk thermoshacker cihazına koyulmuştur. Kullanıma hazır hale gelen stok primerler kullanılmak üzere +4 °C’ye kaldırılmıştır.

3.9. Mix dNTP Hazırlama ve PCRAşaması

-20 °C’de saklanan, daha önceden periferik kandan elde edilen DNA örnekleri kullanılmak üzere oda sıcaklığına gelene kadar bekletilmiştir. PCR aşamasında kullanılacak olan sterileppendorf tüplerine protokol numaraları verilmiştir.

20 mikrolitre stok primer 180 mikrolitre steril su ile seyreltilerek hem *VDBP*-front hem de *VDBP*-revers %10’luk konsantrasyona getirilmiştir.

10 mikrolitre dATP, 10 mikrolitre dTTP, 10 mikrolitre dGTP ve 10 mikrolitre dCTPeppendorf tüpüne konulmuştur ve üzerine 60 mikrolitre steril su eklenmiştir.

Kısa süre santrifüz edilmiştir. Konsantrasyonu %10, hacmi 100 mikrolitre olan mix dNTP karışımı elde edilmiştir.

5 mikrolitre *VDBP*-r, 5mikrolitre*VDBP*-f, 199 mikrolitre steril su, 1 mikrolitre Taq polimeraz, 25mikrolitre Taq polimeraz bufferı ve 5 mikrolitre Mix dNTP eppendorf tüpüne koyulmuştur. Tüpler kısa süre santrifüj edilmiştir.

Daha önceden protokol numarası verilerek hazırlanan eppendorftüperine önce 25 mikrolitre hazırlanan karışım eklenmiştir.

Daha sonra karışımın üzerine 2 mikrolitre DNA eklenmiştir. Toplamda her eppendorf tüpünün içerisinde 25mikrolitrelik bir karışım olmuştur.

Tüper kısa süre mini santrifüz cihazında santrifüz edilmiştir. Daha sonra PCR için belirlenen protokolde uygulanmak üzere thermoshacker’adizilmiştir.

PCR protokolü; 1 döngü 94°C’de 5 dk ile denatürasyon, 36 döngü 94°C’de 45 sn ile denatürasyon, 36 döngü 51 °C’de 45 sn ile primer bağlanma, 36 döngü 72 °C’de 45 sn ile uzama ve en son 1 döngü 72 °C’de 7 dk ile tamamlanma şeklinde belirlenmiştir. PCR aşamasında uygulanacak protokol tablo 3.1’de verilmiştir.

Tablo 3.1PCR aşamasında uygulanan protokol.

AŞAMA	PCR SICAKLIĞI	İNKÜBASYON SÜRESİ	DÖNGÜ SAYISI
-------	---------------	-------------------	--------------

1. aşama	94 derece	5 dk	1 siklus
2. aşama	94	45 sn	36 siklus
	51	45 sn	
	72	45 sn	
3. aşama	72 derece	7 dk	1 siklus
Soğuma aşaması	4 derece	16 dk	

3.10. Jel Elektroforezi

PCR yapılan DNA'lar thermoshacker'dan çıkarılmıştır.

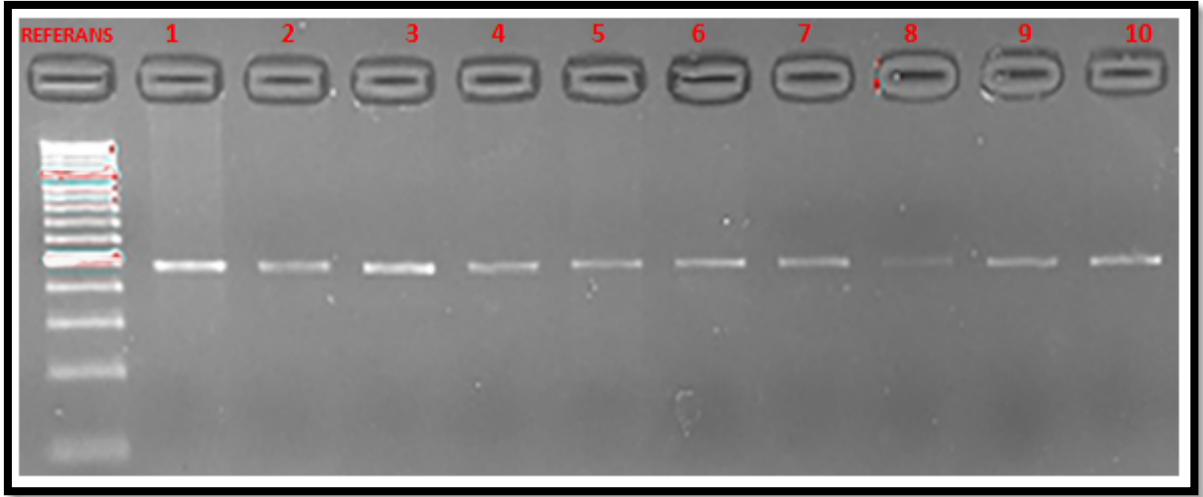
Hazırlanan jel +4 dereceden alınıp elektroforez tankına koyulmuştur. Tankın içindeki sıvı 1x yoğunluktaki trisedta solüsyonudur.

2 mikrolitre yükleme boyasının üzerine 5 mikrolitre DNA çekilerek pipetaj yapılmış ve jel kuyusuna enjekte edilmiştir.

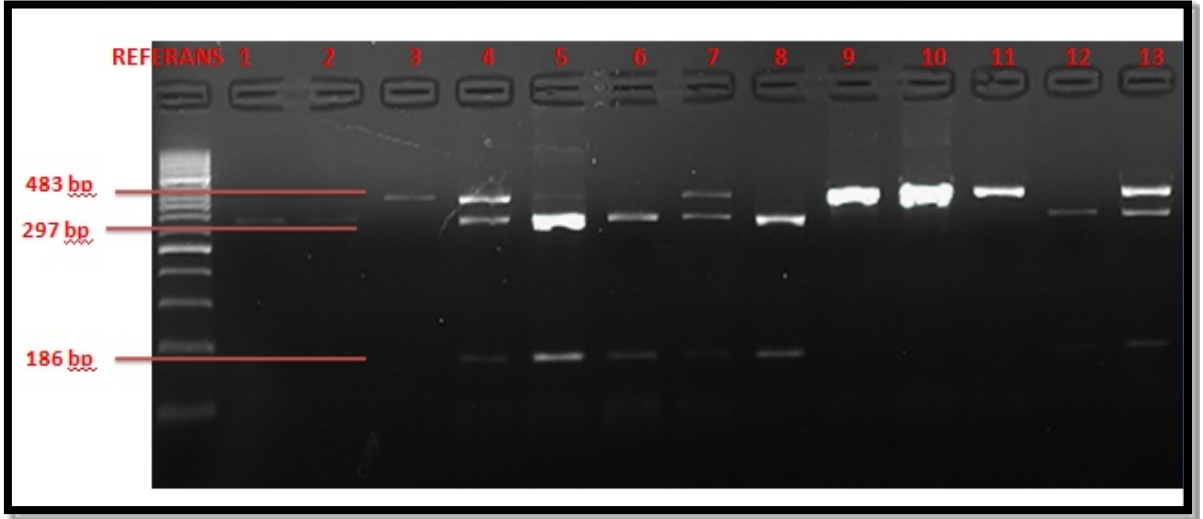
Tüm DNA'lar enjekte edildikten sonra elektroforez işlemi başlatılmıştır. Elektroforez cihazı 140 volt, 400 miliamper ve 20 dk olacak şekilde ayarlanarak çalıştırılmıştır.

Elektroforez işlemi bittikten sonra örnekler jel görüntüleme cihazına alınmış ve cihaz kullanılarak DNA'nın olup olmadığına bakılmıştır. PCR işlemi sonrası agaroz jel görüntüsü şekil 3.1'de verilmiştir.

Amplifikasyon işleminden sonra; 5 µL PCR ürünü, 0,5µL Styl restriksiyon enzimi, 5 µL Buffer ve 9,5 µL steril su karışımı 37 °C'de 12 saat boyunca bekletilerek kesim sağlanmıştır. Kesim sonrasında üç genotip; GG (483 bp), TG (483, 297, 186 bp) ve TT (297, 186 bp) oluşması beklenmiştir. Kesim işleminden sonra PCR ürünlerinin gen bölgelerine ait bantları etidyum bromür içeren %2'lik agaroz jel üzerinde elektroforez cihazı ile görüntülenmiştir. Restriksiyon parça uzunluk polimorfizmi agarozjel görüntüsü Şekil 3.2'de gösterilmiştir.



Şekil 3.1 PCR işlemi sonrası agaroz jel görüntüsü.



Şekil 3.2 RFLP işlemi sonrası agaroz jel görüntüsü. HaeIII kesimi sonucunda sadece 483 bp'lik bir band görülmesi durumunda her iki polimorfik allelin yabancıl tip yani Asp/Asp olduğu tespit edilmiştir. 483, 297 ve 186 bp'lik üç band görülmesi durumunda tam olmayan bir HaeIII kesiminin olduğu ve heterozigot allelin bulunduğu yani Asp/Glu amino asit yapısına sahip olduğu belirlenmiştir. 297 bp'lik ve 186 bp'lik iki bandın görülmesi durumunda tam bir HaeIII kesimi olduğu yani homozigot mutant bir genotipe sahip yani Glu/Glu aminoasit yapısına sahip olduğu tespit edilmiştir.

3.11. İstatistiksel Analiz

Hasta grubu ve kontrol gruplarından elde edilmiş olan tüm veriler SPSS 21.0 istatistik paket programına aktarılmıştır. Programa aktarılan veriler üzerinden planlanan tüm istatistiksel analizler SPSS paket programı ve OpenEpi 3.01 software'den yararlanılarak gerçekleştirilmiştir. Araştırmaya dahil edilen gruplara ait veriler değerlendirilirken frekans ve ortalama gibi tanımlayıcı istatistiksel analizler kullanılmıştır. *VDBP* geni rs7041 varyantının hasta, kontrol ve hasta alt gruplarındaki genotip ve allel dağılımının uygunluğu Ki-Kare (χ^2) testiyle belirlenmiştir. Grup referanslarına göre hasta ve kontrol olarak adlandırılan grupların arasından genotip bazlı Olasılık Oranı (OO) ve %95 güven aralıkları (GA) hesaplanmıştır. Hasta ve kontrol grupları arasında Hardy-Weinberg dengesi testinden yararlanılmıştır. Verilerin anlamlılık ifadesinde 0,05 anlamlılık sınırı dikkate alınmıştır. P değeri için; $p < 0,05$ olan sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

4. BULGULAR

VDBPrs7041 T>G polimorfizminin kontrol ve hasta gruplarındaki genotip dağılımının HardyWeinberg eşitliğine uygunluğu Ki-Kare (χ^2) testi ile belirlenmiştir. rs7041 T>G polimorfizmine ait elde edilen verilerin istatistiksel değerlendirilmesinde “SPSS 16,0 forwindows” paket programı kullanılmıştır. Kategorik karşılaştırmalar için Ki-Kare (χ^2) veya Fisher’in exact testi kullanıldı. $p<0.05$ için sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

Hastaların tanımlayıcı ve klinik verileri Tablo 7’de verilmiştir. Çalışmaya 113 adet kontrol (kadın %43,59, erkek %33,9) ve 120 adet hasta (kadın %38,0/erkek %66,1) olmak üzere toplam 233 birey katılmıştır. Çalışmaya dahil edilen *VDBP* geni hasta grubunun yaş ortalaması $64,73\pm15,32$ yıl, kontrol grubundaki bireylerin yaş ortalaması ise $57,55\pm16,36$ yıl olarak belirlenmiştir. Covid-19 hasta ve kontrol grubunun yaş, cinsiyet, amilaz, lipaz, ferritin ve kalsiyum değerleri tablo 4.1’de verilmiştir.

Tablo 4.1 Covid-19 hasta ve kontrol grubunun yaş, cinsiyet, amilaz, lipaz, ferritin ve kalsiyum değerleri.

Özellikler	Hasta Grubu n=120 (%)	Kontrol Grubu n=113 (%)
Yaş (Ort. $\pm$)	64,73 $\pm$ 15,32	57,55 $\pm$ 16,36
Cinsiyet, Kadın/Erkek, n (%)	46/74(38,0/66,1)	75/38 (43.59/33,9)
Amilaz (Ort. $\pm$)	119,31 $\pm$ 171,65	56,14 $\pm$ 14,99
Lipaz (Ort. $\pm$)	80,86 $\pm$ 99,21	31,49 $\pm$ 9,65
Ferritin (Ort. $\pm$)	530,59 $\pm$ 961,7	117,78 $\pm$ 77,62
Kalsiyum (Ort. $\pm$)	8,60 $\pm$ 0,6	8,69 $\pm$ 0,82

Tablo 4.2’de hasta ve kontrollerde *VDBP* rs7041 T>C polimorfizminin genotip dağılımları verilmektedir. Hasta ve kontroller arasında rs7041 T>C polimorfizmi dağılımlarının karşılaştırılması neticesinde *VDBP* geni genotipleri ve allel frekansları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmıştır ($p<0,05$). Polimeraz zincir reaksiyonu ve restriksiyon parça uzunluk polimorfizmi (PCR-RFLP) işlemleri sonrasında örneklerin agaroz jel görüntüleri Şekil 3.1 ve 3.2’de gösterilmiştir.

Tablo 4.2 Covid-19 hastalarının hasta ve kontrol gruplandırılmasına göre *VDBP* geni *rs7041* bölgesi genotip ve allel frekanslarının dağılımı.

Gen	Hasta n=120 (%)	Kontrol n=113 (%)	p
<i>VDBP</i>			
Genotipler			
G/G	55 (45,8%)	29 (25,7%)	<0.05
T/G	48 (40,0%)	56 (49,6%)	
T/T	17 (14,2%)	28 (24,8%)	
G/G+T/G:T/T	103:17	85:28	
G/G:T/G+T/T	55:65	29:84	
Alleles			
G	158 (65,84%)	114 (50,44%)	
T	82 (34,17%)	112 (49,56%)	

*İstatistiksel olarak anlamlı değerler koyu bir şekilde gösterilmiştir.

Gerçekleştirdiğimiz bu çalışmada koronavirüs hastası olan ve pankreas enzim seviyeleri yüksek gözlenen pankreatitli hastaların (hasta grubu) 4q11-q13 kromozomunda yer alan *VDBP* geni 11. Ekzonda bilinen tekli nükleotid polimorfizmlerinden biri olan *rs7041* varyantında pankreas tutulumu olmayan Covid-19'lu hastalara göre anlamlı bir fark gözlemlenmiştir. Aynı çalışma grubunda amilaz değeri ortalama $119,31 \pm 171,65$ iken sadece koronavirüs hastası olanlarda bu değer $56,14 \pm 14,99$ olarak saptanmıştır.

5. TARTIŞMA

Küresel sağlığa yönelik en son tehdit, yakın zamanda koronavirüs hastalığı 2019 olarak adlandırılan solunum yolu hastalığının devam eden salgınıdır. Koronavirüsler, insanları ve aynı zamanda çok çeşitli hayvanları enfekte eden zarflı, pozitif tek sarmallı büyük RNA virüsleridir [1]. SARS-CoV-2, beta-koronavirüslerin B soyuna aittir ve SARS-CoV virüsü ile yakından ilişkilidir [1]. SARS-CoV-2'nin normal bağışıklık tepkilerini bozarak, Covid-19'lu şiddetli ve kritik hastalarda bağışıklık sisteminin bozulmasına ve kontrolsüz inflamatuvar yanıtlara yol açtığı gösterilmiştir [23]. Semptomları başlıca %98 ateş, %76 öksürük ve %44 yorgunluktur [3,21].

Kronik pankreatitin patofizyolojisi oldukça karmaşıktır ve asiner hücre hasarı, asiner stres tepkileri, kanal disfonksiyonu, kalıcı veya değişmiş inflamasyon ve/veya nöro-immün karışmayı içerir, ancak bu mekanizmalar tam olarak anlaşılmamıştır [28]. Pankreas bezi disfonksiyonu (esas olarak Langerhans adacıklarının kaybı nedeniyle), ekzokrin pankreas yetmezliği (pankreasın ürettiği sindirim enzimlerinin eksikliği, sindirimin bozulmasına neden olur) ve pankreas duktal adenokarsinomu riskinde artış ile gözlenir [28]. Akut pankreatit ise, yüksek komplikasyon oranı ve artmış ölüm riski ile ilişkili inflamatuvar bir durumdur [29]. Akut pankreatitin gelişiminde pankreas asinar hücreleri merkezi rol oynamaktadır. Safra taşı veya alkol gibi tetikleyici faktörler, asinar hücreleri uyararak, sindirim enzimlerinin (tripsinojen, prokarboksipeptidaz A1) aktive olmasına neden olmaktadır. İnce bağırsağa ulaşmadan bu enzimlerin aktive olması anahtar rol oynamaktadır [30]. Akut pankreatit atağı sırasında alanin aminotransferazın >150 IU/L'ye yükselmesi, akut pankreatitin biliyer nedeni için öngörücü bir faktördür [8].

D vitamini doğuştan gelen adaptif bağışıklıkta yer alır ve safra asitlerinin detoksifikasyonunda rol oynar, mikrobiyotanın interstisyuma girişini sınırlayarak bağırsak homeostazında önemli rol oynar ve Treg hücrelerinin oluşumunu destekleyerek ve Th1/Th17 hücrelerini baskılayarak bağışıklık sistemini düzenler [10]. Vitamin D reseptörü (VDR), enzimler ve metabolitler, lenfositler, monositler, makrofajlar ve dendritik hücreler gibi çeşitli bağışıklık hücrelerinde farklı ekspresyon seviyelerine sahiptir [10].

Deride alım veya sentezin ardından, lipofilik inaktif vitamin D, sistemik dolaşım içinde geri dönüşümlü olarak Vitamin D Bağlayıcı Proteine ve daha az oranda albümine bağlanır ve daha sonra 25(OH)D'ye enzimatik dönüşüme uğradığı karaciğere taşınır [42]. VDBP, sistemik dolaşımda D vitamininin yarı ömrünü düzenleyen ana biyolojik parametreyi içerdiğinden, D vitamini homeostazı için çok önemli bir faktör olarak kabul edilir [11,12].

D vitamini bağlayıcı protein ve pankreas kanserini konu edinen bir çalışmada *VDBP* geni ile pankreas kanseri arasında bir ilişki belirlenmemiştir (46). D Vitamini Bağlayıcı Protein ve Kanseri Riskinin araştırıldığı bir çalışmada ise Gc polimorfizmleri rs2282679, rs7041 ve rs4588'in meta-analizi, pankreas kanseri ile anlamlı bir korelasyon belirlenmemiştir (47). Araştırmalar D vitamininin kanser immünoterapisini etkilediğini göstermektedir, örneğin 25-hidroksivitamin D nivolumab (bir çeşit immünoterapi ilacı) konsantrasyonunu etkiler (48). Yapılan bir çalışmada 5-hidroksivitamin D konsantrasyonu, *VDBP* kodlayan genin polimorfizminden etkilendiği ve rs7041 alelinin oluşumu, daha düşük 25-hidroksivitamin D konsantrasyonları ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (48). Başka bir araştırmada Covid-19 teşhisi aldıktan sonra hastaneye yatan hastalarda akut pankreatitin geliştiği ve sonraki ilk günlerde CRP'de bir artışla birlikte 25(OH)D seviyelerinde bir düşüş de gözlenmiştir (49).

Yüksek amilaz ve lipaz seviyeleri ile komorbiditelerin COVID-19'un ciddiyeti ile ilişkisi araştırmak için yapılan bir çalışmada 1378 kişiden 687'sinde (%49,9) hafif, 691'inde (%50,1) ağır Covid-19 enfeksiyonu görülmüştür. 1378 hastanın 316'sında (%23) farklı düzeylerde amilaz yüksekliği görülmüştür (50). Bu hastalarda amilaz seviyeleri 261 hastada bir ila üç kat, 55 hastada ise üç kat arttığı gözlemlenmiştir (50). Atlanta kriterlerine göre bu hastaların sadece altısında (%1.89) pankreatit saptanmıştır (50). Tek değişkenli ve çok değişkenli analizlere göre, yüksek amilaz seviyeleri COVID-19'un ciddiyeti ile anlamlı şekilde ilişkili olduğu görülmüştür (olasılık oranı [OR]: 4.37; $P < .001$) (50). Yapılan başka bir araştırmada COVID-19 hastalarında serum amilaz ve/veya lipazın arttığı ortaya koyulmuştur. Çin'in Wuhan kentinde laboratuvar tarafından doğrulanmış 121 Covid-19 hastasını incelenmiştir (51). 54 hafif vakadan bir hastada (%1.85) artmış serum amilaz ve lipaz olduğunu bildirilmiştir (51). 67 ağır vakanın 12'sinde (%17.91) serum amilazı yükselmiş ve 67 ağır vakanın 11'inde (%16.41) serum lipazı yükselmiş olarak tespit edilmiştir (51). Bir radyolojik çalışmada, pankreasta fokal şişlik veya pankreatik kanalda genişleme olan 67 ağır hastadan sadece 5'i (%7.46) vardır. Pankreas nekrozu olan hasta yoktur (51). Başka bir araştırmada Liu ve arkadaşları tarafından Çin'in Wuhan kentinde 121 adet Covid-19 hastasının verileri incelenmiştir [52]. 54 hafif vakadan 1 hastada (%1.85) serum amilaz ve lipaz artışı olduğu gözlemlenmiş, 67 ağır vakadan 12 hastada (%17.91) serum amilaz artışı görülmüş ve 11 hastada (%16.41) serum lipaz artışı olduğu gözlemlenmiştir [52]. McNabb-Baltar ve arkadaşları, Liu F. ve arkadaşları, Barlass ve arkadaşlarının gerçekleştirmiş olduğu çalışmalarda ulaşılan verilere göre de 91 adet ağır

Covid-19 hastasının %22'lik bir kısmında pankreas anormallikleritespit edilmiştir[53, 54, 55].Bruna ve arkadaşlarının gerçekleştirdiği bir çalışmada hastanede yatan 70Covid-19 hastasının %8,5'inde pankreas anormalliklerinin olduğu tespit edilmiştir [55].Wang ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada Çin'in Wuhan kentinde 52 Covid-19 hastası incelenmiş, bu hastaların 9 tanesinde (%17,3) serum lipaz ve/veya amilaz artışı tespit etmişlerdir [56].Amerika'nın Chicago eyaletinde Barlass ve arkadaşlarının yürüttüğü bir araştırmada 83 Covid-19 hastasını serum lipaz seviyesi açısından denetlemiş ve bu hastaların 14'ünde (%16,8) serum lipaz seviyesinin normalin üst sınırın üç katından daha fazla bulunduğu tespit edilmiştir [57].İspanya'da 50 farklıhastaneyi içine alan bir çalışmada; acil servise korona virüs enfeksiyonu sebebiyle başvuran 63 822 hastada akut pankreatit tablosu görülmüştür. Covid-19'lu hastalarda pankreatit insidansı bu çalışmada % 0.07 olarak saptanmıştır [58]. Başka bir araştırmada Mumbai'de bir hastanede 176 adet Covid-19 hastanın 57'sinde (%32,4) ise serum amilazın ve 101'inde (%57,4) serum lipaz seviyesinin yükseldiği tespit edilmiştir [59]. Başka bir çalışmada; hastaneye Covid-19 enfeksiyonunedeniyle yatan hastaların yaklaşık %20'sinde serum lipaz ve amilaz değerlerinde dalgalanmalar olduğu görülmüştür [49]. Gözlenlenen bu anormal durumun pankreas hasarını gösterdiği bilinmektedir ve hatta pankreatite neden olabileceği düşünülmüştür [49]. Retrospektif çalışmada ABD'de 12 hastanede yatan yaklaşık 11 000 Covid-19 hastası analiz edilmiş ve 32 hastada (%0,27) akut pankreatit olduğu belirlenmiştir [60]. Başka bir çalışmadakorona virüs hastalarında pankreas tutulumu ve akut pankreatit insidansında artışın olduğu bildirilmesi üzerine 94 çalışma incelenmiş ve Covid-19 hastalarının %17'sinde pankreas tutulumu gözlemlenmiştir. Buna ek olarak, bu hastaların %1,8-2,0'sinde akut pankreatit oluşumun gözlemlendiği sonucuna varılmıştır [61]. Covid-19'un akut pankreatit gelişimine sebep olduğu tablo ortaya atılmakla birlikte akut pankreatite sahip olan bireylerde de Covid-19 prevalansının akut pankreatite sahip olamayan bireylere göre daha yüksek olabileceği ileri sürülmektedir [62]. Açık patogenezi bilinmeyen SARS-CoV-2 replikasyonunun doğrudan ve/veya dolaylı olarak akut pankreatite oluşumuna neden olabileceği veya akut pankreatitin oluşumunu hızlandırabileceği düşünülmektedir [56,63]Bu durumla ilgili olarak farklı hipotezler bulunmaktadır.

Virüslerin replikasyonunun neden olduğu sitopatiktokilden kaynaklanan viral tutulum AP'e sebep olduğu düşünülmektedir [64-66]. Ayrıca dolaylı yoldan virüsün nyol açtığı zararlı bağışıklık tepkisinin de AP'e sebep olduğu düşünülmektedir [64-66]. Covid-19 tedavisinde kullanılan ritonavir, lopinavir, barisitinib, tosilizumab gibi bazı ilaçların ve özel

olarak antipiretik ilaçların nadir de olsa pankreatit oluşturabileceği sebep ileri sürülmüştür [64, 66, 67].

Son yıllarda akut pankreatitin önde gelen nedenlerinden hipertrigliseridemi olmuştur [68]. Buna ek olarak Covid-19 vakalarında hiperlipidemiye görülme oranının yüksek olduğu görülmüştür [68]. Bu sebeple hiperlipideminin, korona virüs hastalarında AP'ye sebep olabileceği düşünülmektedir [68]. Covid-19 enfeksiyonunda gelişen kompleman sistemi aktivasyonu, pankreatik enzim aktivasyonu, mikrosirkülasyon bozukluğu, pankreas asiner hücre apoptozu, lökosit aşırı aktivasyonu ve pankreas asiner hücre nekrozunun da AP gelişimine veya pankreas hasarına sebep olabileceği öne sürülmüştür [69].

VDBP geni 4q11-q13 kromozomunda yer alır ve *VDBP* geninin 11. ekonunda bilinen iki adet tekli nükleotid polimorfizmi (SNP) rs4588 ve rs7041; ve üç izotipi (DBP1F, DBP1S ve DBP2) bulunmaktadır [14-17]. *VDBP* geninin diğer birçok hastalığın öncüsü olmasının yanı sıra gende mevcut olan mutasyonun koronavirüs hastası olan bireylerde pankreatit gelişimine de neden olduğu düşünülmekte ve çalışma yürütülmektedir [42]. Vitamin D, spesifik olarak *VDBP*'ye bağlanır [42]. *VDBP* genindeki polimorfizmler nedeniyle dolaşımdaki Vitamin D seviyelerinin dengesi ve vücuttaki aktivitesi değişebilir [42]. rs7041 ve rs4588 lokuslarındaki *VDBP* gen polimorfizmi ile Covid-19 prevalansı ve ölüm oranları arasındaki ilişkinin araştırıldığı bir çalışmada; prevalans ve ölüm oranlarının rs7041 lokusundaki GT genotipi arasında pozitif korelasyon görülürken, yaygınlık ve ölüm oranlarının rs7041 lokusundaki TT genotipi ile arasında negatif korelasyon bulunmuştur [43]. Bizim çalışmamızda rs7041 varyantı için 416 için 483 bp'lik 57904 T>G mutasyonu istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p=0.004$). Hem koronavirüs hastası hem de pankreatit olan hastaları yaş ortalaması $64,73 \pm 15,32$ yıl olarak tespit edilmiştir. Hem koronavirüs hem de pankreatit teşhisi alan hastaların lipaz değerleri $80,86 \pm 99,21$ iken, kontrol grubunun lipaz değeri $31,49 \pm 9,65$ olarak tespit edilmiştir. Hasta grubunun lipaz değerleri normal değerlerin üzerindedir. Aynı çalışma grubunda amilaz değeri ortalama $119,31 \pm 171,65$ iken sadece koronavirüs hastası olanlarda bu değer $56,14 \pm 14,99$ olarak saptanmıştır. Yani hasta grubunun amilaz değerleri ortalamanın üzerinde gözlemlenmiştir. Covid-19 teşhisli hastalarda rs7041 lokusundaki *VDBP* gen polimorfizmi ile pankreatit prevalansı arasında pozitif korelasyon görülmüştür.

6. SONUÇ

Gerçekleştirdiğimiz çalışmada elde edilen bulgular göz önünde bulundurduğumuzda Covid-19 teşhisi alan hastaların pankreas enzim seviyeleri yüksek olanlarda *VDBP* geninde (rs7041 varyantı) T>G mutasyonunun varlığı tespit edilmiştir. Belirlenen gende mutasyona sahip olan Covid-19 hastalarında pankreatit tablosunun oluşumu çalışmalar sonucunda gösterilmiştir. Gerçekleştirdiğimiz alışmada Covid-19 teşhisi almış fakat pankreatit oluşumu gözlenmeyen hastalar arasında elde edilen bulgular değerlendirildiğinde; *VDBP* geninde (rs7041 varyantı) T>G mutasyonunun varlığı tespit edilmemiştir.



KAYNAKLAR

1. Velavan, T. P., & Meyer, C. G. (2020). The COVID-19 epidemic. *Tropical medicine & international health*, 25(3), 278.
2. Weissleder, R., Lee, H., Ko, J., & Pittet, M. J. (2020). COVID-19 diagnostics in context. *Science translational medicine*, 12(546), eabc1931.
3. Fauci, A. S., Lane, H. C., & Redfield, R. R. (2020). COVID-19 — navigating the uncharted. *New England Journal of Medicine*, 382(13), 1268-1269.
4. Becker, R. C. (2020). COVID-19 update: COVID-19 -associated coagulopathy. *Journal of thrombosis and thrombolysis*, 50(1), 54-67.
5. Ciotti, M., Ciccozzi, M., Terrinoni, A., Jiang, W. C., Wang, C. B., & Bernardini, S. (2020). The COVID-19 pandemic. *Critical reviews in clinical laboratory sciences*, 57(6), 365-388.
6. Kannan, SPAS, Ali, PSS, Sheeza, A. ve Hemalatha, K. (2020). COVID-19 (Novel Coronavirus 2019)-son trendler. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 24 (4), 2006-2011.
7. Petrov, M. S., & Yadav, D. (2019). Global epidemiology and holistic prevention of pancreatitis. *Nature reviews Gastroenterology & hepatology*, 16(3), 175-184.
8. Shah, A. P., Mourad, M. M., & Bramhall, S. R. (2018). Acute pancreatitis: current perspectives on diagnosis and management. *Journal of inflammation research*, 11, 77.
9. J., Marquina, C., Lim, S., Naderpoor, N., & Mousa, A. (2020). Vitamin D-binding protein in pregnancy and reproductive health. *Nutrients*, 12(5), 1489.
10. Rozmus, D., Ciesielska, A., Płomiński, J., Grzybowski, R., Fiedorowicz, E., Kordulewska, N., ... & Cieślińska, A. (2020). Vitamin D binding protein (VDBP) and its gene polymorphisms—the risk of malignant tumors and other diseases. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(21), 7822.
11. Karras, S. N., Dursun, E., Alaylıoğlu, M., Gezen-Ak, D., Al Anouti, F., Pilz, S., ... & Kotsa, K. (2021). Upregulation of Irisin and Vitamin D-Binding Protein Concentrations by Increasing Maternal 25-Hydroxyvitamin D Concentrations in Combination with Specific Genotypes of Vitamin D-Binding Protein Polymorphisms. *Nutrients*, 14(1), 90.
12. Sahmoud, S., Ibrahim, M. S., Toraih, E. A., Kamel, N., Fawzy, M. S., & Elfiky, S. (2020). Association of VDBP rs4701 variant, but not VDR/RXR- α over-expression with bone mineral density in pediatric well-chelated β -Thalassemia patients. *Mediterranean Journal of Hematology and Infectious Diseases*, 12(1).
13. Moloudinia, R., Mahmoodi, G., Abdi, M., Amini, S., & Ferdowsi, S. (2020). Evaluation of Vitamin D-binding protein gene polymorphism and its plasma concentration in

Kurdish patients with breast cancer in Sanandaj, Iran. *Avicenna Journal of Medical Biochemistry*, 8(2), 89-93.

14. Al-Azzawi, M. A., Ghoneim, A. H., & Elmadbouh, I. (2017). Evaluation of vitamin D, vitamin D binding protein gene polymorphism with oxidant-antioxidant profiles in chronic obstructive pulmonary disease. *Journal of medical biochemistry*, 36(4), 331.
15. Romanko, M., Rossokha, Z., Maydan, I., Mamenko, M., & Kvashnina, L. (2020). ASSOCIATION BETWEEN VITAMIN D-BINDING PROTEIN (VDBP) GENE POLYMORPHISM AND VITAMIN D STATUS IN YOUNG CHILDREN. *Science Rise*, (6), 51-58.
16. Speeckaert, M. M., Speeckaert, R., & Delanghe, J. R. (2021). Vitamin D and Vitamin D binding protein: the inseparable duo in COVID-19. *Journal of Endocrinological Investigation*, 1-2.
17. Speeckaert, M. M., Speeckaert, R., & Delanghe, J. R. (2021). Genetic polymorphisms, vitamin D binding protein and vitamin D deficiency in COVID-19. *European Respiratory Journal*, 57(5).
18. Zhang, X., Gao, B., & Xu, B. (2020). No association between the vitamin D-binding protein (DBP) gene polymorphisms (rs7041 and rs4588) and multiple sclerosis and type 1 diabetes mellitus: A meta-analysis. *PloS one*, 15(11), e0242256.
19. Tarighi, S., Najafi, M., Hossein-Nezhad, A., Ghaedi, H., Meshkani, R., Moradi, N., ... & Shanaki, M. (2017). Association between two common polymorphisms of vitamin D binding protein and the risk of coronary artery disease: A case-control study. *Journal of medical biochemistry*, 36(4), 349.
20. Li, X., Gan, X., Gong, J., Mou, T., Zhou, H., & Li, M. (2021). Association between vitamin D receptor polymorphisms and acute pancreatitis: A protocol for systematic review and meta analysis. *Medicine*, 100(16).
21. Ahmad, T., Khan, M., Musa, T. H., Nasir, S., Hui, J., Bonilla-Aldana, D. K., & Rodriguez-Morales, A. J. (2020). COVID-19 : Zoonotic aspects. *Travel medicine and infectious disease*, 36, 101607.
22. Nagy, A., & Alhatlani, B. (2021). An overview of current COVID-19 vaccine platforms. *Computational and structural biotechnology journal*, 19, 2508-2517.
23. Yang, L., Liu, S., Liu, J., Zhang, Z., Wan, X., Huang, B., ... & Zhang, Y. (2020). COVID-19 : İmmünopatogenez ve İmmünoterapötikler. *Sinyal iletimi ve hedefe yönelik tedavi*, 5 (1), 1-8.
24. Ndwandwe, D., & Wiysonge, C. S. (2021). COVID-19 vaccines. *Current opinion in immunology*, 71, 111-116.
25. Diseases, T. L. I. (2020). The COVID-19 infodemic. *The Lancet. Infectious Diseases*, 20(8), 875.

26. <https://gisanddata.maps.arcgis.com/apps/opsdashboard/index.html#/bda7594740fd40299423467b48e9ecf6>
27. Garber, A., Frakes, C., Arora, Z., &Chahal, P. (2018). Mechanismsandmanagement of acutepancreatitis. *Gastroenterologyresearchandpractice*, 2018.
28. Kleeff, J., Whitcomb, D. C., Shimosegawa, T., Esposito, I., Lerch, M. M., Gress, T., ... &Neoptolemos, J. P. (2017). Chronicpancreatitis. *Nature reviewsDiseaseprimers*, 3(1), 1-18.
29. Nassar, T. I.,&Qunibi, W. Y. (2019). AKI associatedwithacutepancreatitis. *ClinicalJournal of theAmericanSociety of Nephrology*, 14(7), 1106-1115.
30. Keşkek, M.,&Hamaloğlu, E. (2002). Akut Pankreatit. *Yoğun Bakım Dergisi*, 2, 185-917.
31. Manohar, M., Verma, A. K., Venkateshaiah, S. U., Sanders, N. L., &Mishra, A. (2017). Pathogenicmechanisms of pancreatitis. *World journal of gastrointestinalpharmacologyandtherapeutics*, 8(1), 10.
32. Portelli, M.,& Jones, C. D. (2017). Severe acutepancreatitis: pathogenesis, diagnosisandsurgicalmanagement. *Hepatobiliary&PancreaticDiseases International*, 16(2), 155-159.
33. Hines, O. J.,&Pandol, S. J. (2019). Management of severe acutepancreatitis. *Bmj*, 367.
34. Kuo, D. C., Rider, A. C., Estrada, P., Kim, D., &Pillow, M. T. (2015). Acutepancreatitis: what'sthescore?. *TheJournal of emergencymedicine*, 48(6), 762-770.
35. Afghani, E., Pandol, S. J., Shimosegawa, T., Sutton, R., Wu, B. U., Vege, S. S., ... &Mayerle, J. (2015). Acutepancreatitis—progressandchallenges: a report on an internationalsymposium. *Pancreas*, 44(8), 1195.
36. Greenberg, J. A., Hsu, J., Bawazeer, M., Marshall, J., Friedrich, J. O., Nathens, A., ... &McLeod, R. S. (2016). Clinicalpracticeguideline: management of acutepancreatitis. *Canadianjournal of surgery*, 59(2), 128.
37. Chatila, A. T., Bilal, M., &Guturu, P. (2019). Evaluation andmanagement of acutepancreatitis. *World journal of clinicalcases*, 7(9), 1006.
38. Shah, A. P., Mourad, M. M., &Bramhall, S. R. (2018). Acutepancreatitis: currentperspectives on diagnosisandmanagement. *Journal of inflammationresearch*, 11, 77.
39. Rozmus, D., Płomiński, J., Augustyn, K., &Cieślińska, A. (2022). rs7041 and rs4588 Polymorphisms in Vitamin D Binding Protein Gene (VDBP) andthe Risk of Diseases. *International Journal of MolecularSciences*, 23(2), 933.
40. Karuwanarint, P., Phonrat, B., Tungtrongchitr, A., Suriyaprom, K., Chuengsamarn, S., Schweigert, F. J., &Tungtrongchitr, R. (2018). Vitamin D-binding protein

and its polymorphisms as a predictor for metabolic syndrome. *Biomarkers in Medicine*, 12(5), 465-473.

41. Bikle, D. D. (2014). Vitamin D metabolism, mechanism of action, and clinical applications. *Chemistry & Biology*, 21(3), 319-329.
42. Fernando, M., Ellery, S. J., Marquina, C., Lim, S., Naderpoor, N., & Mousa, A. (2020). Vitamin D-binding protein in pregnancy and reproductive health. *Nutrients*, 12(5), 1489.
43. Karcıoğlu Batur, L., & Hekim, N. (2020). The role of DBP gene polymorphisms in the prevalence of new coronavirus disease 2019 infection and mortality rate.
44. Dindar Demiray, E. K., Yılmaz, M., Alıracı, I. D., & Alkan Çeviker, S. (2021). COVID-19 -Akut Pankreatit ilişkisinin incelenmesi.
45. Gümüştekin, R., Ergani, A. C., Gümüş, M., & EMIROĞLU, H. H. COVID-19 ve Pankreas. *Pediatric Practice and Research*, 9(1), 50-53
46. Piper, M. R., Freedman, D. M., Robien, K., Kopp, W., Rager, H., Horst, R. L., & Stolzenberg-Solomon, R. Z. (2015). Vitamin D-binding protein and pancreatic cancer: a nested case-control study. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 101(6), 1206-1215.
47. Tagliabue, E., Raimondi, S., & Gandini, S. (2015). Meta-analysis of Vitamin D-Binding Protein and Cancer Risk Vitamin D-Binding Protein and Cancer. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention*, 24(11), 1758-1765.
48. Szczyrek, M., Bitkowska, P., Chunowski, P., Czuchryta, P., Krawczyk, P., & Milanowski, J. (2021). Diet, Microbiome, and cancer immunotherapy—A comprehensive review. *Nutrients*, 13(7), 2217.
49. Smaha, J., Kužma, M., Jackuliak, P., Nachtmann, S., Max, F., Tibenská, E., ... & Payer, J. (2022). Serum 25-hydroxyvitamin D Concentration Significantly Decreases in Patients with COVID-19 Pneumonia during the First 48 Hours after Hospital Admission. *Nutrients*, 14(12), 2362.
50. Bacaksız, F., Ebik, B., Ekin, N., & Kılıç, J. (2021). Pancreatic damage in COVID-19: Why? How?. *International Journal of Clinical Practice*, 75(10), e14692.
51. Pribadi, R. R., & Simadibrata, M. (2021). Increased serum amylase and/or lipase in coronavirus disease 2019 (COVID-19) patients: Is it really pancreatic injury?. *JGH Open*, 5(2), 190-192.
52. Liu, F., Long, X., Zhang, B., Zhang, W., Chen, X., & Zhang, Z. (2020). ACE2 expression in pancreas may cause pancreatic damage after SARS-CoV-2 infection. *Clinical Gastroenterology and Hepatology*, 18(9), 2128-2130.
53. Samanta, J., Gupta, R., Singh, M. P., Patnaik, I., Kumar, A., & Kochhar, R. (2020). Coronavirus disease 2019 and the pancreas. *Pancreatology*, 20(8), 1567-1575.

54. McNabb-Baltar, J., Jin, D. X., Grover, A. S., Redd, W. D., Zhou, J. C., Hathorn, K. E., ... & Chan, W. W. (2020). Lipase elevation in patients with COVID-19. *The American journal of gastroenterology*.
55. Bruno, G., Fabrizio, C., Santoro, C. R., & Buccoliero, G. B. (2020). Pancreatic injury in the course of coronavirus disease 2019 (COVID-19): a not-so-rare occurrence. *Journal of medical virology*.
56. Wang F, Wang H, Fan J, Zhang Y, Wang H, Zhao Q. Pancreatic injury patterns in patients with COVID-19 pneumonia. *Gastroenterology*. 2020; 159: 369–70.
57. Barlass U, Williams B, Dhana K *et al* Marked elevation of lipase in COVID-19 disease: a cohort study. *Clin. Transl. Gastroenterol*. 2020; 11: e00215.
58. Miró Ò, Llorens P, Jiménez S, et al. Frequency of five unusual presentations in patients with COVID-19: results of the UMC19-S1. *Epidemiol Infect*. 2020; 148: e189.
59. Prasad, H., Ghetla, S. R., Butala, U., Kesarkar, A., & Parab, S. (2022). COVID-19 and Serum Amylase and Lipase Levels. *Indian Journal of Surgery*, 1-4.
60. Inamdar S, Benias PC, Liu Y, et al. Prevalence, Risk Factors, and Outcomes of Hospitalized Patients With Coronavirus Disease 2019 Presenting as Acute Pancreatitis. *Gastroenterology*. 2020; 159(6): 2226-8. e2.
61. Cienfuegos, J. A., Almeida, A., & Aliseda, D. (2021). Pancreatic injury and acute pancreatitis in COVID-19 patients. *Rev. Esp. Enferm. Dig*, 113, 389.
62. Gubatan J, Levitte S, Patel A, et al. Prevalence, risk factors and clinical outcomes of COVID-19 in patients with a history of pancreatitis in Northern California. *Gut*. 2021; 70(2): 440-441
63. Aloysius, M. M., Thatti, A., Gupta, A., Sharma, N., Bansal, P., & Goyal, H. (2020). COVID-19 presenting as acute pancreatitis. *Pancreatology*, 20(5), 1026-1027.
64. Wang, F., Wang, H., Fan, J., Zhang, Y., Wang, H., & Zhao, Q. (2020). Pancreatic injury patterns in patients with coronavirus disease 19 pneumonia. *Gastroenterology*, 159(1), 367-370.
65. Kandasamy S. An unusual presentation of COVID-19: Acute pancreatitis. *Ann Hepatobiliary Pancreat Surg*. 2020; 24(4): 539-41.
66. Huang C, Wang Y, Li X, et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *Lancet*. 2020; 395(10223): 497-506. doi: 10.1016/S0140-6736(20)30183-5
67. Balthazar, J. A., & Chehter, E. Z. (2022). Acute pancreatitis and COVID-19: a new target for infection?. *Einstein (Sao Paulo)*, 20.

68. Tang, Q., Gao, L., Tong, Z., & Li, W. (2022). Hyperlipidemia, COVID-19 and acute pancreatitis: A tale of three entities. *The American Journal of the Medical Sciences*.
69. Patel KP, Patel PA, Vunnam RR, Hewlett AT, Jain R, Jing R, Vunnam SR. Gastrointestinal, hepatobiliary, and pancreatic manifestations of COVID-19. *J Clin Virol*. 2020;128:104386.



ÖZGEÇMİŞ

A. KİŞİSEL BİLGİLER

Adı soyadı: Vuslat Öztürk

Doğum tarihi:

Öğrenim durumu: Lisans

Görev yeri: Şehit Yüzbaşı Erdal Okul Mesleki ve Teknik Anadolu Lisesi

Yabancı dil: İngilizce

E-posta adresi:

Telefon:

B. EĞİTİM BİLGİLERİ

Derece	Bölüm	Üniversite	Yıl
Lisans	Beslenme ve Diyetetik	Nuh Naci Yazgan Üniversitesi	2016-2020
Y. Lisans	Moleküler Tıp	Amasya Üniversitesi	2020-Devam Ediyor

C. İŞ TECRÜBESİNE AİT BİLGİLER

- Şehit Yüzbaşı Erdal Okul Mesleki ve Teknik Anadolu Lisesi, Öğretmen, 2021-Devam Ediyor.

D. ESERLER

-

E. GÖREV ALDIĞI PROJELER

-

F. KLİNİK ARAŞTIRMALARLA İLGİLİ GENEL BİLGİLER

- COVID-19 'LU HASTALARDA PANKREAS TUTULUMU İLE VDBP GENİ rs7041 VARYANTI İLİŞKİSİNİN ARAŞTIRILMASI, KARADENİZ 12.ULUSLARARASI UYGULAMALI BİLİMLER KONFERANSI - 3- 5 Mart 2023 - Rize

Ad Soyad: Vuslat ÖZTÜRK

Tarih:

İmza: