



T.C.

TOKAT GAZİOSMANPAŞA ÜNİVERSİTESİ

LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

BİYOLOJİ (MOLEKÜLER BİYOLOJİ) DOKTORA PROGRAMI

**VİRAL ENFEKSİYONLARIN FİBROZİS VE NÖRODEJENERATİF
BOZUKLUKLARDA GÖREV ALAN BAZI HEDEF GENLER
ÜZERİNDEKİ ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

DOKTORA TEZİ

Esra YILMAZ

Danışman: Prof. Dr. Ercan ÇAÇAN

TOKAT-2025



Bu tez çalışması, Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri tarafından 2022/90 ve TÜBİTAK Hızlı Destek- 1002 122Z624 no'lu projeler kapsamında desteklenmiştir.

ETİK SÖZLEŞME

Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü tez yazım kılavuzuna göre, Prof. Dr. Ercan ÇAÇAN danışmanlığında hazırlamış olduğum “Viral Enfeksiyonların Fibrozis ve Nörodejeneratif Bozukluklarda Görev Alan Bazı Hedef Genler Üzerindeki Etkilerinin Araştırılması” adlı Doktora Tezinin bilimsel etik ve değerlere ve kurallara uygun özgün bir çalışma olduğunu, aksi belirlendiğinde her türlü yasal yaptırımını kabul edeceğimi beyan ederim.

13/10/2025

Esra YILMAZ

JÜRİ KABUL VE ONAY

Esra YILMAZ tarafından hazırlanan “**Viral Enfeksiyonların Fibrozis ve Nörodejeneratif Bozukluklarda Görev Alan Bazı Hedef Genler Üzerindeki Etkilerinin Araştırılması**” adlı tez çalışmasının savunma sınavı 13/10/2025 tarihinde yapılmış olup aşağıda verilen Jüri tarafından Oy Birliği ile Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı’nda Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri (Unvanı, Adı Soyadı)

İmzası

Üye (Danışman): Prof. Dr. Ercan ÇAÇAN

.....

Üye (Başkan): Doç. Dr. Aykut ÖZGÜR

.....

Üye: Dr. Öğr. Üyesi Nuray Altındeğer GÜLDEN

.....

Üye: Dr. Öğr. Üyesi Saime Sezer SONDAŞ

.....

Üye: Dr. Öğr. Üyesi İbrahim Yasin ÇOLAK

.....

ONAY

...../...../.....

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Müdürü

ÖNSÖZ/TEŞEKKÜR

Lisansüstü eğitimim boyunca ve tezin hazırlık sürecinde bana yol gösteren, bilgi ve tecrübeleriyle beni daima destekleyen değerli danışmanım Sayın Prof. Dr. Ercan ÇAÇAN'a en derin teşekkürlerimi sunarım. Bilimsel gelişimimde lisans, yüksek lisans ve doktora tez sürecinde sabırla paylaştığı bilgi ve yanında hissettiğim güven sayesinde bu yolculuğumu tamamlayabildim.

Laboratuvar çalışmalarında desteklerini esirgemeyen, Dr. Öğr. Üyesi Çağlar BERKEL, Arş. Gör. Burak KÜÇÜK ve Dr. Feyzanur ÇALDIRAN'a teşekkür ediyorum. Yüksek lisans ve doktora tez sürecinde her zaman manevi desteklerini esirgemeyen Merve EROĞLU, Soumaya MENADI, Muhsine ÖZEN DEMİR, Busenur ŞAHİN, Rümeyza ŞENOL ve Songül CAMGÖZ'e teşekkür ediyorum.

Akademide her zaman “iyi ki varsınız” dediğim hocam, Dr. Dilek SABANCI 'ya, deneylerimde yardımcı olan ve akademik bilgilerini paylaşmaktan mutluluk duyan Dr. Öğr. Üyesi Nihan BOZKURT, Arş. Gör. Sadegül ŞAVKIN, Dr. Kübra ŞAHİN 'e teşekkür ediyorum. Kalp damar cerrahisinin değerli hocası her daim yanımda desteğini hissettiğim Dr. Öğr. Üyesi Nuray ALTINDEĞER GÜLDEN, Uzman Dr. Dilek YILMAZ ve tezimde bilgi kaynağı sağlayan Prof. Dr. Dürdane AKSOY, Dr. Öğr. Üyesi Saime SEZER SONDAŞ, Dr Öğr. Üyesi İbrahim Yasin ÇOLAK, Dr. Öğr. Üyesi Sümeyya Deniz AYBEK ve Doç. Dr. Aykut ÖZGÜR'e teşekkür ediyorum.

Doktora tez dönemimde desteğini esirgemeyen Acil Sağlık Hizmetleri Başkanımız Acil Tıp Uzmanı Dr. Can Gökay YILDIZ ve Halk Sağlığı Başkan Yardımcımız Dr. Nurten SANDAL AKTAŞ' a ayrıca, mesai arkadaşlarım ATT Kibar TAŞKIN, ATT Hümeysra KAYA, ATT Canan ARS' a ve Merkez 4 No'lu AŞİ' ni iş arkadaşlarıma teşekkür ediyorum.

Son olarak her daim yanımda olan, manevi desteğini esirgemeyen eşim Ali YILMAZ' a çocuklarım Emre AYTUĞ ve Mustafa Berk YILMAZ' a ayrıca, Elif ÇEKENGİL, Esma KÖSE KAPLAN, Seyit KÖSE, annem Emine KÖSE ve babam Bekir KÖSE' ye tüm benliğimle teşekkür ediyorum.

ÖZET

VİRAL ENFEKSİYONLARIN FİBROZİS VE NÖRODEJENERATİF BOZUKLUKLARDA GÖREV ALAN BAZI HEDEF GENLER ÜZERİNDEKİ ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Yılmaz, Esra

Doktora, Biyoloji Anabilim Dalı, Moleküler Biyoloji Bilim Dalı

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Ercan ÇAÇAN

Ekim 2025, xiii +123 sayfa

2019 yılında ortaya çıkan SARS-CoV-2 enfeksiyonu, akciğer başta olmak üzere birçok organ sistemini etkileyerek fibrozis, inflamasyon ve nörolojik komplikasyonlara yol açmaktadır. Benzer şekilde HEV, karaciğer dışında ekstrahepatik tutulumları özellikle nörolojik etkileri ile dikkat çekmektedir. Her iki viral enfeksiyonunda bağışıklık aracılı mekanizmalar yoluyla orta ve uzun dönemli komplikasyonlara neden olabileceği tahmin edilmektedir. Bu tez çalışmasında, ağır COVID 19 hastalarında ve iyileşme dönemindeki bireylerde EMT ve fibrozis belirteçleri vimentin, Snail, Slug, E- kadherin, ZEB1 ile MAP2K4 ekspresyonları ve fibrotik sistemin yeniden düzenlenmesi ile epitel bariyer fonksiyon kaybının desteklendiği gösterilmiştir. Ayrıca, COVID 19'un fibrozis ve inflamasyon süreçlerinde MAPK yolaklarını manipüle ederek kritik rol oynadığı saptanmıştır. Çalışmamızın ikinci kısmında, AH, PH ve MS olan bireylerde HEV seroprevalansı ve immün yanıt araştırılmıştır. Bu hasta gruplarında yüksek HEV-IgG ve IgM düzeyleri ile HEV-RNA pozitifliği saptanmıştır. Antiviral bağışıklıkta ISGylation sinyal yolağında kritik rol oynayan, *IRF9*, *STAT1*, *IFBN-1*, *ISG15* ve *STAT2* genlerinin ekspresyonlarının anlamlı olarak baskılandığı ve bunun HEV' in nörolojik hastalıklarda baskılanmış immün yanıtından faydalanabileceği gösterilmiştir. Elde edilen bu sonuçlar, COVID 19' un fibrozis patogenezindeki EMT/MAPK ilişkisini ve HEV'in nörolojik hastalıklarla etkisini ortaya koymaktadır.

Anahtar Kelimeler: SARS-COV2, HEV, Fibrozis, Nörodejeneratif Hastalıklar, EMT, End-MT, *VIM*, *ISG15*

ABSTRACT

INVESTIGATION OF THE EFFECTS OF VIRAL INFECTIONS ON CERTAIN TARGET GENES INVOLVED IN FIBROSIS AND NEURODEGENERATIVE DISORDERS

Yılmaz, Esra

PhD Dissertation, Department of Biology, Division of Molecular Biology

Supervisor: Prof. Dr. Ercan Çağan

October 2025, xiii +123 pages

SARS-CoV-2 infection, which emerged in 2019, affects multiple organ systems, primarily the lungs, leading to fibrosis, inflammation, and neurological complications. Similarly, HEV has drawn attention due to its extrahepatic manifestations, particularly its neurological effects. It is estimated that both infections may cause long-term complications through immune-mediated mechanisms. In this thesis study, the expression levels of EMT and fibrosis markers including vimentin, Snail, Slug, E-cadherin, ZEB1, and MAP2K4 were examined in patients with severe COVID-19 and individuals in the recovery phase. The findings demonstrated that fibrotic remodeling and the loss of epithelial barrier function are evident. Furthermore, it was determined that MAPK signaling pathways play a critical role in the processes of fibrosis and inflammation associated with COVID 19. In the second phase of the study, HEV seroprevalence and immune responses were investigated in patients with AD, MS, and PD. Elevated levels of HEV-specific IgG and IgM antibodies, along with HEV-RNA positivity, were detected in these patient groups. It was shown that the expression of *IFNB1*, *ISG15*, *IRF9*, *STAT1*, and *STAT2* genes that play a crucial role in antiviral immunity was significantly suppressed. These results suggest that HEV may exploit the weakened immune response in neurological disorders. Overall, these findings highlight the relationship between EMT and MAPK signaling in the pathogenesis of COVID 19 with related fibrosis and reveal the potential impact of HEV on neurological diseases.

Keywords: SARS-CoV-2, HEV, Fibrosis, Neurodegenerative Diseases, EMT, End-MT, *VIM*, *ISG15*

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ETİK SÖZLEŞME	i
JÜRİ KABUL VE ONAY	ii
ÖNSÖZ/TEŞEKKÜR	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
İÇİNDEKİLER	vi
TABLolar LİSTESİ	ix
ŞEKİLLER LİSTESİ	xi
KISALTMALAR VE SİMGELER	xii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	6
2.1. Virüslerin Tanımı ve Genel Özellikleri	8
2.2. Viral Genom ve Virionların Yapısı	10
2.3. Virionların Biyolojik Aktiviteleri ve Konak Hücre Etkileşimleri	15
2.4. Koronavirüsler	19
2.4.1. SARS-CoV-2 konak hücre içine girişi	22
2.4.2. SARS-CoV-2 S proteini ve furin-bölünme bölgesi	25
2.4.3. SARS-CoV-2 enfeksiyonu ve patofizyolojisi	27
2.4.4. Yaygın alveolar hasar ve covid-19 ile ilişkili ards	31
2.4.5. SARS-CoV2 END-MT/ EMT moleküler sinyal yolağı	33
2.5. Hepatit E Virüsü (HEV)	41
2.5.1. Epidemiyoloji	42
2.5.2. Hepatit E virüsünün genel özellikleri	44
2.5.3. HEV patofizyolojisi	45

2.5.4. Nörodejenaratif hastalıklar.....	47
2.5.6. HEV enfeksiyonunun nörodejenaratif hastalıklar üzerine etkisi.....	48
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	52
3.1. Çalışma Grubu ve Hastalar	52
3.2. Veri ve Kan Örneklerinin Toplanması.....	53
3.3. Enzim Bağlantılı İmmünosorbent Analizi (ELISA)	53
3.3.1. Vimentin, N-Kadherin, HEV-IgG ve HEV-IgM seviyesinin ELISA yöntemi ile protein seviyesinin belirlenmesi	56
3.4. İstatistiksel Analiz.....	58
3.5.RNA İzolasyonu ve Gerçek Zamanlı Ters Transkripsiyon Polimeraz Zincir Reaksiyonu (qRT-PCR)	59
3.5.1.Hasta ve kontrol grubu kan örneklerinden elde edilen RNA'ların konsantrasyonlarının ölçümü ve qRT-PCR.....	60
4. BULGULAR.....	64
4.1. COVID-19 sonrası kalıcı moleküler değişiklikler: Şiddetli ve COVID-19 sonrası değişiklikler, vimentinin yüksek ekspresyonu ve N-kadherinin azalmış ekspresyonu ile ilişkilidir	64
4.1.1. Şiddetli COVID-19 hastalarının ve enfeksiyondan 6–12 ay sonrasındaki bireylerin klinik ve demografik özellikleri, sağlıklı kontrol grubu ile karşılaştırılması	64
4.1.2. Şiddetli COVID-19 Hastalarında Vimentin seviyeleri kontrol grubuna kıyasla artış göstermişken, Serum N-Kaderin seviyesi azalma göstermiştir	68
4.2. MAP2K4 geninin yukarı düzenlenmesi SARS-COV-2'de EndMT'yi tetikler	71
4.2.1.Şiddetli COVID-19 hastalarının demografik ve klinik özellikleri.....	71
4.2.2. SARS-Cov-2 Enfeksiyonu MAP2K4 Gen ekspresyonunu artırmaktadır.....	72
4.2.3. SARS-Cov-2 enfeksiyonu olan hastalarda End-MT ile ilişkili Snail Gen Ekspresyonu artarken E-Kaderin seviyesi azalır	72
4.2.4. SARS-Cov-2 enfeksiyonu olan hastalarda End-mt ile ilişkili Slug ve Zeb1 Gen Ekspresyon seviyeleri farklılık göstermektedir	73

4.2.5. E-Kadherin Ekspresyonu ile hematolojik bulgular arasında negatif bir korelasyon vardır.....	74
4.2.6. MAP2K4, SLUG ve ZEB Gen Ekspresyonları ile hematolojik bulgular arasındaki korelasyon farklılıkları.....	75
4.3. Hepatit E Virüsünün Nörolojik Hastalıklardaki Prevalansının Belirlenmesi ve Doğal İmmün Yanıttaki Etkisinin Genetik Açıdan İncelenmesi.....	76
4.3.1. Hasta ve kontrol grubu bireylerin klinik ve demografik bulgularının incelenmesi	76
4.3.2. Hasta ve kontrol grupları arasında HEV-IgG Seropozitifliğinin belirlenmesi	80
4.3.3. Hasta ve kontrol grupları arasında Serum IgM seviyesinin belirlenmesi.....	81
4.3.4. Hasta ve kontrol grupları arasında HEV-RNA miktarının belirlenmesi	82
4.3.5. Hasta ve kontrol grubu doğal immün yanıtında görevli genlerin Ekspresyon Seviyesinin qRT-PCR ile belirlenmesi.....	83
4.3.6. Hasta ve kontrol grubunda klinik parametreler ve doğal immün yanıtında görevli genlerin ilişkilendirilmesi	86
5. TARTIŞMA	89
6. SONUÇ	104
7. KAYNAKÇA	106
8. ÖZGEÇMİŞ.....	121
9. EKLER.....	122

TABLÖLER LİSTESİ

Tablo No	Sayfa
Tablo 3.1: Standartların hazırlanması	53
Tablo 3.2: Standartların hazırlanması	55
Tablo 3.3: qRT-pcr analizi için hazırlanan reaksiyon karışımı	57
Tablo 3.4: qRT-pcr protokolü.....	57
Tablo 3.5: Hedef genlerin ekspresyon analizi için yapılan qRT-pcr’da kullanılan primerlerin dizileri	58
Tablo 4.1: Şiddetli covid-19 tanısı konmuş bireylerin, enfeksiyondan 6-12 ay sonra incelenen bireylerin ve covid-19 testi negatif olan grubun demografik verileri.....	59
Tablo 4.2: Klinik veriler, şiddetli covid-19 testi pozitif olan bireyler, enfeksiyondan 6-12 ay sonra izlenen bireyler ve covid-19 testi negatif olan bir gruba ait bilgileri içermektedir.	63
Tablo 4.3: Covid -19 hastalarında serum vimentin düzeyinin klinik parametrelerle korelasyonu.....	65
Tablo 4.4: Covid -19 hastalarında serum vimentin ve n-kadherin düzeylerinin regresyon analizi.....	65
Tablo 4.5: Sars-cov-2 pozitif hastaların başlangıçtaki hematokimyasal özellikleri.	66
Tablo 4.6: Covid-19 hastalarında e-kadherin ekspresyonunun klinik parametrelerle korelasyon.....	69
Tablo 4.7: Map2k4, slug ve zeb1 transkript düzeylerinin klinik belirteçlerle korelasyonu	70
Tablo 4.8: Hasta ve kontrol grubu bireylerin klinik ve demografik bulguları	73
Tablo 4.9: Hasta ve kontrol grubunda klinik parametreler ve doğal immün yanıtında görevli genlerin ilişkilendirilmesi	80

ÇİZELGE LİSTESİ

Çizelge No	Sayfa
Çizelge 3.1. Covid-19 seropozitifliği ve nörodejeneratif bozukluğu hasta ve kontrol grubu güç analizi grafiği	56
Çizelge 3.2. Hev hasta ve kontrol grubu güç analizi grafiği.....	56



ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil No	Sayfa
Şekil 2.1 Virüslerin zarflı ve zarfsız gösterimi (Biorender.com ile çizilmiştir).....	8
Şekil 2.2. Virüslerin virion yapısı (Biorender.com ile çizilmiştir).	14
Şekil 2.3. Bazı virüs çeşitlerinin şematik gösterimi (Biorender.com ile çizilmiştir)... ..	15
Şekil 2.4. Sars-cov 2 hücre içine giriş mekanizması (Biorender.com ile çizilmiştir)... ..	25
Şekil 2.5. Fibrozis ile ilişkili mekanizma (Biorender.com ile çizilmiştir).	31
Şekil 2.6. EndMT/ emt vasküler sistem etkisi (Biorender.com ile çizilmiştir).	38
Şekil 4.1. Şiddetli covid-19 hastalarının (sitokin fırtınası) akciğer bilgisayarlı tomografi (BT) görüntüleri.	61
Şekil 4.2. Şiddetli covid-19 hastalarında, enfeksiyondan 6-12 ay sonra iyileşmiş bireylerde ve kontrol grubunda vimentin proteini ve transkript düzeyleri.	64
Şekil 4.3. Şiddetli covid -19 hastalarının, enfeksiyondan 6-12 ay sonra iyileşmiş bireylerin ve kontrol grubunun serum N-kaderin düzeyleri..	65
Şekil 4.4. Şiddetli covid -19 hastaları, enfeksiyondan 6–12 ay sonra iyileşmiş bireyler ve kontrol grubunda map2k4 transkript seviyeleri	72
Şekil 4.5. Şiddetli covid -19 hastalarında, enfeksiyondan 6-12 ay sonra iyileşmiş bireylerde ve kontrol grubunda snail ve e-kadherin hedef genlerinin transkripsiyon düzeyleri..... ..	73
Şekil 4.6. Şiddetli covid -19 hastalarında, enfeksiyondan 6-12 ay sonra iyileşmiş bireylerde ve kontrol grubunda zeb1 ve slug hedef genlerinin transkripsiyon düzeyleri.	74
Şekil 4.7. Hasta ve kontrol grupları arasında serum ıgg seviyesinin belirlenmesi.....	74
Şekil 4.8. Hasta ve kontrol grupları arasında serum ıgm seviyesinin belirlenmesi.	75
Şekil 4.9. Hasta ve kontrol grubu hev-rna ekspresyon seviyeleri.....	76
Şekil 4.10. Hasta ve kontrol grubu doğal immün yanıtında görevli ıfbn-1, ırf9, ısg15, stat1 ve stat2 genlerin ekspresyon seviyeleri..	78

KISALTMALAR VE SİMGELER LİSTESİ

Kısaltma	Açıklama
AH	Alzheimer Hastalığı
ALS	Amyotrofik Lateral Skleroz
ARDC	Akut Respiratuar Distres Sendromu
DC	Dentritik Hücreler
DNA	Deoksiribonükleik Asit
ECM	Ekstraselüler Matriks
EMT	Epitelyal Mezenkimal Geçiş
ENDMT	Endotelyal Mezenkimal Geçiş
GAPDH	Gliseraldehit-3-Fosfat Dehidrogenaz
HBV	Hepatit B Virüsü
HCV	Hepatit C Virüsü
HEV	Hepatit E Virüsü
HT	Hipertansiyon
IFN 1	İnterferon-1
IFNB1	İnterferon Beta-1
IL-6	İnterlökin 6
IRF9	İnterferon Düzenleyici Faktör 9
ISG15	İnterferon Uyarıcı Gen 15
ISG3	İnterferon Uyarıcı Gen 3
ISGF3	İnterferonları Uyarıcı Gen Faktör 3
KAH	Kalp Hastalığı

KBB	Kan Beyin Bariyeri
MS	Multiple Skleroz
NK	Doğal Öldürücüler
PH	Parkinson Hastalığı
RNA	Ribonükleik Asit
RT-PCR	Gerçek Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu
SLUG	Salyangoz Ailesi Transkripsiyonel Baskılayıcı Gen
SNAI	Salyangoz Ailesi Transkripsiyonel Baskılayıcı Gen
ZEB1	Zinc Finger E-Box Binding Homeobox 1

1. GİRİŞ

İnflamasyon, organizmanın enfeksiyon, doku hasarı veya toksik uyarılara karşı geliştirdiği evrimsel olarak korunmuş bir savunma yanıtıdır. Ana hedefi, patojenleri ortadan kaldırmak, zarar görmüş dokuyu onarmak ve homeostatik dengeyi yeniden kurabilmektir. Bu korunmuş süreç, hücresel nötrofiller, makrofajlar, humoral sitokinler ve kemokinler gibi bileşenlerin koordineli bir şekilde etkileşimleriyle yürütülmektedir. Ancak bazı durumlarda enflamatuvar yanıtın aşırı veya kronik hale gelmesi, dokular üzerinde onarılamaz hasarlar meydana getirmektedir (Zymlink ve ark., 2018).

Viral enfeksiyonlar, enflamatuvar süreci tetikleyen en önemli etkenlerden birisi olmakla beraber, bazı virüsler kronik enfeksiyonlara neden olarak persistan inflamasyona ve bunun sonucunda da dokunun yeniden yapılanması, fibrozis veya nörodejeneratif değişimlere yol açabilmektedir. Fibrozis, dokularda fibroblast aktivasyonu ve aşırı ekstraselüler matriks proteinleri (ECM) birikimiyle karakterize olup, organ fonksiyonunun bozulmasına neden olmaktadır. Yapılan çalışmalarda özellikle, karaciğer Hepatit B (HBV), Hepatit C (HCV), akciğer de SARS-CoV-2 ve kalp dokularında viral kaynaklı fibrotik süreçler tanımlanmaya devam etmektedir. Aynı şekilde, bazı nörotropik virüsler merkezi sinir sistemi hücrelerinde inflamasyonu tetikleyerek nöroinflamasyon ve nörodejenerasyon aktivasyonunu sağlamaktadır. Ayrıca, mikroglia ve astrosit aktivasyonu, sitokin fırtınası, oksidatif stres ve hücre içi kalsiyum dengesizliği nörodejeneratif bozuklukların temelini oluşturmaktadır. Bu süreçlerde rol oynayan genetik düzenleyiciler, belirli hedef genlerin hücre ölümü, sinyal iletimi veya doku onarımı ile ilişkili mekanizmalarda farklı şekillerde aktive edilmesine ya da baskılanmasına sebep olmaktadır (Lam ve ark., 2018).

Viral enfeksiyonlar yalnızca akut enfeksiyon tablolarına yol açmakla kalmayıp, kronik inflamasyon, bağışıklık sistemi düzensizlikleri, fibrozis ve nörolojik bozukluklar gibi daha uzun süreli ve çok boyutlu sonuçlar da doğurmaktadır. Enfeksiyonların merkezi sinir sistemi (MSS) üzerindeki etkileri, son yıllarda bir dizi epidemiyolojik ve moleküler biyoloji çalışmalarıyla daha görünür hâle gelmiştir. Alzheimer hastalığı (AH), Parkinson hastalığı (PH), Guillain-Barré sendromu (GBS), motor nöron hastalıkları ve demans gibi nörodejeneratif bozuklukların patogeneğinde enfeksiyon ve nöroinflamasyonun rolüne

ilişkin kanıtlar giderek artmaktadır (Itzhaski, 2018). Bu çerçevede, enfeksiyonun akut fazından bağımsız olarak, kronik bağışıklık aktivasyonu, endotel disfonksiyonu ve kan-beyin bariyeri (KBB) bütünlüğünün bozulması, glial hücrelerde kronik aktivasyon ile birlikte nöronal ağ bütünlüğünü zayıflatan sinyal yollarının düzensizleşmesi, enfeksiyonların MSS üzerindeki uzun dönemli sonuçlarını açıklayan ana mekanizmalar arasında sayılmaktadır.

COVID-19 (SARS-CoV-2) pandemisi, viral enfeksiyonların çok sistemli sonuçlarını dramatik biçimde görünür kılan en güncel örnek olmakla birlikte SARS-CoV-2, özellikle ağır olgularda, konakta aşırı immün aktivasyon ve sitokin fırtınası ile seyreden bir tablo oluşturmaktadır. Bu durum akciğer dokusunda yaygın inflamasyon, fibrozis ve akut solunum sıkıntısı sendromu (ARDS) ile ilişkilendirilmiştir (Mehta, 2020). Akut dönemdeki bu hiperinflamatuvar yanıt, yalnızca solunum sistemiyle sınırlı kalmayıp damar endotelinde yaygın bir disfonksiyon, mikro tromboz eğilimi, organ perfüzyon bozukluğu ve çoklu organ tutulumu ile bütünleşmiştir. Bu patofizyolojide, hücre iskeletinin ara filamentlerinden biri olan vimentinin hem hücre içi dinamiklerde hem de hücre yüzeyinde bir tutunma kofaktörü olarak rol aldığı, virüsün bağlanması, içeri alınması, intraselüler taşınması ve replikasyon döngüsünün çeşitli aşamalarında görev alabildiği gösterilmiştir. Ayrıca, vimentinin, proinflamatuara sitokinlerle indüklenebilirliği ve doku hasarı bağlamında artabilmesi, onu SARS-CoV-2'nin hücresel etkileri ile konak yanıtı arasındaki kesişim noktasına yerleştirmiştir (Ramos, 2020).

SARS-CoV-2'nin solunum epiteli ve damar endoteli üzerindeki etkileri, hücresel kimliğin yeniden programlanmasını içeren epitelyal-mezenkimal geçiş (EMT) ve endotelyal-mezenkimal geçiş (End-MT) süreçleri ile yakından ilişkilidir. EMT, epitelyal hücrelerin polaritesini kaybederek mezenkimal fenotipe yönelmesi, adezyon moleküllerinden biri olan E-kadherin ifadesinde azalma, hücre iskeleti ve motilite proteinlerinden vimentin artış ve ekstraselüler matriksle etkileşim kurabilme gibi özelliklerin kazanılmasıyla tanımlanmaktadır. End-MT ise endotelyal hücrelerin mezenkimal fenotipe yönelmesiyle karakterizedir ve damarsal bütünlük, geçirgenlik, inflamatuvar adezyon ve fibrotik yeniden yapılanma üzerinde belirleyici olabilir. COVID-19 bağlamında, proinflamatuvar sitokin ortamı, oksidatif stres ve hipoksi bulgusu TGF- β , NF- κ B ve diğer sinyal eksenlerinin aktivasyonu ile EMT/End-MT'yi

kolaylaştırarak alveoller bariyer bütünlüğünün bozulmasına, interstisyel fibrozisin hızlanmasına ve damar geçirgenliğinin artmasına zemin hazırlar. Bu değişimler, hem akut fazdaki gaz değişimi bozukluğunu hem de uzun COVID 19 olarak adlandırılan kronik semptomların bir bölümünü açıklamak üzere tartışılmaktadır (Kalluri ve Weinberg, 2009). EMT ve End-MT' nin COVID-19 patogenezindeki rolü, doku düzeyinde gözlenen fibroproliferatif yanıtın moleküler alt yapısını anlamak açısından da önemlidir. EMT sırasında E-kadherin gibi bağlantı proteinlerinin azalması ve N- kadherin, vimentin, Snail Family Transcriptional Repressor 1 (SNAIL), Snail Family Transcriptional Repressor 2 (Slug), Zing Finger E-box Binding Homeobox (ZEB1/2), Twist Family BHLH Transcriptional Factor 1 (TWIST1) gibi transkripsiyon faktörleri ve iskelet proteinlerindeki artış ile birlikte alveoller epitelin geçirgenliğini artırarak proteinöz eksüda ve ödem oluşumunu kolaylaştırabilir. EndMT'de endotel belirteçlerinin Cluster of Differentiation 31(CD 31), VE-kadherin azalması ve mezenkimal belirteçlerin Alpha-Smooth Muscle Actin (α -SMA), vimentin, fibronektin artması, mikro damarlarda yapısal bozulma ve perivasküler fibrotik birikim ile sonuçlanabilir. Bu iki durum, endotel bariyeri ve epitel bariyerinin koordineli kaybıyla sonuçlanarak ARDS şiddetini, ventilatör bağımlılığını ve iyileşme sonrası parankimal sertliği belirleyen temel eksenlerden birisidir (Kovacic ve ark., 2019).

Viral hepatitler, özellikle Hepatit E virüsü (HEV), enfeksiyon-nörodejenerasyon eksenini farklı bir mekanizma üzerinden gündeme getirmektedir. HEV genellikle kendini sınırlayan akut hepatitle seyreder ancak immünsüpressif konaklarda kronikleşebilir, fulminan hepatit ve ekstrahepatik komplikasyonlara yol açarak billürbin ve transaminaz artışına sebep olabilmektedir. Son on yılda artan sayıda klinik seri ve deneysel çalışma, HEV'in nörolojik sistem tutulumu ile ilişkisini ortaya koymuştur. Guillain-Barré sendromu, nöraljik amyotrofi (Parsonage-Turner sendromu), miyelit ve ensefalit gibi tablolar HEV ile birlikte rapor edilmiştir (Kamar ve ark., 2011; Lhomme ve ark., 2021). Deneysel veriler ise HEV'in beyin mikro damar endotelial hücrelerini enfekte edebildiğini, KBB'yi aşarak MSS'ne girebildiğini ve burada replikasyon potansiyeli taşıdığını göstermektedir (Tian ve ark., 2022). Bu bulgular, HEV'in yalnızca periferik nöropatilerle değil, aynı zamanda merkezi nöroinflamasyonla da ilişkilendirilebileceğini düşündürmektedir.

HEV'in nörolojik etkilerini açıklamada interferon yanıt ağırları merkezi bir konuma sahiptir. Tip I interferon sinyalleşmesinin ana efektör komplekslerinden olan Interferonları Stimulated Gene 15 (ISG15), Signal Transducer and Activator of Transcription 1/2 (STAT1, STAT2) ve Interferon Regulatory Factor 9'un (IRF9) birleşimiyle meydana gelir ve bu kompleks nükleusa taşınarak yüzlerce interferon-uyarılı genin (ISG) transkripsiyonunu başlatmaktadır (Schneider ve ark., 2014). HEV, konak antiviral yanıtını zayıflatmak amacıyla bu eksenin çeşitli düzeylerde modüle edebilir. Bunun en güzel örneği ise Janus Kinaz/ STAT (JAK-STAT) sinyal bileşenlerinin ekspresyonunu baskılamak, IRF aktivasyon eşiğini değiştirmek ya da ISG hedef genlerin promotör erişilebilirliğini azaltmak gibi mekanizmalardır. Öte yandan, kontrolsüz veya uzamış interferon aktivitesi, glial hücrelerde kalıcı aktivasyon, sinaptik budanmanın bozulması ve miyelin bütünlüğünde zedelenme gibi sonuçlarla nörotoksiteyi artırabilir. *ISG15* ve *IFNB1* gibi gen ürünlerinin kronik olarak yüksek düzeyde sürdürülmesi, antiviral savunma ile doku hasarı arasındaki hassas dengeyi enfeksiyon lehine bozmaktadır. Klinik gözlemlerle birlikte bu moleküler çerçeve, HEV'in nörodejeneratif süreçlerle bağlantılı olabileceği hipotezini desteklemektedir. Aksi halde, düşük dereceli fakat kronik bir nöroinflamatuvar ortam, amiloid ve tau patolojilerinin ilerlemesini kolaylaştırabilecek bir mikroçevre oluşturduğu gösterilmiştir (Itzhaki, 2018). Bu bağlamda, SARS-CoV-2 ve HEV iki farklı ama birbiriyle kesişen patojenetik yol üzerinden MSS'yi etkileyebilir. İlki, SARS-CoV-2'nin vimentin aracılığıyla kolaylaşan hücresel etkileşimleri ve inflamasyon-hipoksi ekseninin hızlandırdığı EMT/End-MT ile epitel ve endotel bariyerlerinin bozulması; ikincisi ise HEV'in interferon eksenini yeniden ayarlayarak STAT1/STAT2/IRF9-ISG15 kalıcı nöroinflamasyon ve KBB bütünlük kaybına zemin hazırlamasıdır. Birinci yol, akut dönemdeki solunumsal ve vasküler hasarı ve sonrasında kalıcı fibrotik yeniden yapılanmayı öne çıkarırken ikinci yol, periferik nöropatilerden merkezi enflamatuvar süreçlere uzanan bir spektrumda nörolojik sonuçları mümkün kılar. İki senaryoda da bağışıklık yanıtının dozu ve süresi, doku spesifikliği ve hücresel stres yanıtları belirleyici ara değişkenler olarak rol oynamaktadır.

Ara filament biyolojisi özellikle vimentin ve interferon yanıt ağırlarının STAT1, STAT2, IRF9, ISG15, IFNB1 hassas düzenlemesi hem biyobelirteç geliştirme hem de terapötik hedef belirleme açısından umut vaat eder. Örneğin, SARS-CoV-2 bağlamında vimentin

ifadesi ve organizasyonundaki değişiklikler, EMT/ End-MT belirteç panelleriyle birlikte kullanıldığında alveolar hasarın derecesi ve fibrotik yanıtın öngörülmesi için klinikte fayda sağlayabilir. Benzer şekilde, HEV enfeksiyonunda periferik kandan ya da BOS'tan elde edilecek IFN-yanıt imzaları *STAT1/STAT2/IRF9* hedef gen ekspresyon profilleri, *ISG15* gen ifadesi düzeyleri nörolojik komplikasyon riski taşıyan hastaların erken saptanmasında yardımcı olabilir. Bu tür moleküler paneller, aynı zamanda tedavi yanıtının izlemi ve kişiselleştirilmiş müdahalelerin planlanması için de değerlidir.

Sonuç olarak, viral enfeksiyonların MSS üzerindeki etkilerini anlamak için, vimentin aracılı hücresel yeniden yapılanma (EMT/ End-MT) ve interferon aracılı antiviral ağlar Interferon Stimulated Gene Factor (*ISGF3*) -*ISG* eksenini gibi iki ana moleküler koridorun birlikte ele alınması gereklidir. SARS-CoV-2'nin EMT/ EndMT'ye eğilim yaratan proinflatuvar-hipoksik mikroçevresi ve vimentin bağımlı etkileşimleri, akut ve subakut dönemde doku bütünlüğünün hızla kaybına ve fibrotik yeniden yapılanmaya neden olurken diğer yandan HEV'in interferon yanıtını yeniden kalibre eden etkileri, daha sinsi ve kronik bir nöroinflamatuvar çevre oluşturarak nörodejeneratif süreçlere zemin hazırlayabilir. Bu çift yönlü yaklaşım hem biyolojik mekanizmaların bütüncül anlaşılmasını hem de klinikte risk sınıflandırması, erken tanı ve hedefe yönelik tedaviler için rasyonel stratejilerin geliştirilmesine kolaylık sağlayacaktır.

Bu tez çalışması, viral enfeksiyonların tetiklediği inflamatuvar yanıtların orta ve uzun vadeli etkilerini; özellikle fibrotik doku yanıtları ve nörodejeneratif değişimler üzerindeki rollerini araştırmayı amaçlamaktadır. Çalışmada, bu patolojik süreçlerde görev alabileceği düşünülen bazı genlerin belirlenmesi ve olası biyobelirteçlerin tanımlanması hedeflenmektedir.

2. GENEL BİLGİLER

Bulaşıcı enfeksiyon hastalıkları, önemli ölçüde morbiditeye yol açarak küresel çapta önemli bir halk sağlığı sorunu olmaya devam etmektedir. Bu hastalıklara virüsler, bakteriler, mantarlar ve parazitler gibi mikroorganizmalar neden olmaktadır. Ayrıca, bunlar vücuda sindirim, solunum, kontamine yüzeyler veya vücut sıvılarıyla temas gibi çeşitli yollarla girebilmektedir. Bulaşıcı patojenlerin konakçıya girişi, bağışıklık sisteminin çeşitli bağışıklık hücrelerinin aktivasyonunun yanı sıra sitokinler de dahil olmak üzere farklı sinyal moleküllerinin üretimini içeren karmaşık bir savunma mekanizmasını harekete geçirmesine neden olmaktadır. Bu bağışıklık hücreleri, endotel hücreleri ve epitel hücreler dahil olmak üzere farklı hedef hücreler üzerinde etki göstermektedir. Çeşitli interlökinler enfeksiyöz ajanlara karşı bağışıklık tepkisinde rol oynar ve bunlar bağışıklık sistemi üzerindeki etkilerine bağlı olarak pro-inflamatuar veya anti-inflamatuar olarak sınıflandırılmaktadır.

İnterlökin-1 β (IL-1 β) ve IL-6 gibi pro-inflamatuar interlökinler, enfeksiyöz ajanlara karşı bağışıklık yanıtını başlatmak için gereklidir. İmmün hücre alımını ve aktivasyonunu uyarır, vasküler geçirgenliklerini artırır ve ateşi tetiklerler; bunların hepsi istilacı patojenlerle savaşmak için kritik öneme sahiptir. Bununla birlikte, pro-enflamatuar interlökinlerin aşırı salgılanması, doku hasarına neden olabilen ve ciddi enfeksiyon ve sepsis gelişimine katkıda bulunan hiperinflamatuar bir yanıtı açmaktadır (Chousterman ve ark., 2017).

İnflamasyon (iltihap), organizmanın enfeksiyon, doku hasarı, toksinler ya da yabancı maddelere karşı verdiği savunma yanıtlarından biridir. Bu yanıt, organizmayı zararlı uyaranlardan korumayı, hasar gören dokunun onarımını başlatmayı ve homeostazı yeniden sağlamayı amaçlar. İnflamasyon, doğuştan bağışıklık sisteminin temel bileşenlerinden biri olup hızlı gelişen, kısa süreli ve genellikle lokalize bir süreçtir. Klasik inflamasyon yanıtı kızarıklık, şişlik (tümör), ısı artışı, ağrı ve işlev kaybı gibi beş temel klinik bulgu ile karakterizedir. Bu bulgular, inflammatuar sürece katılan damar genişlemesi, damar geçirgenliğinin artışı, immün hücre göçü ve kimyasal mediyatörlerin salınımı gibi fizyolojik değişimlerin bir sonucunda ortaya çıkmaktadır. İnflamasyon sırasında bölgeye yönlendirilen hücreler arasında nötrofiller, monositler, makrofajlar ve lenfositler rol

oynamaktadır. Bu hücreler tarafından salınan çeşitli mediyatörler hem lokal hem de sistemik yanıtları şekillendirmektedir. Ayrıca, uygun inflamatuvar reaksiyonlar, yıkıcı süreçlere göre homeostazı geri kazanma süreçlerinin bir avantajı ile karakterize edilmektedir. Bununla birlikte, bu reaksiyonlar yaşlanma sırasında bozulabilir, böylece enfeksiyona karşı duyarlılığın artmasına neden olmaktadır. Uyarıcı faktörlerin aktivitesi ve inflamasyonun uygun şekilde gelişmesinin mekanizmaları düzensizse, vücut sürekli bir sağlık tehlikesi sinyali alır ve akut fazdan kronik bir inflamatuvar duruma geçmektedir (Franceschi ve ark., 2014; Sochocka ve ark., 2017).

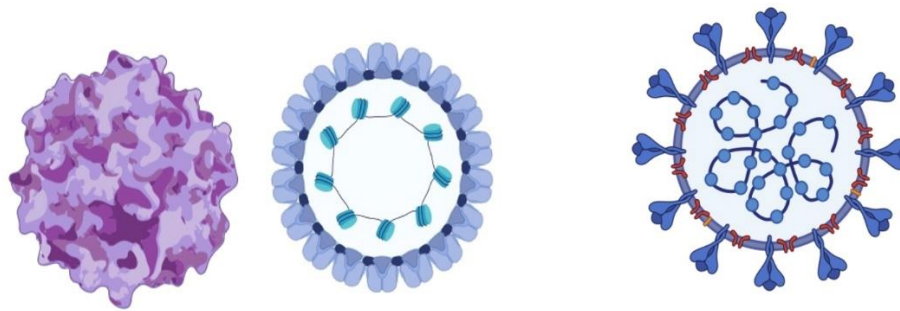
İnflamasyon süreci, genel olarak akut ve kronik olmak üzere iki evrede incelenir. Akut inflamasyon, hızlı başlayan ve kısa sürede sonlanan, genellikle koruyucu bir yanıttır. Ancak inflamatuvar süreç yeterince kontrol edilemez veya sürekli hale gelirse, kronik inflamasyon gelişebilir. Kronik inflamasyon, doku yıkımı, fibroblast aktivasyonu, anjiyogenez ve skar oluşumu gibi olaylarla ilişkilidir. Birçok hastalığın temelinde yer alabilen bu durum, kardiyovasküler hastalıklardan, romatolojik bozukluklara; nörodejeneratif hastalıklardan kansere kadar geniş bir yelpazede etkili olabilir (Maskrey ve ark., 2013).

Bir organizma patojenik virüsler tarafından istila edildiğinde viral bir akut veya kronik enfeksiyon süreci meydana getirmektedir. Virüsler, dünyanın hemen hemen her ekosisteminde en çok bulunan biyolojik varlık türüdür. Ayrıca, değişkenlikleri çok yüksek olmakla birlikte özellikle RNA virüslerinin milyonlarca varyantı bulunmaktadır. Örneğin, koronavirüsler zarflı, tek zincirli pozitif RNA virüsleri olup, oldukça geniş bir aile oluştururlar. İnsanlarda genellikle üst solunum yollarını tutarlar. Hafif üst solunum yolları enfeksiyonlarının yanı sıra pnömoni ve bronşiyalit gibi ciddi alt solunum enfeksiyonlarına da sebep olabilirler.

Sonuç olarak inflamasyon, vücudun savunma ve onarım mekanizmasının vazgeçilmez bir parçası olsa da bu yanıtın şiddeti, süresi ve regülasyonu hastalık gelişiminde kritik bir rol oynamaktadır. Bu nedenle inflamasyonun temel mekanizmalarının anlaşılması, hastalıkların önlenmesi ve tedavi stratejilerinin geliştirilmesi açısından büyük önem taşımaktadır (Kabata ve ark., 2018).

2.1. Virüslerin Tanımı ve Genel Özellikleri

"Virüs" kelimesi, Latince'de "zehir" anlamına gelen virus sözcüğünden türemiştir. Virüsler, canlı organizmalarla (bakteriler, arkeler ve ökaryotlar dahil olmak üzere) etkileşim içerisinde bulunan, bulaşıcı ve zorunlu hücre içi parazitlerdir. Virüsler, neden oldukları hastalıklar ve hedef aldıkları organlar açısından çeşitlilik göstermekle birlikte, temel yapısal bir birlik sergilerler. Tüm virüsler proteinler ve nükleik asitten oluşurken, bazıları ayrıca lipid yapısında bir zarfla kaplıdır (Şekil 2.1). Virüslerin replikasyon biçimleri diğer organizmalardan farklıdır; ikili bölünme (birin ikiye, ikinin dörde bölünmesi vb.) şeklinde gerçekleşmez, aksine kısa sürede tek bir virüsten binlerce yeni virüs parçacığının oluşmasıyla meydana gelir. Hücre kültüründe veya kanda üretilen virüs sayısı, mililitre başına on milyonları bulabilmektedir. Bu replikasyon özelliği, virüsleri diğer yaşam formlarından ayıran en önemli unsurlardan biridir. Diğer tüm canlılarda genetik materyal olarak DNA bulunurken, protein sentezi ve hücresel işlevler için RNA bir ara basamak olarak görev yapar. Virüsler ise bu açıdan benzersizdir; genetik materyal olarak ya DNA ya da RNA içerirler. Her ne kadar konak hücrede replikasyon sırasında her iki tip nükleik asit süreçte rol alsın da şu ana kadar hem DNA hem RNA'yı genetik materyal olarak taşıyan bir virüs keşfedilmemiştir.



Zarfsız virüs

Zarflı virüs

Şekil 2.1. Virüslerin zarflı ve zarfsız gösterimi (Biorender.com ile çizilmiştir).

Virüsler ribozom, mitokondri veya diğer hücresel organellere sahip değildir; bu nedenle tamamen parazitik özellik gösterirler. Konak hücrenin metabolik süreçlerine bağımlı olduklarından, genetik parazitler olarak tanımlanırlar. Bu durum onları, kendi başına çoğalabilen fakat aynı zamanda parazitik özellik gösterebilen bakteriler ve protozoa gibi diğer mikroorganizmalardan ayırır. Virüsleri farklı kılan bir diğer özellik de küçük boyutları ve filtrelerden geçebilme yetenekleridir. Virolojinin ilk dönemlerinde bu özellik, virüsleri diğer mikroorganizmalardan ayırmada temel bir kriter olarak kabul edilmiştir. Örneğin, diyatumlu topraktan (kizelgur) yapılmış filtrelerden geçebilmeleri, bakteriler, mantarlar veya protozoalardan ayrılmasını sağlamıştır. Ancak son yıllarda büyük boyutlu virüslerin keşfiyle birlikte bu kriter tek başına yeterli olmaktan çıkmıştır. Fransız mikrobiyolog André Lwoff, lizojeni (bakteriyofaj DNA'sının konak hücre kromozomuna entegre olması) üzerine yaptığı çalışmalar sırasında virüsleri bazı olumsuz özellikleriyle tanımlamıştır (Lwoff, 1957). Bu tanımlamaya göre virüsler:

- ✓ Sadece tek bir tip nükleik asit içerirler.
- ✓ Genetik materyallerini (RNA veya DNA) kullanarak çoğalırlar. Ancak bu ifade tam anlamıyla doğru değildir; örneğin Hepatit B virüsü DNA virüsü olmasına rağmen çoğalması sırasında RNA ara ürünü kullanır. Benzer şekilde retrovirüsler RNA virüsü olmalarına rağmen çoğalmalarını DNA aracılığıyla gerçekleştirirler.
- ✓ İkili fisyon ile bölünemezler.
- ✓ Mitokondri, ribozom gibi enerji üretim ve protein sentez sistemlerinden yoksundurlar.
- ✓

Lwoff'un bu olumsuz tanımı, virüslerin hücresel yapıya sahip olmadıklarını ve tamamen konak hücreye bağımlı olduklarını vurgulamaktadır. Temel olarak bir virüs, konak hücreye aktarılmak ve çoğaltılmak üzere bir protein kılıf içerisinde korunan genetik bilgi paketidir. Konak hücreye girdikten sonra hücresel mekanizmaları tamamen ele geçirerek kendi çoğalmasını sağlar. Bu süreç, genellikle hücre ölümüne (lisis) yol açarken, bazı tümör virüsleri durumunda hücrenin kalıcı olarak değişmesine neden olduğu gösterilmiştir (Taylor, 2014).

Genetik materyalleri DNA veya RNA'dan oluşan virüsler, kendi replikasyonlarını gerçekleştirebilmek için konak hücrelerin biyosentetik ve metabolik sistemlerine ihtiyaç duymaktadır. Viral genom, konak hücreye girdikten sonra, hücresel mekanizmaları yönlendirerek hem kendi çoğalmasını hem de viral yapısal ve işlevsel bileşenlerin sentezini sağlamaktadır. Bu bileşenlerin konak hücre içerisinde bir araya gelmesiyle virüs partikülleri, yani virionlar, oluşur. Virionlar, viral genomun başka bir konak hücreye ya da organizmaya taşınmasında görev almaktadır. Uygun çevresel koşullarda bu virionlar parçalanarak yeni bir enfeksiyon döngüsünü başlatmaktadır.

Virionlar, nükleik asit, kapsid proteinleri ve bazı virüslerde zarf lipidleri ile glikoproteinlerin bir araya gelmesiyle oluşan tamamlanmış viral partiküllerdir ve enfeksiyonun yayılmasında merkezi rol oynamaktadır. Ayrıca, viral genomu ve onu çevreleyen kapsidi içeren, zarflı virüslerde ise ek olarak lipid zarf ve glikoproteinleri barındıran tamamlanmış viral partikül olarak tanımlanır. Bu yapılar, virüsün konak hücreye girişini kolaylaştırmanın yanı sıra yeni hücrelerde replikasyon döngüsünü başlatan temel işlevsel birimlerdir. Virionlar, uygun çevresel koşullarda konak hücreden ayrılarak yeni enfeksiyon zincirlerini başlatabilir böylece viral yaşam döngüsünü devam ettirmektedir. En basit haliyle bir virüs, replikasyon için gerekli olan genetik materyali taşıyan bir genom ile bu genomu koruyan ve taşıyan, kapsid olarak adlandırılan protein bir kılıftan meydana gelmektedir. Zarflı virüslerde ise kapsid, konak hücreden türeyen lipid çift tabakalı bir zarla çevrilidir ve bu zar üzerinde virüse özgü glikoproteinler yer almaktadır. Virüsler, yaşamlarını sürdürebilmek için konak hücrelerin protein sentezi ve diğer temel makromoleküler süreçlerine tamamen bağımlıdır.

2.2. Viral Genom ve Virionların Yapısı

Virionlar, virüslerin konak hücreler arasında bulaşmasını sağlayan enfektif formudur. Temel işlevleri, virüs genomunu çevresel koşullara karşı korumak ve uygun bir konak hücreye girişini kolaylaştırmaktır (Prasad ve Schmid, 2012). Tüm virionlar, en azından bir viral genom ile bu genomu çevreleyerek koruma sağlayan protein yapısındaki kapsidden oluşmaktadır.

Bazı virüslerde, kapsid konak hücre plazma zarından veya hücre içi veziküllerin membranından türeyen lipid çift katmanlı bir zar (zarf) ile çevrilidir. Bu zar, genellikle bir veya birden fazla türde virüs tarafından kodlanan özgül membran glikoproteinlerini içererek bunun sayesinde konak hücre ile etkileşiminde görev almaktadır. Virion yapısı, virüs türüne ve sahip olduğu yapısal karmaşıklığa bağlı olarak değişiklik göstermektedir. Bazı virüslerde ek olarak; mRNA molekülleri, kapsid ile zarf arasındaki boşlukta taşınan çeşitli proteinler, enzimler ve poliaminler gibi küçük moleküller de virion bileşenleri arasında yer almaktadır. Birçok virion alt birimi, saflaştırılmış bileşenlerden bağımsız olarak kendiliğinden bir araya gelebilme yeteneğine sahip olsa da virionlar genel olarak düşük entropili ve dolayısıyla enerji gerektiren son derece organize yapılardır. Bu yapısal düzenin sağlanabilmesi için, virüs genomunun negatif yüklü fosfodiester omurgasının nötralize edilmesi gerekir. Bu nötralizasyon, kapsid proteinlerinde bulunan pozitif yüklü amino asit kalıntıları (nükleoproteinler) aracılığıyla ya da poliaminler ve diğer küçük katyonik moleküller kullanılarak sağlanır. Virion montaj süreci, yeni sentezlenen viral proteinler ile replike olmuş viral genomların koordineli bir şekilde üretilmesini ve bu bileşenlerin hücre içerisinde montajın gerçekleşeceği uygun bölgelere yönlendirilmesini içerir. Montajın verimli bir şekilde tamamlanabilmesi, hem enfektivite için gerekli olan yapısal bütünlüğün sağlanması hem de virionların çevresel stres faktörlerine karşı dirençli olabilmesi açısından kritik öneme sahiptir. Bununla birlikte, virionlar yalnızca sağlam bir yapıya sahip olmakla kalmayıp aynı zamanda enfekte ettikleri yeni konak hücre içerisinde zamanında ve kontrollü bir şekilde parçalanabilmelidir. Bu parçalanma süreci, viral genomun hücre içi replikasyon döngüsünü başlatabilmesi için yapısal bileşenlerin uygun şekilde ayrıştırılmasını ve salınmasını sağlamaktadır.

Virüsler, dış kabuklarında lipid çift katmanlı bir zarın bulunup bulunmamasına bağlı olarak zarflı ve zarfsız olmak üzere iki ana kategoriye ayrılmaktadır. Zarflı ve zarfsız virüsler yapıları, enfeksiyon şekilleri ve stabiliteleri bakımından farklılık gösterir. Her iki virüs kategorisi de genomlarını bir kapsid kabuğu içinde taşır. Kapsidler tipik olarak kapsomer adı verilen tekrarlayan protein alt birimlerinden oluşur (Louten, 2016). Zarflı virüsler, viral kapsidi çevreleyen bir dış lipid çift katmanlı membrana (zarf) sahiptir (Şekil 2.2.). Bu zarf, tomurcuklanma süreci sırasında konak hücrenin zarından (plazma zarı veya Golgi aparatı veya endoplazmik retikulum gibi iç zarlar) türetilir. Zarf, spesifik

yüzey reseptörlerine bağlanarak virüsün konak hücrelere tutunmasını ve girişini kolaylaştıran viral glikoproteinlerle süslenmiştir. Lipid zarf, zarflı virüsleri ısı, kuruma, deterjanlar ve çözücüler gibi çevresel faktörlere karşı daha hassas hale getirir (Garoff ve ark., 1998). Zarflı virüslerin çoğu hava yoluyla bulaşmaz veya zarfsız virüslere kıyasla damlacıklarda ve aerosollerde kısa ömürlüdür. SARS-CoV-2'nin solunan solunum aerosollerinde ve öksürük damlacıklarında hava yoluyla bulaşması, hava yoluyla bulaşan zarflı virüslere bir örnektir (V'kovski ve ark., 2021). Zarfsız virüsler genellikle değişen sıcaklıklar, pH değişiklikleri ve hatta bazı deterjanlar dahil olmak üzere çevresel stres faktörlerine karşı daha dirençlidir (Tarka ve Nitsch, 2021). Sağlam kapsidleri çeşitli koşullarda koruma sağlamaktadır. Adeno-ilişkili virüsler, serotiplerine bağlı olarak bir dizi sıcaklıkta 3 ila 9 pH aralığına dayanabilen zarfsız virüslere bir örnektir (Prather ve ark., 2020). Bu stabilite, zarfsız virüslerin yüzeylerde daha uzun süre kalmasını ve fekal-oral yol, fomitler veya kontamine su gibi yollarla bulaşmasını sağlar. Kırılganlıkları nedeniyle, zarflı virüsler tipik olarak yakın temas, vücut sıvıları veya aerosoller yoluyla bulaşır ve burada zorlu çevresel koşullardan korunurlar. Zarflı virüslere örnek olarak influenza virüsü, HIV, Herpesvirüsler, koronavirüsler (örneğin SARS-CoV-2) ve Hepatit B virüsü verilebilir. Zarfsız virüsler arasında Adenovirüsler, Poliovirüs, Rinovirüsler, Hepatit A, D, E virüsü ve Norovirüsler bulunmaktadır (Şekil 2.3.). HIV ve İnfluenza gibi bazı zarflı virüsler, yüzey glikoproteinlerinde hızlı antijenik varyasyona uğrayarak bağışıklık sisteminin uzun vadede etkili bir yanıt vermesini zorlaştırmaktadır (Air ve West, 2014).

Virüs kapsidleri genel olarak iki temel morfolojik formda ikozahedral ve sarmal (helikal) kapsidler olmak üzere sınıflandırılmaktadır. Bu yapılar, boyut ve yapısal karmaşıklık açısından oldukça geniş bir çeşitlilik göstermektedir. İkozahedral kapsidler, genellikle bir veya birden fazla türde kapsid proteininin oluşturduğu üçgen alt birimlerin bir araya gelmesiyle inşa edilmektedir. Bu düzen hem yapısal stabilite sağlar hem de kompakt bir genetik paketlenme sunmaktadır. Örneğin, Hepeviridae ailesine ait virüsler oldukça küçük ve basit yapılı ikozahedral kapsidlerden oluşmaktadır. Bu kapsidler, yalnızca tek bir kapsid proteininin üç farklı varyantının toplam 60 molekülünden oluşur ve çapları 18–26 nm arasında değişmektedir. Buna karşılık, Herpesviridae ailesine ait virüsler yaklaşık 100 nm çapa sahip, oldukça büyük ve karmaşık ikozahedral kapsidlere sahiptir. Herpesvirüs

kapsidleri, 1900'den fazla ayrı protein molekülünden oluşan yüksek düzeyde organize yapılardır. Helikal kapsidler ise viral genomu çevreleyen nükleoproteinlerin, spiral biçimde dizilerek oluşturduğu silindirik yapılardan oluşmaktadır. Bu kapsidlerin çapı, temel kapsid proteininin boyutu ve yapısal özellikleri tarafından belirlenirken, uzunlukları ise viral genomun uzunluğuna bağlı olarak değişir. Helikal yapıların klasik bir örneği Coronaviridae ailesine ait virüslerde görülmektedir.

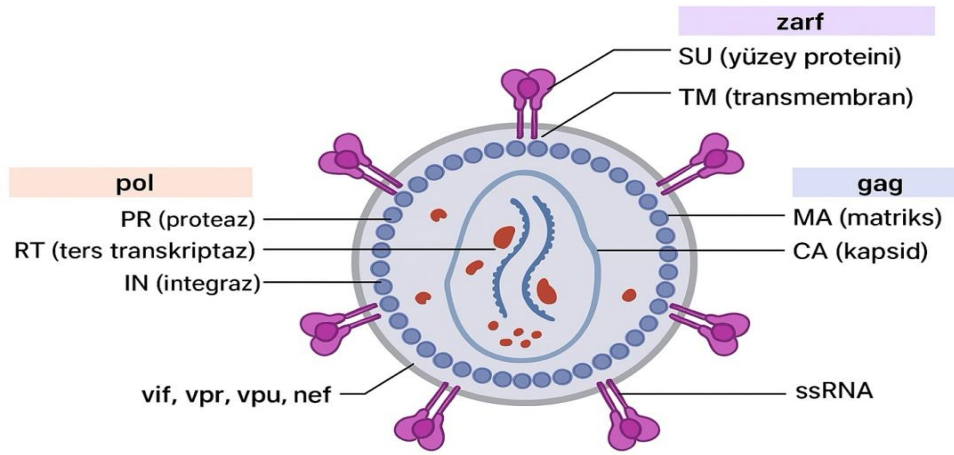
Virionlar, yalnızca viral genomun hücreden hücreye veya organizmadan organizmaya taşınmasını sağlayan enfektif yapılar olmanın ötesinde, konak hücre biyolojisi üzerinde önemli etkiler oluşturabilecek biyolojik aktivitelere de sahiptir. Bir virionun konak hücre yüzeyindeki özgül bir reseptöre bağlanması, saniyeler veya dakikalar içinde gerçekleşebilen hızlı konak hücre yanıtlarını tetikleyebilir. Bu yanıtlar arasında antiviral savunma mekanizmalarının aktive edilmesi ve hücre iskeletinin yeniden düzenlenmesi gibi dinamik süreçler yer almaktadır. Virüs kaynaklı proteinler, yalnızca virüs replikasyonu için değil, aynı zamanda konak hücrenin viral nükleik asitlere karşı geliştirdiği içsel bağışıklık yanıtlarının modülasyonu açısından da kritik roller üstlenmektedir. Buna ek olarak, bazı viral proteinler, virüs çoğalmasını desteklemek amacıyla konak hücrenin transkripsiyonel mekanizmalarını yönlendirmekte veya baskılamaktadır.

Bazı virüsler, özellikle negatif iplikli RNA virüsleri, genomlarının replikasyonu ve mRNA sentezi için gerekli olan enzimleri doğrudan virion içerisinde taşımaktadır. Örneğin, RNA'ya bağımlı RNA polimeraz (RdRp) enzimi, bu tür virüslerde mRNA üretimi için mutlak gerekliliğe sahiptir ve bu enzim çoğu zaman virionun yapısal bileşenleri arasında yer almaktadır. Bu özellik, virüslerin hücreye girdikten sonra hızlıca translasyon ve replikasyon süreçlerine başlayabilmelerini sağlamaktadır. Virüs genomları, taşıdıkları nükleik asitlerin formuna göre sınıflandırılmaktadır.

Genetik materyal, RNA veya DNA formunda olabilir ve bu yapılar tek sarmallı (ss) ya da çift sarmallı (ds), doğrusal veya dairesel olabilir. RNA virüslerinin büyük bir kısmı doğrusal genomlara sahiptir. RNA virüs genomları işlevsel yönde sınıflandırıldığında üç ana gruba ayrılmaktadır. İlk grup, pozitif iplikli tek sarmallı RNA (ssRNA⁺): Bu genomlar doğrudan mRNA gibi translasyona girerek protein sentezini başlatmaktadır. İkinci grup,

negatif iplikli tek sarmallı RNA (ssRNA⁻): Bu genomlar, önce tamamlayıcı bir pozitif iplik sentezlenmeden translasyona giremez. Son olarak, çift sarmallı RNA (dsRNA): Her iki iplik de mevcuttur, ancak translasyon için pozitif iplik gerekmektedir. DNA virüs genomları ise tek sarmallı (ssDNA) veya çift sarmallı (dsDNA) olabilir. Bu DNA molekülleri doğrusal ya da dairesel yapıda bulunmak DNA virüs genomları ise tek sarmallı (ssDNA) veya çift sarmallı (dsDNA) olabilir. Bu DNA molekülleri doğrusal ya da dairesel yapıdan meydana gelmektedir (Rampersad, 2018).

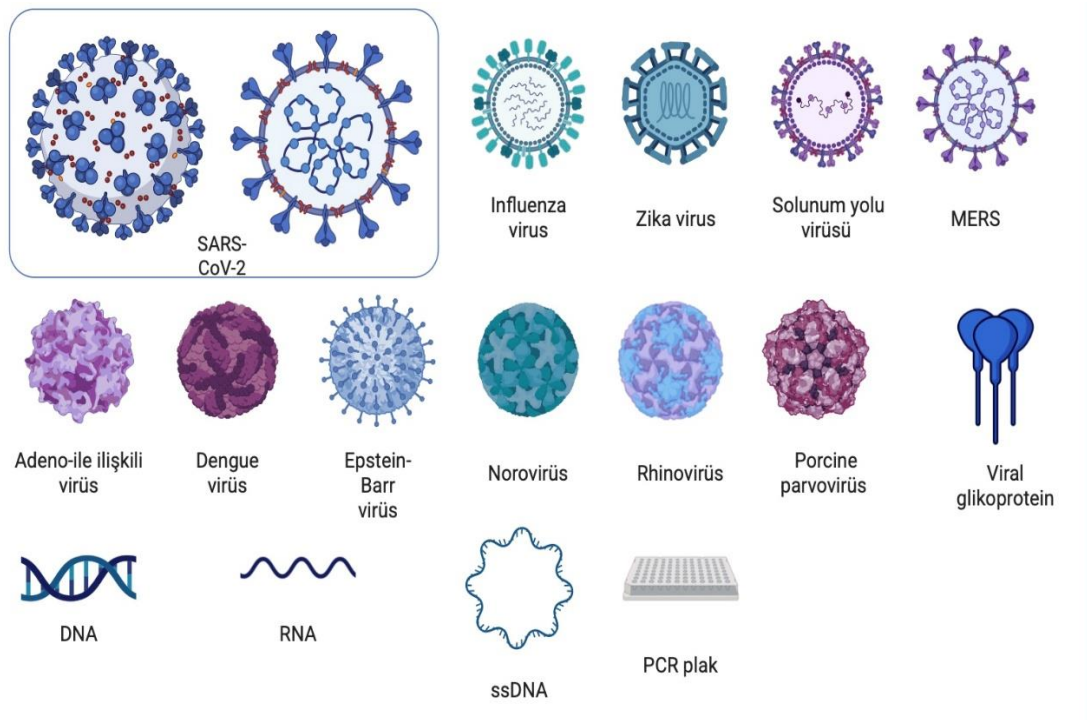
virion yapısı



Şekil 2.2. Virüslerin virion yapısı (Biorender.com ile çizilmiştir).

Virüs genomlarının önemli bir kısmı protein kodlayan dizilerden oluşur. Bazı tek iplikli RNA virüsleri hem pozitif iplikten hem de tamamlayıcı negatif iplikten farklı proteinleri kodlayabilir. Bu özelliğe sahip ambisens genomlar, özellikle Arenaviridae ve Coronaviridae ailelerinde gözlenmektedir. Ancak bazı virüslerin genomları segmentli yapıdadır. Bu durumda her bir segment, bağımsız bir genomik molekül gibi davranarak belirli genleri kodlamaktadır. Orthomyxoviridae (örneğin influenza virüsü) ailesi bu yapıya sahip en iyi bilinen örneklerdendir. Ayrıca, virüslerin protein kodlama stratejileri de farklılık göstermektedir. Çeşitli virüslerde genom, tek bir büyük açık okuma çerçevesi (ORF) içerir ve bu ORF, translasyon sonrası proteolitik olarak birden fazla bağımsız proteine ayrılan bir poliprotein üretmektedir. Diğer virüslerde ise genomda birden fazla ORF bulunur ve bu bölgelerden ayrı ayrı proteinler sentezlenmektedir. Bunlara ek olarak,

birçok virüs yalnızca protein kodlamakla kalmaz; aynı zamanda mikro RNA'lar gibi kodlamayan RNA moleküllerini de üretmektedir. Bu RNA'lar, viral replikasyonun düzenlenmesinde ve konak hücre yanıtlarının modülasyonunda önemli bir rol oynamaktadır. Son olarak, virüs genomları yalnızca protein ya da RNA üretimiyle sınırlı işlevler üstlenmez. Aynı zamanda, replikasyon için sinyal görevi gören ve yapısal stabilite sağlayan dizileri de içermektedir. Ayrıca, bu bölgeler virüs yaşam döngüsünde kritik işlevlerde görev almaktadır.



Şekil 2.3. Bazı virüs çeşitlerinin şematik gösterimi (Biorender.com ile çizilmiştir).

2.3. Virionların Biyolojik Aktiviteleri ve Konak Hücre Etkileşimleri

Virüs replikasyonu hücresel süreçlerle yakından bağlantılı olsa da virüsler replikasyonları için gerekli sistemleri ve kaynakları sağlamak üzere hücreleri kullanan aselüler genetik parazitlerdir. Virüsler, viral genomun uygun konak hücrelere iletilmesi için kullanılan sofistike araçlardır. Virüs genom tiplerinin ve virion yapılarının geniş çeşitliliği, virüs replikasyon şemalarının da büyük bir çeşitlilik göstermesine yol açmaktadır. Öğrenilecek çok şey olmasına rağmen, klinik açıdan önemli virüslerin çoğunun replikatif

mekanizmalarının anlaşılmasında büyük ilerleme kaydedilmiştir (Flint ve ark., 2009; King ve ark., 2011).

Bir virüs, vücuttaki diğer hücreleri ya da yeni konakçıları enfekte edebilmek için replikasyon sürecinden geçerek yeni, bulaşıcı virionlar oluşturmaktadır. Vücuda girdikten sonra virüs, hedef hücrenin plazma zarıyla fiziksel temas kurar ve bu bariyeri aşarak hücre içine girmektedir. Hücreye girdikten sonra, virüs genomunu serbest bırakır ve konak hücrenin ribozomlarını kullanarak kendi proteinlerinin sentezini başlatmaktadır. Eş zamanlı olarak genomu çoğaltır ve bu yeni sentezlenen moleküller, viral partiküllerin oluşumu için bir araya getirilmektedir. Bu şekilde, yeni bulaşıcı virionlar oluşturmaktadır. Son aşamada ise bu virionlar, enfeksiyonun yayılımını sürdürebilmek için konak hücreden dışarı salınmaktadır.

Virüs replikasyon döngüsü, virüsün konak hücreye girmesiyle başlar ve bu süreç üç temel aşamadan oluşur: bağlanma, penetrasyon (içeri giriş) ve kaplamanın açılması (uncoating). İlk olarak, virion yüzeyindeki bağlanma proteinleri konak hücre yüzeyindeki spesifik reseptörleri tanır ve onlara bağlanır. Zarflı virüslerde bu bağlanma genellikle zarf glikoproteinleri aracılığıyla gerçekleşir; örneğin, influenza virüsünde bu görev hemaglutinin glikoproteini tarafından üstlenilir (Cosset ve Lavillette, 2011). Zarfsız virüslerde ise bağlanma, adenovirüste fiber proteini gibi tek bir protein ya da poliovirüste olduğu gibi çok proteinli bir yapı aracılığıyla gerçekleşebilir (Moyer ve Nemerow, 2011; Suomalainen ve Greber, 2013). Penetrasyon aşamasında virüs, konak hücre sitoplazmasına erişim kazanır. HIV-1 gibi bazı zarflı virüsler, zarf yapılarının doğrudan konak hücrenin plazma membranıyla kaynaşması yoluyla hücreye girer. Diğer zarflı virüsler ise endositozla hücre içine alınır; bu durumda viral zar, endositik vezikül membranıyla birleşerek nükleokapsidin sitoplazmaya salınmasını sağlar. Bu birleşme genellikle, viral zarf proteinlerinin yapısal (konformasyonel) bir değişikliğe uğraması sonucu, membran füzyonunu başlatan hidrofobik füzyon peptidinin açığa çıkmasıyla gerçekleşir (Plempner, 2011). Zarfsız virüslerin penetrasyon mekanizmaları ise zarflı virüslere kıyasla daha az iyi anlaşılmıştır. Bu virüslerde, hücre yüzeyine veya endositik veziküllere bağlanma sonrasında viral kapsid proteinlerinde meydana gelen konformasyonel değişiklikler, hidrofobik alanların veya membran destabilize edici yapıların açığa çıkmasına sebep olmaktadır. Bazı durumlarda, bu konformasyonel

değişikliklerin gerçekleşebilmesi için hücresel ko-reseptörlerin varlığı ya da endositik kompartmanın asidik bir ortama geçmesi gibi çevresel faktörler gerekmektedir.

Virüs genomunun viral replikasyon için gerekli hücresel bileşenlere erişmesine izin vermek için virionda daha fazla değişiklik yapılmalıdır. Bu kaplamayı açma sürecinin ayrıntıları virüs tipine ve replikasyon stratejisine ve virüs genom replikasyonunun gerçekleştiği hücre içindeki kompartmana göre değişmektedir. Çoğu DNA virüsü için (Baltimore sınıf I ve II, poxvirüsler hariç), genom içeren kapsid veya nükleoprotein kompleksi bir nükleer gözenegin yakınına taşınır, ardından genom gözenekten geçerek gen ifadesinin ve replikasyonun başlatmaktadır. Pozitif iplikli RNA virüsleri (Baltimore sınıf IV) için, genomik RNA'nın kapsidden ayrılması, ribozomlarla birleşmesine ve viral gen replikasyonunu sağlamaktadır. Çift iplikli ve negatif iplikli RNA virüsleri (Baltimore sınıf III ve V) için, kaplamanın açılması tipik olarak virionun dış bileşenlerini ortadan kaldırır ancak genomu virüs tarafından kodlanan RdRp ile ilişkili bırakmaktadır. Virüsler konak hücreye giriş yaptıktan sonra, replikasyon döngüsünün devam etmesi için virüs genlerinin ifade edilmesi (mRNA'ya kopyalanması ve çevrilmesi) gerekmektedir. Virüs genom tipleri ve gen organizasyonu büyük ölçüde değişiklik gösterse de mRNA üretimi büyük önem arz etmektedir. Özünde, bir virüsün genetik materyalinin türü ve yapısı, gen ifade şemasının temel yönlerini belirlemektedir. Kritik virüs genomu özellikleri nükleik asit türü (DNA veya RNA), tek sarmallı (ss) veya çift sarmallı (ds) olması ve tek sarmallı RNA için pozitif veya negatif anlamlı (+ veya-) olmasıdır (Knipe ve ark., 2013).

Viral nükleik asitler çeşitli konfigürasyonlarda bulunmaktadır. Doğrusal veya dairesel olabilirler ve influenza virüslerinde olduğu gibi virion içinde birkaç küçük parçaya bölünebilirler veya kuduz virüsü gibi gerekli tüm genleri kodlayan tek bir nükleik asit molekülü içeren bölümlere ayrılmamış olabilmektedir. Daha uzun moleküller daha fazla kırılmaya maruz kalır, ancak parçalı virüsler bulaşıcı olabilmek için tüm genom parçalarını bir viryon içinde paketlemektedir. Nükleik asitlerinin yapısı ne olursa olsun, tüm virüslerin yeni virionlar oluşturmak için viral proteinlerini ifade etmeleri ve genomlarını hücre içinde çoğaltmaları gerekmektedir. Küçük genomları nedeniyle virüsler, genomlarının kodlama potansiyelini en üst düzeye çıkarmak için, tek bir genomik bölgeden birden fazla mRNA'nın ve dolayısıyla birden fazla proteinin üretilmesine izin veren örtüşen genler ve alternatif ekleme dahil olmak üzere çeşitli

stratejiler kullanmaktadır. Virüsler ayrıca tek bir mRNA'dan birden fazla protein üretmek için alternatif başlatma kodonlarını, dahili ribozomal giriş bölgelerini veya translasyonel çerçeve kaydırmayı kullanabilmektedir.

DNA'mızın proteinlerimizi üretmek için gerekli bilgileri kodlaması gibi, bir virüsün genomu da kendi proteinlerinin sentezi için gerekli talimatları içerir. Yeni virionların oluşabilmesi için, virionda dahil edilecek proteinler viral genlerin ekspresyonu yoluyla sentezlenir; virüs genomu ise replikasyon süreciyle kopyalanır. Bir virüsün replikasyon stratejisi, genellikle sahip olduğu nükleik asit genomunun türüne bağlıdır. Birçok virüs sınıfı, genomlarını çoğaltmak için konak hücreye ait proteinlerden faydalanır. Bu nedenle, bu hücrel proteinlerin hücre içindeki konumu, viral nükleik asidin replikasyonunun hangi bölgede gerçekleşeceğini belirlemede önemli rol oynamaktadır. Sınıf I (çift sarmallı DNA – dsDNA) virüsleri, genomlarını konak hücrenin DNA replikasyon sistemine benzer mekanizmalarla çoğaltır. Küçük genomlara sahip olanlar bu süreçte tamamen hücrel enzimleri kullanırken, daha büyük genomlu virüsler kendi DNA replikasyon enzimlerini kodlayabilir. Sınıf II (tek sarmallı DNA – ssDNA) virüsleri, çoğalmak için önce hücrel enzimler aracılığıyla çift sarmallı DNA (dsDNA) ara ürünleri sentezler. Bu ara ürünlerden, yeni tek sarmallı DNA progeny (yavru) genomlar üretilir. Sınıf III (çift sarmallı RNA – dsRNA) virüsleri ile Sınıf V (negatif anlamlı tek sarmallı RNA – ssRNA-) virüslerinin replikasyonu için viral RNA'ya bağımlı RNA polimeraz (RdRp) gerekir. Bu enzim, genomdan mRNA sentezler ve aynı zamanda tamamlayıcı RNA kopyalarını oluşturur. Bu tamamlayıcı RNA'lar, yeni virüs genomlarının sentezinde şablon olarak kullanılır. Sınıf IV (pozitif anlamlı tek sarmallı RNA – ssRNA+) virüsleri, mRNA gibi işlev görebilen genomlara sahiptir. Genom hücreye girdikten sonra doğrudan tek bir poliproteine çevrilir. Bu poliprotein, daha sonra kendini oto katalitik olarak çeşitli işlevsel proteinlere ayırır. Bu proteinler arasında, viral RNA'nın replikasyonunu sağlayan RNA'ya bağımlı RNA polimeraz da bulunur. Bu enzim, antijenom adı verilen tamamlayıcı RNA'ları sentezler ve bu antijenomlar yeni genomların sentezi için şablon görevi görmektedir. Sınıf V virüslerinin (ssRNA-) genomları doğrudan protein sentezine çevrilemez, çünkü bu RNA zinciri mRNA'nın tamamlayıcısı yani antisensidir. Bu nedenle bu virüsler, replikasyonun ilk adımında viral RdRp ile mRNA sentezlemek zorundadır. Ortomiksovirüsler (örneğin influenza virüsleri) ve retrovirüsler (örneğin

HIV) dışında RNA virüslerinin çoğu replikasyonlarını sitoplazmada gerçekleştirmektedir. Virüs birleşme süreci, birçok hareketli bileşeni ve hücrel proteinlerin işlenmesi ile taşınmasında görev alan hücrel makinelerle yoğun etkileşimi içermektedir (Flint ve ark., 2009; Knipe ve ark., 2013). Genellikle yeni oluşan virionlar ya da en azından kapsid yapıları viral genomun çoğaltıldığı hücrel bölmede bir araya gelmektedir. Dolayısıyla, RNA virüslerinin çoğu sitoplazmada birleşirken, DNA virüsleri genellikle çekirdekte birleşmeye başlamaktadır. Zarfsız (zarf içermeyen) virionlar, çoğunlukla enfekte hücrenin lizisi sırasında çevreye salınmaktadır. Öte yandan, zarflı virionlar için genomu içeren kapsidin montajı tamamlandıktan sonra, virüs uygun bir hücrel zar yapısından tomurcuklanarak zarfını kazanmaktadır. Bu zarf genellikle plazma zarından elde edilir; bu durumda tomurcuklanma süreci aynı zamanda virionun hücreden çıkışını da sağlamaktadır. Alternatif olarak, virüs nükleer zar, endoplazmik retikulum, Golgi aygıtı veya başka bir organelin zarı üzerinden de tomurcuklanmaktadır. Bu durumda, yeni oluşan virionlar veziküller aracılığıyla plazma membranına taşınır ve vezikülün plazma membranı ile kaynaşmasıyla hücre dışına salınmaktadır (Jackson ve ark., 2022). SARS-CoV-2, zarflı bir virüs olup, virionların zarflama ve salınım süreçlerini endoplazmik retikulum-Golgi ara istasyonu (ERGIC) içerisinde gerçekleştirir. Viral yapılar, ERGIC membranında tomurcuklanarak virionları oluşturur ve bu süreç, virüsün efektifliğini artırır (Boson ve ark., 2020; Jackson ve ark., 2022). Bu mekanizma, SARS-CoV-2'nin konak hücreden etkin bir şekilde salınımını ve yeni hücrelere yayılmasını sağlamaktadır.

2.4. Koronavirüsler

Koronavirüsler (CoV'ler), zarflı, pozitif anlamlı tek sarmallı RNA virüslerinden oluşan oldukça çeşitli bir virüs ailesidir. İnsanların yanı sıra, diğer memeliler ile çiftlik ve evcil hayvanlar dahil olmak üzere çeşitli kuş türlerini de enfekte edebilirler. Bu nedenle yalnızca halk sağlığı açısından değil, aynı zamanda veterinerlik ve ekonomi açısından da önemli bir endişe kaynağıdırlar.

Coronaviridae ailesi, Nidovirales takımının Coronavirineae alt takımı içerisinde yer almakta olup, dört cinsten oluşan Orthocoronavirinae alt familyasına ayrılır: Alphacoronavirus, Betacoronavirus, Gammacoronavirus ve Deltacoronavirus.

Alphakoronavirüsler ve betakoronavirüsler yalnızca memelileri enfekte ederken; gammakoronavirüsler ve deltakoronavirüsler, kuş türlerini de içeren daha geniş bir konak aralığına sahiptir. İnsan ve hayvan koronavirüs enfeksiyonları genellikle solunum sistemi ve sindirim sistemi hastalıklarıyla sonuçlanmaktadır. HCoV-229E ve HCoV-OC43 gibi bazı insan koronavirüslerinin uzun süredir toplumda dolaştığı bilinmektedir. Daha yakın tarihlerde tanımlanan HCoV-NL63 ve HCoV-HKU1 ile bu virüsler, genellikle mevsimsel olarak görülen ve hafif seyreden solunum yolu enfeksiyonlarına, halk arasında “soğuk algınlığı” olarak bilinen tablolara neden olmaktadır. Ancak buna karşılık, son 20 yılda insan popülasyonunda ortaya çıkan Şiddetli Akut Solunum Sendromu Koronavirüsü (SARS-CoV), Orta Doğu Solunum Sendromu Koronavirüsü (MERS-CoV) ve SARS-CoV-2 gibi türler oldukça patojeniktir. Bu virüsler; insanlarda bronş epitel hücrelerini, pnömositleri ve üst solunum yolu hücrelerini enfekte ederek, henüz spesifik bir profilaktik ya da terapötik tedavisi bulunmayan, ciddi ve yaşamı tehdit eden solunum yolu hastalıklarına ve akciğer hasarına yol açabilmektedir.

Koronavirüs enfeksiyonu, virüsün spike (S) proteini aracılığıyla konak hücre yüzeyinde bulunan özgül giriş reseptörlerine bağlanmasıyla başlar. Bu reseptörler virüs türüne göre farklılık göstermektedir: HCoV-229E için insan aminopeptidaz N (APN), HCoV-NL63, SARS-CoV ve SARS-CoV-2 için anjiyotensin dönüştürücü enzim 2 (ACE2), MERS-CoV için ise dipeptidil peptidaz 4 (DPP4) tanımlanmıştır (Li ve ark., 2007; Hoffmann ve ark., 2020). Giriş reseptörlerinin dokulara özgü ekspresyonu ve dağılımı, virüsün hücre hedeflerini (tropizm) ve patojenitesini belirlemede önemli rol oynamaktadır.

Virüs hücreye girdikten sonra, hücre içi yaşam döngüsü başlamaktadır. Bu süreçte, koronavirüsler genomik RNA'larını kullanarak tam uzunlukta replikatif kopyalar üretir ve yeni viral partiküllerin oluşumunu sağlar. Koronavirüslerin genomu, oldukça büyük, tek sarmallı ve pozitif anlamlı RNA'dan oluşur. Bu genom, 5' ve 3' uçlarında çevrilmemiş bölgeler (UTR) içerir ve RNA sentezi için gerekli cis-etkili ikincil RNA yapıları ile çevrilidir (Sola ve ark., 2015). Genomun 5' ucunda, kapaklı ve poliadenillenmiş yapı bulunmaktadır. Bu bölge, genomun yaklaşık üçte ikisini kapsayan iki büyük açık okuma çerçevesi (open reading frame, ORF) ORF1a ve ORF1b içerir. Bu ORF'ler, virüsün replikasyon ve transkripsiyon kompleksini (replication–transcription complex, RTC) oluşturan 15–16 adet yapısal olmayan proteini (nsp) kodlamaktadır. Söz konusu

kompleks; RNA işleme ve modifikasyon enzimlerinin yanı sıra, yaklaşık 30 kb'lık viral genomun bütünlüğünü korumaya yönelik RNA düzeltme (proofreading) işlevlerini de içermektedir (Masters, 2006). Genomun 3' ucunda ise, yapısal proteinleri ve aksesuar proteinleri kodlayan ORF'ler yer almaktadır. Bu bölgelerden, iç içe geçmiş bir dizi subgenomik mRNA (sg-mRNA) sentezlenir (Sawicki ve ark., 2007). Aksesuar proteinler, virüs türleri arasında yüksek oranda çeşitlilik gösteren, genellikle virüse özgü protein kümeleridir. Bu proteinlerin çoğunun, enfeksiyon sırasında konak bağışıklık yanıtlarını modüle ederek viral patojeniteye katkıda bulunduğu düşünülmektedir (Fung ve Liu, 2019). Ancak dikkat çekici olan, birçok aksesuar proteinin moleküler işlevinin hâlâ büyük ölçüde bilinmiyor oluşudur. Bunun temel nedeni, bu proteinlerin diğer koronavirüslerin aksesuar proteinleriyle ya da bilinen herhangi bir proteinle anlamlı bir dizisel veya yapısal homoloji göstermemesidir.

1930'lu yıllarda ilk koronavirüsün, yani kuş enfeksiyöz bronşit virüsünün tanımlanmasından (Beaudette ve Hudson, 1937) ve 1960'larda ilk insan koronavirüsleri olan HCoV-229E ve HCoV-OC43'ün keşfinden bu yana (Tyrrell ve Bynoe, 1965; Hamre ve Procknow, 1966), koronavirüs araştırmaları önemli ilerlemeler kaydetmiştir. Bu gelişmeler, özellikle koronavirüslerin replikasyonu ve patogeneze ilişkin temel biyolojik süreçlerin anlaşılmasını sağlamıştır. 2002 yılında Şiddetli Akut Solunum Sendromu Koronavirüsü'nün (SARS-CoV) ve 2012 yılında Orta Doğu Solunum Sendromu Koronavirüsü'nün (MERS-CoV) ortaya çıkışıyla birlikte bu alandaki çalışmalar ivme kazanmış; koronavirüslerin insan sağlığı açısından ciddi tehdit oluşturabilen zoonotik patojenler olduğu net bir şekilde anlaşılmıştır. Bu süreç, 2019 yılının sonlarında Çin'in Hubei eyaletine bağlı Vuhan kentinde ilk vakaları bildirilen yeni bir koronavirüs olan SARS-CoV-2'nin neden olduğu Koronavirüs Hastalığı 2019 (COVID-19) ile daha da kritik bir boyut kazanmıştır. SARS-CoV-2, yüksek bulaşıcılık oranı ve hızlı yayılım potansiyeli ile kısa sürede küresel bir pandemiye dönüşmüş, buna paralel olarak koronavirüs araştırmalarında benzeri görülmemiş bir hız ve teknik ilerleme yaşanmıştır (Lu ve ark., 2020). Bu hızlı gelişmeler sayesinde hem virüsün yapısı hem de enfeksiyonun neden olduğu hastalık süreci daha kısa sürede aydınlatılmıştır.

COVID-19, SARS-CoV-2 tarafından tetiklenen ve şiddetli akut solunum sendromu ile karakterize edilen oldukça bulaşıcı bir hastalıktır. Enfeksiyon sonrası, özellikle bağışıklık

sisteminin aşırı aktivasyonu sonucu gelişen sitokin fırtınası, akciğer hasarı ve ölümle sonuçlanabilen akut solunum sıkıntısı sendromuna (ARDS) yol açabilmektedir (Tang ve ark., 2020). Patolojik düzeyde incelendiğinde, SARS-CoV-2 enfeksiyonunun bronşiyal epitelde denüdasyon, silia kaybı, çok çekirdekli sinsityal hücre oluşumu, skuamöz metaplazi ve monosit/makrofaj ile nötrofillerin transendotelial göçü gibi ciddi solunum sistemi bozukluklarına neden olduğu gösterilmiştir (Lei ve ark., 2020).

2.4.1. SARS-CoV-2 konak hücre içine girişi

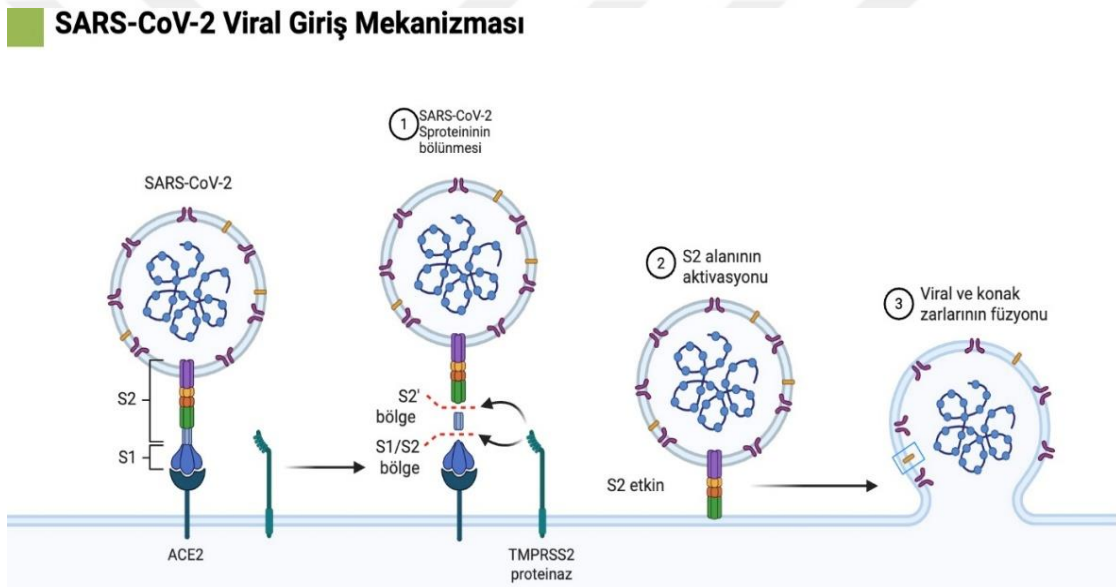
Koronavirüs spike (S) proteinleri, homotrimerik sınıf I füzyon glikoproteinleridir ve işlevsel olarak S1 ve S2 olmak üzere iki ana alt birime ayrılır. Yüzeye maruz kalan S1 alt birimi, konak hücre üzerindeki spesifik reseptöre bağlanan reseptör bağlama bölgesini (RBD) içerir ve böylece virüsün hücre tropizmini ve patojenitesini oluşturmaktadır. Transmembran yerleşimli S2 alt birimi ise heptad tekrar bölgeleri ve füzyon peptidi içermekte ve bu yapılar, geniş konformasyonel yeniden düzenlemeler sonucunda viral-konak ilişkili hücre membranlarının füzyonunu sağlamaktadır (Li, 2016; Belouzard ve ark., 2009; Walls ve ark., 2020). 2002-2003 yıllarındaki SARS-CoV salgını sonrasında, anjiyotensin dönüştürücü enzim 2 (ACE2), SARS-CoV' un hücrelere girişini sağlayan işlevsel reseptör olarak tanımlanmıştır (Li ve ark., 2003). SARS-CoV ve SARS-CoV-2 S proteinleri arasında %76 oranında amino asit düzeyinde homoloji bulunması, ACE2'nin SARS-CoV-2 için de hücre yüzeyi reseptörü olduğunu desteklemiştir (Wrapp ve ark., 2020; Walls ve ark., 2020; Hoffmann ve ark., 2020). Dikkat çekici olarak, SARS-CoV ile ACE2 arasındaki etkileşimde yer alan kilit temas kalıntılarının büyük bir kısmı SARS-CoV-2'de de korunmuştur. Bu korunmuş kalıntılar aynı zamanda ACE2 kullanan veya benzer yan zincir özelliklerine sahip diğer şiddetli akut solunum sendromu ile ilişkili koronavirüs türlerinde de mevcuttur (Wan ve ark., 2020; Letko ve ark., 2020; Lan ve ark., 2020). Bu bulgular, SARS-CoV-2 S proteini ile ACE2 reseptörü arasındaki bağlanma arayüzünün atomik düzeyde yapısal olarak çözülmesiyle de doğrulanmıştır (Shang ve ark., 2020; Yan ve ark., 2020). Buna karşın, yarasalarda izole edilen ve SARS-CoV-2 ile %96,2 oranında genomik benzerlik gösteren RaTG13 virüsünün S protein dizisi, ACE2 ile bağlanmada rol oynayan altı kritik aminoasitten yalnızca birini koruyarak bağlanma kapasitesinde anlamlı farklar olduğunu ortaya koymaktadır (Zhou ve ark., 2020). Bu durum, SARS-CoV-2'nin zoonotik kökeniyle ilgili araştırmalar açısından dikkat çekicidir.

Yapılan genetik analizler, SARS-CoV evrimi sırasında da gözlemlendiği gibi, yarasalarda bir arada bulunan SARSr- CoV'ler arasında sık görülen rekombinasyon olaylarının SARS-CoV-2'nin ortaya çıkmasına katkıda bulunmuş olabileceğini göstermektedir (Hu ve ark., 2017). Nitekim öngörülen rekombinasyon kırılma noktalarının, SARS-CoV-2'nin spike (S) genini üç bölgeye ayırdığı ve bu bölgelerin farklı koronavirüslerle benzerlik gösterdiği bildirilmiştir. S proteininin orta kısmı – reseptör bağlama bölgesi (RBD) olarak adlandırılan 1.030–1.651 amino asit arası – SARS-CoV, WIV1 ve RsSHC014 ile yüksek benzerlik taşımaktadır. Bu virüslerin tamamı hücreye girişte insan ACE2 reseptörünü kullanmaktadır (Ge ve ark., 2013; Menachery ve ark., 2015). Ancak S proteininin amino-terminal (1–1.029 aa) ve karboksi-terminal (1.651–3.804 aa) bölgeleri, yarasa kökenli ZC45 ve ZXC21 ile daha fazla benzerlik göstermektedir (Hu ve ark., 2018). Bu bulgular, koronavirüs evriminde rekombinasyonun önemli bir mekanizma olduğunu ve farklı yarasa virüsleri arasında bu tür genetik alışverişlerin, insanlara bulaşma potansiyeli taşıyan yeni varyantların ortaya çıkmasını kolaylaştırabileceğini ortaya koymaktadır. Bu nedenle SARSr- CoV'lerin genetik çeşitliliğini daha iyi anlamak, sahada rekombinasyon olaylarının sıklığını belirlemek ve potansiyel zoonotik risk taşıyan varyantları tespit etmek amacıyla surveyansın artırılması büyük önem taşımaktadır. Koronavirüslerin konak hücreye girişinde, reseptör bağlanmasının yanı sıra, konak hücreye ait proteazlar tarafından Spike (S) proteinlerinin proteolitik olarak bölünmesi de gereklidir (Zhou ve ark., 2020).

SARS-CoV'un hücreye girişi için, yüzeyde bulunan serin proteaz TMPRSS2'yi kullandığı gösterilmiştir. TMPRSS2' nin insan solunum yollarında ifade edildiği bilinmektedir ve bu durum, hem SARS-CoV' un yayılımında hem de hastalık oluşturma (patogeneze) sürecinde önemli bir rol oynamaktadır. Özellikle SARS-CoV-2'nin hücreye girişi, TMPRSS2'ye bağımlıdır. Çünkü TMPRSS2'nin inhibisyonu, akciğer hücre hatlarında ve birincil insan akciğer hücrelerinde SARS-CoV-2'nin girişini önlemek için yeterli olmaktadır (Hoffmann ve ark., 2020). Reseptör kullanımı ve proteolitik bölünme gereksinimlerindeki benzerliklere rağmen, SARS-CoV ve SARS-CoV-2'nin replikasyon etkinliği ve yayılım kapasitelerinde belirgin farklılıklar bulunması dikkat çekicidir. SARS-CoV, öncelikle anjiyotensin dönüştürücü enzim 2 (ACE2) reseptörünün yoğun olarak ifade edildiği alt solunum yolu dokularındaki pnömositleri ve akciğer

makrofajlarını hedef almaktadır. Bu durum, SARS-CoV enfeksiyonunun sıklıkla alt solunum yolu hastalığına yol açması ve sınırlı viral yayılım göstermesi ile uyumludur (Hamming ve ark., 2004). Buna karşılık, SARS-CoV-2 üst solunum yollarında bulunan epitel dokusunda yüksek düzeyde replikasyona uğrayabilir ve bu sayede çok daha etkili bir bulaşma yeteneğine sahiptir (Wölfel ve ark., 2020). SARS-CoV ve SARS-CoV-2'nin farklı konak hücre tropizimleri, replikasyon kinetikleri ve bulaşma kapasiteleri; büyük ölçüde Spike (S) proteininin ACE2 reseptörüne olan bağlanma afinitesi tarafından belirlenmektedir. Örneğin SARS-CoV enfeksiyonlarında, S proteini ile ACE2 arasındaki bağlanma afinitesinin hastalık şiddetiyle ilişkili olduğu rapor edilmiştir (Li ve ark., 2005). SARS-CoV-2'nin reseptör bağlanma bölgesi (RBD) ile ACE2 arasındaki bağlanma afinitesinin, SARS-CoV RBD' sine benzer düzeyde olduğu ya da daha güçlü olabileceği bildirilmiştir (Shang ve ark., 2020). Ancak, SARS-CoV-2 S proteininin tamamı ele alındığında, ACE2'ye bağlanma afinitesinin SARS-CoV' dan daha düşük veya benzer düzeyde olduğu görülmektedir. Bu durum, SARS-CoV-2 S proteininde RBD' nın daha az maruz kaldığı (maskelenmiş) bir konformasyonu olabileceğini düşündürmektedir (Cai ve ark., 2020). ACE2 reseptörüne ek olarak, hücresel glikan yapıları, integrinler ve nöropilin-1 gibi alternatif bağlanma ve giriş faktörleri de SARS-CoV ile SARS-CoV-2 arasındaki fenotipik farklılıkların oluşmasında etkili olabilir (Sigrist ve ark., 2020). Koronavirüs S proteininin, reseptöre bağlanma ve membran füzyonuna yol açan zamansal olarak koordine edilmiş konformasyonel yeniden düzenlemeleri, bu proteini doğuştan gelen ve adaptif antiviral bağışıklık yanıtlarının temel hedeflerinden biri haline getirmektedir. Özellikle interferonla uyarılan birkaç yüz geni kapsayan geniş çaplı taramalar, lenfosit antijen 6 aile üyesi E (Ly6E)'yi koronavirüs füzyonunun güçlü bir inhibitörü olarak tanımlamıştır (Pfaender ve ark., 2020). Ly6E'nin aracılık ettiği koronavirüs girişinin inhibisyonu, SARS-CoV-2 de dahil olmak üzere çeşitli koronavirüsler için gösterilmiştir. Ayrıca, fare koronavirüs enfeksiyon modellerinde hematopoetik bağışıklık hücresi kompartmanının korunmasında kritik bir rol oynadığı görülmüştür. S proteininin virion yüzeyinde açığa çıkması, spesifik nötralize edici humoral immün yanıtların oluşumunu tetikler (Buchholz ve ark., 2004). Bununla birlikte, S proteinleri yoğun şekilde glikozillenmiştir ve bu durum, nötralizan antikorların bağlanabileceği epitopları maskeleyerek immün kaçışı kolaylaştırır (Walls ve ark., 2020). Yine de SARS ve COVID-19 hastalarından elde edilen serumların sırasıyla SARS-CoV

ve SARS-CoV-2'yi nötralize edebildiği gösterilmiştir (Hoffman ve ark., 2020). Son zamanlarda SARS-CoV-2 S proteinine bağlanabilen birçok spesifik veya çapraz reaktif antikor tanımlanmıştır. Bu antikorların enfekte bireylerde uygulanması, potansiyel olarak acil koruyucu etki sağlayabilir (Pinto ve ark., 2020). Örneğin, SARS-CoV S proteini ile bağışıklanmış transgenik farelerden ya da SARS ve COVID-19'dan iyileşmiş hastaların hafıza B hücresi repertuarından türetilen önceki hibridoma koleksiyonlarından elde edilen insan monoklonal antikorların, ya doğrudan RBD-ACE2 etkileşimini engellediği ya da farklı epitoplara bağlanarak S proteininin füzyon öncesi konformasyonlarını destabilize ettiği gösterilmiştir (Cao ve ark., 2020).



Şekil 2.4. SARS-CoV 2 hücre içine giriş mekanizması (Biorender.com ile çizilmiştir).

2.4.2. SARS-CoV-2 S proteini ve furin-bölünme bölgesi

SARS-CoV-2 S proteininin furin tarafından önceden işlenmesi, virüsün genişletilmiş hücre tropizmine ve artmış zoonotik potansiyele sahip olmasına katkıda bulunmakta ve dolayısıyla bulaşıcılığını artırmaktadır (Hoffmann ve ark., 2020). Furin-benzeri polibazik bölünme bölgeleri, S proteininin hücre yüzeyine bağlanması ve hücre içine girişi sırasında kritik bir rol oynar; bu özellik virüsün farklı doku tiplerine ve konak türlerine adapte olmasını kolaylaştırır. Daha da önemlisi, bu polibazik bölünme bölgeleri Sarbecovirus alt cinsinin diğer üyelerinde tespit edilmemiştir (Walls ve ark., 2020), bu da SARS-CoV-

2'nin benzersiz bir evrimsel avantaj kazandığını göstermektedir. Bununla birlikte, koronavirüs evrimi sürecinde furin-benzeri bölünme bölgelerinin bağımsız olarak edinildiğine dair çeşitli örnekler mevcuttur. Bu tür bölünme bölgeleri, insan koronavirüslerinden HCoV-HKU1 (Chan ve ark., 2008), HCoV-OC43 (Le Coupanec ve ark., 2015) ve MERS-CoV (Mille ve ark., 2014) gibi türlerde de tanımlanmıştır. Ayrıca, yakın zamanda yapılan çalışmalarda, yarası kaynaklı koronavirüs RmYN02'nin S proteininin aynı bölgesine bağımsız bir polialanin (PAA) eklenmesi tespit edilmiştir. Bu bulgular, polibazik veya furin-benzeri bölünme bölgelerinin farklı koronavirüs hatları tarafından bağımsız olarak kazanılabileceğini ve bunun zoonotik geçiş ile salgın potansiyelini artırabileceğini göstermektedir. Bu tür bağımsız edinim olayları, yarası kaynaklı SARS benzeri koronavirüslerin zoonotik riskini ortaya koymakta ve gelecekteki salgın olasılığına dair önemli ipuçları sağlamaktadır.

Başarılı bir hücre içi koronavirüs yaşam döngüsü, konak hücre proteinleriyle kurulan ve virüsün ihtiyaçlarını karşılamak üzere yeniden yönlendirilen kritik moleküler etkileşimlere dayanır. Bu etkileşimler; virüsün hücreye girişinde görev alan konak faktörlerini (örneğin, giriş reseptörleri ve konak hücre proteazları), viral RNA sentezi ve virüs montajında yer alan yapıları (örneğin, endoplazmik retikulum, Golgi aygıtı bileşenleri ve bunlarla ilişkili veziküler taşıma yolları) ve viral mRNA'ların çevirisi için gerekli olan faktörleri (örneğin, temel çeviri başlatma faktörleri) içermektedir (Schneider ve ark., 2012). SARS-CoV-2 S proteininin karakteristik özelliklerinden biri, S1/S2 sınırında yer alan ve prototip proprotein konvertaz olan furin tarafından etkili bir şekilde bölünmesine olanak tanıyan polibazik bir bölünme bölgesinin (PRRAR dizisi) edinilmiş olmasıdır (Zhou ve ark., 2020). Furin aracılığıyla gerçekleşen bu bölünme, S proteininin konformasyonel değişiklikler geçirmesini sağlayarak hem hücre yüzeyine bağlanmayı hem de membran füzyonunu kolaylaştırır; bu da virüsün enfekte aktivasyonunun artmasına yol açmaktadır. Ayrıca, furin-benzeri proteazlar farklı dokularda yaygın olarak ifade edildiğinden, bu bölünme virüsün genişletilmiş hücre tropizmine sahip olmasını ve türler arası geçiş potansiyelini artırmasını mümkün kılar (Letko ve ark., 2020). Bu nedenle, S proteininin furin tarafından işlenmesi, SARS-CoV-2'nin evriminde kilit bir adım olarak kabul edilmekte ve virüsün zoonotik potansiyeli ile yüksek bulaşıcılığının temel belirleyicilerinden biri olarak öne çıkmaktadır. Ayrıca, koronavirüs

enfeksiyonlarında sıklıkla gözlenen sitokin fırtınasının ardından gelişen pulmoner fibrozis de dikkat çekicidir. Öyle ki, SARS hastalığını atlatan bireylerin yaklaşık %20'sinde enfeksiyondan 9 ay sonra bile kalıcı akciğer fibrozisinin saptandığı bildirilmiştir (Gu ve ark., 2005). Bu bulgular, SARS-CoV-2 enfeksiyonunun yalnızca akut dönemde değil, enfeksiyon sonrasında da uzun vadeli patolojik etkiler doğurabileceğini göstermekte ve bu etkilerin mekanizmalarının anlaşılmasına yönelik çalışmaları bilimsel açıdan daha da cazip hale getirmektedir.

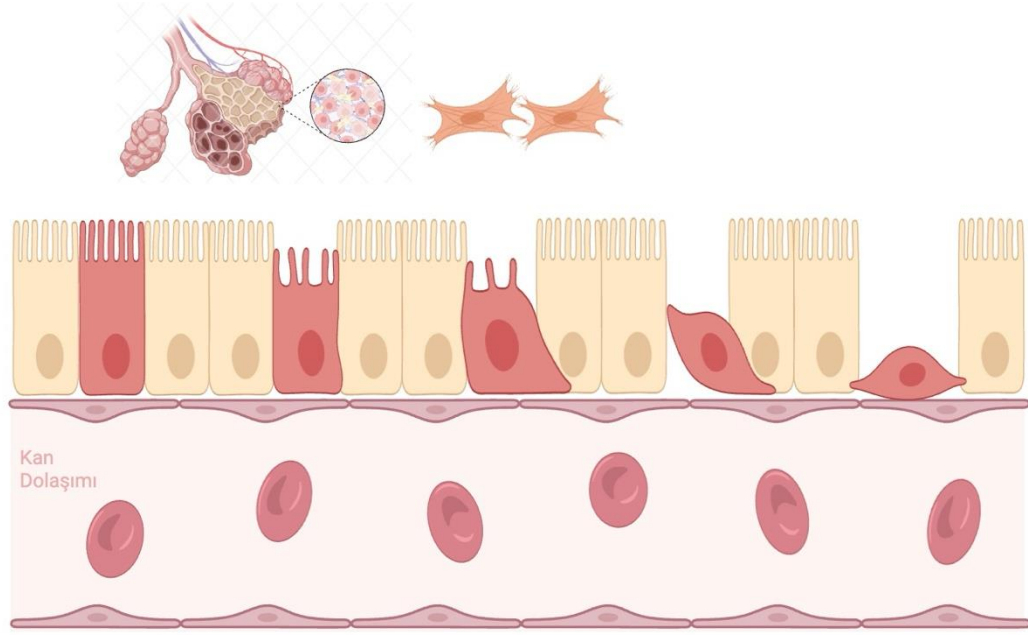
2.4.3. SARS-CoV-2 enfeksiyonu ve patofizyolojisi

SARS-CoV-2 ile enfekte olan çoğu kişide ciddi hastalık gelişmez; enfeksiyon büyük olasılıkla üst solunum yollarındaki silli ve sustentaküler hücrelerle sınırlıdır. Ancak bazı kişilerde virüs, alt solunum yolu enfeksiyonu yoluyla tetiklenen immünopatolojinin baskın olduğu ciddi bir pnömoniye yol açabilir. Şiddetli COVID-19 hastalarında genellikle tip I veya tip III interferon tepkilerini etkileyen zayıf veya zamansız bağışıklık yanıtları görülür. Alveolar hasar, AT2 hücrelerinin doğrudan enfeksiyonu veya lokal inflamatuvar yanıtların neden olduğu dolaylı etkiler sonucu oluşabilir. Hem epitel hem de endotel hücrelerde bir “sızdıran durum” gelişir ve bu durum inflamasyon ve pıhtılaşmayı artırarak monositler, makrofajlar ve nötrofillerin proinflamatuvar ve/veya profibrotik yanıtlarını güçlendirir. Kontrolsüz inflamasyon, COVID-19'a özgü ciddi immünopatolojiye yol açar. Dünya Sağlık Örgütü'ne göre, COVID-19 ya da SARS-CoV-2 geçiren hastaların önemli bir yüzdesi, morbiditeyi artıran ve sağlık hizmetleri maliyetlerini yükselten akut sonrası komplikasyonlar geliştirmektedir. Güncel kanıtlar, SARS-CoV-2'nin yalnızca akut fazla sınırlı kalmadığını, aynı zamanda subakut ve uzun vadeli etkilerle de ilişkili olduğunu göstermektedir. Bu etkiler arasında yer alan SARS-CoV-2 sonrası akciğer fibrozisi (post-COVID lung fibrosis, PCLF), yüksek morbiditeye ve uzun vadeli solunum problemlerine yol açması nedeniyle en ciddi komplikasyonlardan biri olarak öne çıkmaktadır. Nitekim, yapılan bazı çalışmalarda, hastaların yaklaşık %33'ünde akut hastalığın düzelmesinden altı ay sonra çekilen bilgisayarlı tomografi (BT) taramalarında parankimal fibrozis bulgularına rastlandığı bildirilmektedir (Fabbri ve ark., 2021).

Epitel hasarı ve inflamasyon, bağışıklık hücrelerinin akciğere çekilmesine yol açar. COVID-19 akciğerinin histoloji kesitleri, alveoller lümende büyük ölçüde makrofajlardan ve interstisyumda lenfositlerden oluşan bağışıklık hücresi infiltratlarını göstermektedir. Ölüm sonrası COVID-19 akciğer dokularının tek hücreli dizilimi, kontrol akciğerleriyle karşılaştırıldığında monosit ve makrofaj infiltrasyonunun arttığını ve hem monosit kaynaklı makrofajların hem de alveoller makrofajların anormal şekilde aktive olduğunu ortaya koymuştur. Kanda, hastalığı hafif atlatan COVID-19 hastalarında inflamatuvar monositlerin yüksek seviyelerde HLA-DR ifade ettiği gözlenirken, şiddetli COVID-19 hastalarında düşük HLA-DR ekspresyonu görülmüş ve bu durum monosit işlev bozukluğunun bir göstergesi olarak değerlendirilmiştir. Monosit kaynaklı makrofajlar, anormal makrofaj aktivasyonu ve bozulmuş T hücresi bağışıklığında rol oynayan uzun kodlamayan RNA'lar (NEAT1 ve MALAT1) farklı şekilde ifade etmektedir. Alveolar makrofajlarda ise doku rejenerasyonu sırasında inflamasyonu azaltmak için önemli olan reseptör tirozin kinaz AXL'in mRNA ve protein ekspresyonunda belirgin bir azalma saptanmıştır. Monosit veya makrofaj kaynaklı IL-1 β ve epitel hücre kaynaklı IL-6, SARS-CoV-2 enfeksiyonunun diğer viral ve bakteriyel pnömoni tiplerinden farklı olarak öne çıkan özelliklerindendir. Ölümcül COVID-19 vakalarından alınan akciğerlerin tek hücre dizilimlerinde dendritik hücreler, makrofajlar ve doğal öldürücü (NK) hücrelerin seviyelerinde artış gözlenmiştir. İlginç bir şekilde T hücresi seviyelerinde anlamlı bir artış tespit edilmemiştir; bu da otopside gözlenen lenfositlerin çoğunlukla NK hücreleri olabileceğini düşündürmektedir. Ayrıca dolaşımdaki adaptif NK hücrelerinin ve yüksek sitotoksik protein içeren 'silahlı' NK hücrelerinin seviyelerinin artması ciddi hastalıkla ilişkilendirilmiştir. Düşük T hücresi infiltrasyonu, bozulmuş T hücresi yanıtlarının COVID-19'da ölümcül sonuçlara katkıda bulunabileceğini göstermektedir. Bronkoalveolar lavaj sıvısı örneklerinde yapılan tek hücreli dizilimlerde, pnömoni olmayan kontrollerle karşılaştırıldığında monosit ve CD8⁺ T hücrelerinin zenginleştiği gözlenmiş, ancak hastaların %75'i enfeksiyondan sağ kurtulmuştur; bu da T hücrelerinin ölümcül sonuçları önlemede önemli bir rol oynayabileceğini göstermektedir. Hafif veya orta şiddetli vakalar ile şiddetli vakalar arasındaki farkları inceleyen bir çalışmada, şiddetli vakalarda proinflamatuvar makrofajlar yüksek, miyeloid ve plazmasitoid dendritik hücreler ile T hücreleri ise düşük seviyelerde bulunmuştur. Kanserli COVID-19 hastalarında bozulmuş B hücresi fonksiyonu artan

mortalite ile ilişkilendirilmezken, yeterli CD8⁺ T hücresi yanıtının olmaması daha yüksek viral yük ve artan mortalite ile korelasyon göstermiştir. Ayrıca, nötrofiller, birçok viral enfeksiyonda ilk yanıt veren hücreler olarak önemli rol oynar; ancak aşırı nötrofil ekstraselüler tuzakları (NET) zararlı olabilir. ARDS’ de genellikle bol miktarda nötrofil görülmesine rağmen, şiddetli COVID-19 hastalarının yalnızca yaklaşık %30’u bronkoalveolar lavaj sıvısında nötrofili göstermiştir ve COVID-19 akciğer histolojisinde nötrofiller baskın hücre değildir. Buna karşılık, periferik kanda nötrofili şiddetli COVID-19 hastalarında yaygındır. Nötrofiller, asemptomatik bireylerde büyük ölçüde zenginleşmişken kritik hastalarda hafif artış göstermiş ve fenotipleri heterojen olmuştur. Kritik hastaların nötrofilleri, inflamatuvar yollar, nötrofil degranülasyonu ve NET oluşumunda yer alan proteinleri ifade etmektedir. Özellikle ARDS’ li COVID-19 hastalarında progenitör benzeri nötrofil popülasyonları ve PDL1 eksprese eden işlevsiz nötrofiller tespit edilmiştir. Tüm bu veriler, COVID-19’da nötrofil fenotiplerinin heterojen olduğunu ve enfeksiyonun erken döneminde koruyucu, ilerleyen dönemde ise patolojik olabileceğini göstermektedir. Buna ek olarak, SARS-CoV-2 sonrası dönemde gelişen patofizyolojide, immün sistemdeki bozulmalarla (immün pertürbasyonlarla) karakterize bir dizi durumun rol oynadığı düşünülmektedir (Yin ve ark., 2024). Enfeksiyon ve buna eşlik eden inflamatuvar süreçler, akciğer dokusunun mimarisini ve lokal immün yanıtları bozarak kalıcı değişikliklere yol açabilmektedir. Bu değişmiş mikroçevrede, çeşitli alt kümelere ait T hücreleri, akciğer parankimi ve alveolar boşluklarda birikir ve bu hücrelerin fibrotik süreci tetikleyebileceği düşünülmektedir. Öte yandan, bazı çalışmalar belirli T hücresi alt gruplarının fibrozisin başlangıcını ve/veya ilerlemesini sınırlayabilecek düzenleyici (immünomodülatör) işlevlere sahip olabileceğini de ortaya koymaktadır. Yapılan çalışmalarda bildirildiği üzere (Patrucco ve ark., 2023), SARS-CoV-2 sonrası akciğer fibrozisinin (PCLF) gelişimi, idiyopatik pulmoner fibrozis (IPF) olgularında gözlenen immünolojik bozukluklara benzer bir patofizyoloji ile ilişkilidir. Her iki hastalıkta da belirgin T hücresi aktivasyonu mevcuttur ve bu durum, sitokin ve kemokinlerin dengesiz üretimi ile sonuçlanarak fibrotik süreçleri tetiklemektedir (Gangi ve ark., 2024). Özellikle IL-4, TNF- α ve IL-32 gibi profibrotik sitokinler ve büyüme faktörlerinin artışı, kolajen birikimini artırmakta ve doku yeniden yapılanmasını kolaylaştırmaktadır. CD4⁺ ve CD8⁺ T hücrelerinin yanı sıra, farklı T hücresi alt kümeleri de doku mikroçevresine ve hastalığın evresine bağlı olarak

birbirinden bağımsız fakat etkileşimli bir şekilde görev almaktadır. Bu bağlamda, T düzenleyici (Treg) hücreler, immünolojik toleransın sağlanması ve homeostatik dengenin korunmasında merkezi rol oynamaktadır. Treg hücrelerinin salgıladığı IL-10 ve tümör büyüme faktörü- β (TGF- β), fibrojeniz süreçlerine doğrudan etki edebilmektedir (Gao ve ark., 2021). Bununla birlikte, Treg hücrelerinin fibrozis üzerindeki etkisi hastalığın evresine göre değişiklik gösterebilir; bazı evrelerde antifibrotik etki gösterirken, diğer evrelerde fibrotik yanıtı artırabilir. Pulmoner fibrozisle ilişkili olarak bu tür bağışıklık hücrelerinin aşırı aktivasyonu, özellikle hastalığın ağır seyreden vakalarında belirgindir. Sitokinlerin abartılı üretimi, “sitokin fırtınası” olarak tanımlanan immünolojik yanıtların gelişimine yol açabilir (Fan ve ark., 2023). Bu durum, fibrotik süreçlerin ilerlemesini hızlandırmanın yanı sıra, zaman zaman hastalığın akut alevlenmelerine neden olabilmektedir. PCLF ile ilişkili olarak bu immünolojik süreçler ilk kez Bergantini ve arkadaşları tarafından rapor edilmiş olan çalışmada IL-10, IL-8 ve IL-32 serum konsantrasyonlarının bu süreçlerde düzenleyici rol oynayabileceği gösterilmiştir (Bergantini ve ark., 2024). SARS-CoV-2 enfeksiyonu, şiddetli bağışıklık tepkisi sonucunda sitokin fırtınası ardından akciğer hasarına ve hatta ölüme yol açabilen akut solunum sıkıntısı sendromu ile karakterizedir (Shang ve ark., 2020). Ayrıca, SARS-CoV-2 enfeksiyonu bronşiyal epitelyal denüdasyon, silia kaybı, çok çekirdekli sinsityal hücreler, skuamöz metaplazi ve monosit/ makrofaj ve nötrofillerin akciğer dokusuna transendotelyal göçü farklı solunum yolu hastalıklarına neden olduğu da bilinmektedir (Lei ve ark., 2020).



Şekil 2.5. Fibrozis ile ilişkili mekanizma (Biorender.com ile çizilmiştir).

2.4.4. Yaygın alveolar hasar ve covid-19 ile ilişkili ards

Yaygın alveolar hasar (YAH) ve COVID-19 ile ilişkili ARDS' yi inceleyen çalışmalar, klasik histolojik yöntemlerle elde edilen bulguları tek hücreli omic verilerle bütünleştirerek akciğer hasarının mekanizmalarını daha ayrıntılı biçimde ortaya koymaktadır. ARDS vakalarında histolojik incelemeler, Katzenstein'in 1976'da tanımladığı şekilde, endotel ve alveolar astar hücre hasarına bağlı sıvı ve hücresel eksüda ile karakterize YAH örüntüsünü göstermektedir (Katzenstein ve ark., 1976). DAD, başlangıçta ödem, hücre ölümü, hiyalin membranlar ve inflamasyonu içeren eksüdatif faz ile başlar; ardından alveollerin rejenerasyon girişimi olarak anjiotensin 2 hücre (AT2) hiperplazisinin görüldüğü proliferatif faz izler (Cardinal ve ark., 2017). Bazı vakalarda ise alveolar septalarda fibrozisin baskın olduğu fibrotik faz gelişebilmektedir. COVID-19 nedeniyle yaşamını yitiren bireylerin akciğerlerindeki otopsi bulguları da YAH'ın baskın akciğer hasarı modeli olduğunu doğrulamaktadır. Bu bulgular; interstisyel ve intra-alveolar ödem, ölen pnömositler, hiyalin membranlar, mikrovasküler tromboz, kapiller konjesyon ve AT2 hücre hiperplazisi gibi eksüdatif ve proliferatif faza ait tipik özellikleri

içermektedir. Tek hücre dizilimi ve immün boyama çalışmaları ise COVID-19 akciğerlerinde anjiotensin 1 hücreleri (AT1) ve AT2 pnömositlerinde belirgin azalma olduğunu göstermiştir (Corsana ve ark., 2020).

Alveolar hücre ölümü veya hasarı, epitel bütünlüğünü bozarak pıhtılaşma aktivasyonu ile fibrinoliz arasındaki dengenin kaybolmasına yol açmaktadır. Bu süreç, fibrin açısından zengin eksüdatlardan oluşan hiyalin membranların ortaya çıkmasına neden olmaktadır (Sebag ve ark., 2011). Hiyalin membranlar alveolleri sıvı birikiminden korurken oksijen değişimini sınırlamaktadır. Aynı mekanizma, şiddetli COVID-19 olgularında küçük arteriyel damarlarda (<1 mm) fibrin trombüslerinin gelişmesinden de sorumludur. Fibrin trombüslerinin varlığı, fibrinoliz sırasında biriken fibrin parçalanma ürünlerinin artmasına yol açar ve bu durum klinikte D-dimer düzeylerinin yükselmesi ile yansır. Yüksek D-dimer seviyeleri COVID-19'da ölümcül sonuçlarla ilişkilendirilmiştir (Grasselli ve ark., 2021). Ayrıca, düşük trombosit sayısı da muhtemelen trombositlerin yoğun pıhtılaşma sürecinde tüketilmesine bağlı olarak şiddetli COVID-19 ile ilişkilidir. Nitekim, hastaneye yatırılan COVID-19 hastalarında erken başlatılan profilaktik antikoagülasyonun şiddetli hastalık ve mortalite riskini azalttığı gösterilmiştir (Melms ve ark., 2021). Bu bulgu, pıhtılaşmanın SARS-CoV-2 patofizyolojisinde kritik bir rol oynadığını ortaya koymaktadır. COVID-19 hastalarında görülen protrombotik durum, bağışıklık ve pıhtılaşma sistemlerinin patojenleri sınırlamak amacıyla iş birliği yaptığı immünotromboz sürecini andırmaktadır. Bu süreçteki dengesizliğin kesin tetikleyicisi bilinmemekle birlikte, alveolar epitelin bozulması başlangıç noktasını oluşturabilir. Hipoksi, sitokinler, kemokinler ve hasarla ilişkili moleküler modeller; endotel ve epitel hücreleri arasındaki bağları bozarak geçirgenliği artırmakta ve endotel aktivasyonunu tetiklemektedir (Delorey ve ark., 2021). Bu durum, COVID-19 vakalarında gözlenen endotel hücre ölümüne yol açabilir. Virüs partikülleri endotel hücrelerinde saptanmış olsa da bu hücrelerin in vivo viral replikasyonu destekleyip desteklemediği ve enfeksiyonun hastalığın şiddetine katkısı halen belirsizdir.

Normal koşullarda doku faktörü endotelde ve dokularda bulunur. Endotel bütünlüğü bozulduğunda ise vasküler koagülasyon faktörleri doku faktörü ile etkileşime girerek ekstrasik koagülasyon yolunu başlatır ve fibrinojenin fibrine dönüşmesine neden olur (Lippi ve ark., 2020). Bunun yanında, hücre dışı RNA, DNA ve açığa çıkan kolajen gibi

uyaranlar faktör XII' nin aktivasyonu yoluyla intrinsik koagülasyon yolunu da tetikleyebilir. Trombositler, hasarlı bölgelerde subendotelyal matriksi kapatarak pıhtı oluşumunu desteklerken; sitokinler ve kemokinler tarafından yönlendirilen bağışıklık hücreleri de koagülasyona katkıda bulunur. Monositler ve monosit kökenli mikroveziküller, PRR aktivasyonu sonrası yüzeylerinde doku faktörü sergileyebilir. Nötrofiller ise faktör XII' yi doğrudan aktive edebilen nötrofil ekstraselüler tuzaklar (NET' ler) salar. Şiddetli COVID-19 olgularında nötrofillerin yüksek düzeyde doku faktörü eksprese ettiği ve doku faktörüyle kaplı NET' ler saldığı gösterilmiştir (Swieringa ve ark., 2018). NET' ler trombositleri koagülasyona dahil ederken, trombositler de aktivasyon sonrası proinflatuar sitokinler içeren ekstraselüler veziküller salgılar. Ayrıca, aktive trombositler nötrofillerle etkileşerek NETozis' i tetiklemektedir (Skendros ve ark., 2020).

Kanıtlar, SARS-CoV-2'nin kompleman sistemini özellikle lektin yolunu aktive ederek C5a parçalanma ürünü aracılığıyla nötrofillerde doku faktörü ekspresyonunu artırabileceğini göstermektedir. Öte yandan, şiddetli COVID-19 hastalarında CD16 eksprese eden T hücre popülasyonlarının varlığı bildirilmiştir (Georg ve ark., 2022). Bu hücreler, kompleman aktivasyonu ile immün kompleks aracılı degranülasyonu ve sitotoksiteyi kolaylaştırarak mikrovasküler endotel hasarını artırır ve IL-8 ile CCL2 gibi kemokinlerin salınımını destekler. COVID-19'daki protrombotik duruma katkıda bulunan bir diğer faktör ise epitel kaynaklı IL-6'dır. IL-6, karaciğerde pıhtılaşma faktörlerinin ve endotelde doku faktörünün transkripsiyonunu indükler. Dolaşımdaki yüksek IL-6 düzeyleri, şiddetli COVID-19 için güçlü bir öngörücü olarak kabul edilmektedir.

2.4.5. SARS-CoV2 END-MT/ EMT moleküler sinyal yolağı

Endotel, endotel hücrelerinden oluşan ince ve zar benzeri bir yapı olup, kılcal damarlar, arterioller, atardamarlar, toplardamarlar ve lenf damarları dahil olmak üzere vücuttaki tüm damarların iç yüzeyini kaplar ve temel işlevi damar duvarı geçirgenliğini düzenlemek ve korumaktır. Vasküler endotel, bağlı olduğu vasküler sisteme göre morfolojik, metabolik, yapısal, işlevsel ve moleküler/gen ekspresyonu açısından farklılaşmış, oldukça özelleşmiş tek katmanlı hücrelerden oluşur (Gimbrone ve ark., 2016). Ayrıca

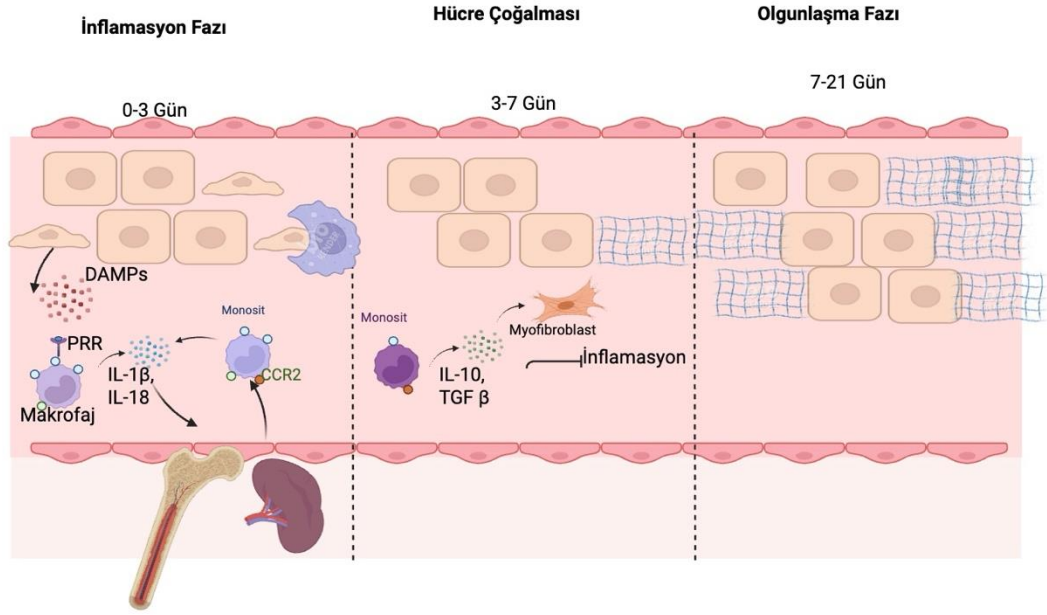
endotel, çok sayıda vasküler ve vasküler olmayan bozukluğun patogenezinde önemli rol oynar (Boulanger, 2016).

Normal koşullar altında endotel hücre fenotipi tam olarak korunur; ancak birçok çalışma, endotel hücrelerinin kayda değer fenotipik esneklik gösterdiğini ortaya koymuştur (Dejana ve ark., 2017). Bu esneklik arasında, yeni tanınan bir hücresel transdiferansiyasyon türü olan endotelden mezenkimale geçiş (EndMT) yeteneği de bulunmaktadır (Arciniegas ve ark., 2005). EndMT, endotel hücrelerinin özgül fenotiplerini kaybettikleri, hücrelerin iğ şeklinde uzun bir morfolojiye büründüğü, hücre-hücre bağlantılarının ve polaritenin azaldığı, artan hücresel hareketlilik ve invazyon yeteneği ile kasılma özelliklerinin kazanıldığı kademeli bir biyolojik süreçtir. Moleküler düzeyde EndMT, α -düz kas aktin (α -SMA), ekstra alan A (EDA) fibronektin, N-kadherin, vimentin, fibroblast spesifik protein-1 (FSP-1, diğer adıyla S100A4), fibroblast aktive edici protein (FAP) ve tip I ile tip III fibriller kolajenler gibi mezenkimal hücreye özgü proteinlerin ifade ve üretiminin başlatılması ile sonuçlanır. Buna eşlik eden diğer değişiklikler ise, von Willebrand faktörü (vWF), CD31/trombosit-endotelyal hücre yapışma molekülü-1 (CD31/PECAM-1) ve vasküler- endotel kaderin (VE-kadherin) gibi endotel hücreye özgü proteinlerin kademeli olarak azalması ve nihayetinde kaybıdır (Sanchez ve ark., 2018). Kapsamlı çalışmalar, dönüştürücü büyüme faktörü- β (TGF- β) ailesinin üyeleri, özellikle TGF- β 1 izoformunun EndMT'nin başlıca indükleyicileri olduğunu göstermiştir (Goumans ve ark., 2008). Bununla birlikte EndMT, hücrelerin fizyolojik veya patolojik durumuna ve özgül hücresel bağlamlara bağlı olarak çoklu ve çoğunlukla yedekli moleküler mekanizmalar tarafından modüle edilen, TGF- β 'ye bağlı ve TGF- β dışı sinyal yollarını içeren son derece karmaşık bir süreçtir. EndMT düzenlemesinde rol oynayan birçok transkripsiyon faktörü bulunmaktadır. İnsanlarda End- MT' nin indüklenmesinde başlıca rol oynayanlar arasında SNAI1, SLUG, ZEB1, ZEB2 (aynı zamanda SIP1 olarak da bilinir) ve TWIST gibi faktörler yer alır. Ancak EndMT sürecinin karmaşıklığı göz önüne alındığında, henüz tanımlanmamış başka transkripsiyon faktörleri ve düzenleyici proteinlerin de sürece dahil olabileceği düşünülmektedir. SNAI ailesi; SNAI1, SNAI2 (SLUG), ZEB1 ve ZEB2, transkripsiyonel baskılayıcı aktiviteleri için ortak olan SNAG adlı NH2-terminal protein etkileşim alanına sahip çinko parmak transkripsiyon faktörleridir. TGF- β tarafından aktive edilen aşağı akış

sinyal yolları, SNAIL'in güçlü şekilde yukarı regülasyonuna neden olur. Yapılan kapsamlı deneysel çalışmalar, SNAIL'in EndMT'de kritik bir rol oynadığını göstermiştir ancak bu mekanizmalar henüz tam olarak açıklanamamıştır. SNAIL'in yukarı regülasyonu, TGF- β aracılığıyla SMAD yollarının yanı sıra MEK, PI3K ve p38 MAPK yollarının aktivasyonuna bağlıdır (Medici ve ark., 2012). SNAIL'in aşırı ekspresyonu End- MT'yi indüklemek için yeterli olsa da yalnızca SNAIL ekspresyonu End- MT oluşumu için yeterli değildir; ayrıca GSK-3 β inhibitörlerinin TGF- β aracılı End- MT indüksiyonu için gerekli olduğu gösterilmiştir (Medici ve ark., 2012). SNAIL'in End-MT' deki önemi, TGF- β ile uyarılan fare embriyonik kök hücrelerinden türetilen endotel hücrelerinde mezenkimal mural hücrelere dönüşümün gerçekleştiği kültür modellerinde daha da desteklenmiştir. Burada SNAIL'in siRNA ile baskılanması, TGF- β tarafından indüklenen End-MT'yi engellemiştir (Kokudo ve ark., 2008). Ayrıca, SNAIL'in retinal neovaskülarizasyondaki rolü incelenmiş ve endotel hücrelerinde yüksek seviyelerde SNAIL ekspresyonunun patolojik oküler neovaskülarizasyonda yer aldığı bulunmuştur (Sun ve ark., 2018). Deneysel olarak SNAIL'in aşırı ekspresyonu, normal endotel hücrelerinde morfolojik değişiklikleri tetiklemiş ve hücre hareketliliğini artırmıştır. Buna karşılık, SNAIL kaybı hücre göçü ve invazyonunu azaltmış ve vasküler filizlenmeyi engellemiştir. Gen ekspresyon analizleri, SNAIL baskılanmasının sitoskeleton yeniden düzenlemesi ve ekstraselüler matriks şekillenmesinde rol oynayan EndMT ilişkili birçok genin ekspresyonunu azalttığını göstermiştir. Bu bulgular, koroidal neovaskülarizasyonlu fare modelinde SNAIL inhibitörü siRNA'nın intravitreal enjeksiyonuyla yeni damar oluşumunu engellediği çalışmayla doğrulanmıştır (Sun ve ark., 2018). End-MT' de SNAIL'in rolüne karşın, Notch sinyal yolunun End-MT indüksiyonunda SNAIL değil, ilgili aile üyesi SLUG' u kullandığı gösterilmiştir (Fu ve ark., 2009). İnsan mikrovasküler endotel hücrelerinde yapılan çalışmalar, reseptör tirozin kinaz Tie1'in siRNA ile baskılanmasının End-MT' ye yol açtığını ve bu sürecin SLUG aracılı olduğunu ortaya koymuştur çünkü SLUG seviyelerinin azaltılması End-MT'yi engellemiştir (Garcia ve ark., 2012). SLUG' un End-MT indüksiyonundaki mekanizmaları SNAIL kadar kapsamlı incelenmemiştir. Ancak, meme kanseri hücrelerinden elde edilen şartlandırılmış ortamda kültüre edilen insan dermal mikrovasküler endotel hücrelerinde, hücrelerin VE-kadherin ifadesini kaybettiği ve bunun SLUG tarafından VE- kadherin gen promotörünün inhibisyonu yoluyla gerçekleştiği gösterilmiştir (Lopez ve ark., 2009).

Vimentin, ara filament protein ailesinin en yaygın şekilde ifade edilen ve yüksek oranda korunan proteinlerinden biridir. Vimentin proteini, hücre zar bütünlüğünü destekler, bazı organellerin sitoplazma içinde sabit tutulmasını sağlar ve zar reseptör sinyallerinin çekirdeğe iletilmesinde rol oynar (Franke ve ark., 1982). Bu proteinin başka proteinlerle etkileşimi ile meydana gelen hücre göçü, hücre adezyonu ve sinyalleşme gibi olaylarda hayati rol oynamaktadır. Vimentin, hücresel fonksiyonları değiştiren çeşitli faktörlere maruz kaldığında ise bu etkilere karşı cevap oluşturabildiği ve filament yapısının yeniden düzenlendiği gözlemlenmiştir. Vimentin makrofajlar, astrositler, nötrofiller, monositler, apoptotik lenfositler ve endotel hücreleri gibi çok sayıda hücre tipleri tarafından salgılanır (Synowiec ve ark., 2021). Böylece hücre fizyolojisi, iltihaplanma, yara iyileşmesi ve bağışıklık tepkilerinde görev alır (Walls ve ark., 2020). Yapılan çalışmalarda vimentinin, hücre sitoplazmasında bulunmasının yanı sıra, birçok hücre tiplerinin etrafındaki hücre dışı boşluklarda da bulunduğu gösterilmiştir. Hücre dışı vimentin, sitoplazmik yapısal ağların önemli bir bileşenidir. Bununla birlikte hücre dışı yüzeyinde bulunan vimentin, kan dolaşımında ya çözünür formda ya da vezikülle taşınan bir protein olarak konumlandırılır. Bu da vimentinin hücre dışı ortamda önemli rollere sahip olduğuna işaret etmektedir (Suprewicz ve ark., 2021). Diğer koşulların yanı sıra hücre aktivasyonu, iltihaplanma, yaşlanma ve stres gibi durumlar vimentin salgılanmasına sebep olur. Hücre yüzeyinde açığa çıkan veya hücre dışına salgılanan vimentin içeriğe bağlı bir şekilde çeşitli reseptörler ya da hedeflerle etkileşimde bulunarak karmaşık ve muhtemelen çift taraflı çoklu proteoformlar olarak var olmaktadır (Xu ve ark., 2004). Ayrıca Vimentin, ko-reseptör olarak viral giriş ve çıkış için hücresel taşıma mekanizmasının bir bileşeni olarak hizmet ederek viral enfeksiyonu kolaylaştırır (Yu ve ark., 2016). Yapılan başka bir çalışmada vimentinin inflamasyona ve akciğer hasarına da katkı sağladığı ortaya konulmuştur (Ziegler ve ark., 2020). SARS-CoV spike proteini ile hücre yüzeyi anjiyotensin dönüştürücü enzim 2 (ACE2) reseptörü arasında bir ortak reseptör görevi gören vimentin, SARS-CoV' nin hücre içine girişini kolaylaştırmaktadır (Turkki ve ark., 2020). Yakın tarihli bir araştırma, SARS-CoV-2 spike proteininin hücre dışı vimentine bağlanması SARS-CoV-2 enfeksiyonu sırasında meydana geldiğini ve SARS-CoV-2 hücre yüzeyine bağlanmasından dolayı hücre dışı vimentin ekspresyonunu artırdığı ortaya konulmuştur (Suprewicz ve ark., 2021).

Son yıllarda yapılan çalışmalar, inflamasyon aracılı organ fibrozis ve kanser arasındaki ilişkiyi düzenleyen moleküler yolları anlamamıza katkı sağlamıştır. Bu hastalıkların ortak bağlantısı olan epitelyal mezenkimal geçişi (EMT) bu çalışmaların temel unsurlarından birini oluşturmaktadır (Kim., ve ark., 2016). EMT, normal olarak bazal membranı ile bazal yüzeyine bağlanan polarize epitel hücrelerinin, birçok biyokimyasal ve moleküler değişime uğraması sonucunda hücre polaritesi ve hücreler arası bağlantılarda meydana gelen değişimler ile bir mezenkimal hücre fenotipini edindiği biyolojik bir süreçtir (Chen ve ark., 2017). EMT, geleneksel olarak göç kapasitesi, invazivite, artmış apoptotik direnç ve ekstraselüler madde (ESM) bileşenlerinin artan üretimi gibi özelliklere sahiptir. Kadherinlerin, epitelyal-kaderin (E-kadherin) ve nöral-kaderin (N-kadherin) olarak değişimi, EMT sürecinin tipik bir göstergesidir (Bryan ve ark., 2015). İnflamasyon aracılı organ fibrozisi ve kanser üzerine yapılan bu çalışmalar, patolojik EMT' lere giden yolların ve bu yoldaki proteinlerin aynı olduğunu göstermiştir. Tümör nekroz faktörü alfa (TNF- α) ve hipoksi ile birlikte, Snail aktivitesinin farklı mekanizmalarının indüksiyonu ile nükleer faktör kappa beta (NF- $\kappa\beta$) aktivasyonunun oluşumunun merkezinde rol oynamasına benzer şekilde hem kanser hem de fibroziste EMT'yi tetiklemektedir (Lopez-Novoa ve ark., 2009). Moleküler düzeyde yapılan çalışmalara ek olarak epidemiyolojik ve klinik çalışmalar, inflamatuvar yanıtların, tümör gelişiminin farklı aşamalarıyla ilişkili olduğunu ortaya konulmaktadır (Franco ve ark., 2015). Epitel hücrelerinin farklılaşması ile meydana gelen kanserler, hücre içi vimentinin ekspresyonu ile tümör hücrelerinin metastaza doğru ilerlemesi sırasında belirli bir ağı tanımlayan epitelyalden mezenkimal geçiş sürecine dahil olduğu uzun zamandır bilinmektedir (Thiery ve ark., 2002). Çünkü sitoplazmik vimentin epitelyalden mezenkimal hücrelere geçişi sırasında hücre yüzeyinde yer değiştirir. Ayrıca hücre yüzeyinde bulunan vimentin, yüzeylerinde vimentin eksprese eden tümör başlatıcı hücreler olan glioblastoma multiforme kanser kök hücreleri gibi diğer kanser hücrelerinin gelişiminde bir rolü olduğu belirtilmiştir (Noh ve ark., 2016).



Şekil 2.6. EndMT/ EMT vasküler sistem etkisi (Biorender.com ile çizilmiştir)

Tümör gelişiminde EMT ve inflamasyon ile ilişkili bir diğer yolak, mitojenle aktive olan protein kinazların (MAPK) sinyal yolağıdır. Doğal ve adaptif immün yanıtlar gibi birçok fizyolojik süreçle ilişkili olan MAPK sinyal yolağı, proliferasyon, farklılaşma, metabolizma, hücre sağkalımı ve apoptoz gibi çok sayıda hücresel mekanizmayı koordine etmektedir (Low ve ark., 2016). MAPK sinyal yolağı, E-kaderin ve Vimentin gibi proteinler üzerinden etki ederek hücre-hücre bağlantılarının yıkılmasında ve hücre hareketliliğinin artmasında önemli bir rol üstlenmektedir (Pang ve ark., 2016). Mitojenle aktive olan protein kinaz 4 (MAP2K4), MAPK ailesinin bir üyesi olup c-Jun N-terminal kinazı (JNK) ve p38'i fosforile ederek doğrudan düzenler. Böylece inflamasyon ve hücre proliferasyonunu kontrol ederek tümör gelişiminde kritik bir rol oynamaktadır (Khan ve ark., 2017). Bununla birlikte MAPK sinyal yolağı üyeleri, Smad'dan bağımsız olarak TGF-β ile indüklenen EMT için de temel düzenleyiciler arasındadır (Morry ve ark., 2015). Ayrıca akciğer hücrelerinde fibrotik bir yanıtı teşvik etmek üzere TGF-β1 yolu ile sitoplazmik vimentin ekspresyonunu artırmaktadır.

Yakın zamanda yapılan bir çalışmada SARS-CoV-2 enfeksiyonunda hücre yüzeyi ve hücre içinde yüksek düzeyde Vimentin proteini bulunduğu ve bu artışın virüsün konak hücrede hızlı yayılımını kolaylaştırdığı bildirilmiştir (Suprewicz ve ark., 2021). Bu nedenle Vimentin ekspresyonunu hedef alan yeni terapötik ajanların geliştirilmesi gerektiği vurgulanmaktadır. Genellikle hücre içi ve iskelet proteini olarak bilinse de Vimentin'in hücre yüzeyinde ve hücre dışı sıvılarda da bulunabileceği gösterilmiştir. Hücre dışına salınımı genellikle fosforilasyon veya sitrulinasyon gibi kovalent modifikasyonlara bağlıdır (Eriksson ve ark., 2004). Nitekim SARS-CoV-2'nin enfeksiyon sonrası hücresel yanıtta hücre dışı Vimentin'in aktif bir rol oynadığını öne süren hem in vitro hem de in vivo çalışmalar bulunmaktadır. Örneğin, Vero E6 hücreleriyle yapılan bir çalışmada SARS-CoV psödovirüsüne maruz bırakıldıktan sonra hücre yüzeyinde Vimentin seviyelerinin %15'in üzerinde arttığı gösterilmiştir (Yu ve ark., 2016). Ayrıca şiddetli SARS-CoV-2 pnömonisine bağlı solunum yetmezliği olan 80'den fazla hasta üzerinde yapılan bir başka araştırmada, enfekte bireylerin bronkoalveolar lavaj (BAL) sıvısında hücre dışı Vimentin tespit edilmiştir (Grant ve ark., 2020).

Vimentin, enfeksiyon sırasında hem virüs için bir hedef (Bastounis ve ark., 2018) hem de bağışıklık yanıtı için önemli bir aktör olarak patogeneizde karmaşık bir role sahiptir (Boilard ve ark., 2003). Ayrıca Vimentin, MAP2K4 için bir ligant olup bu etkileşim MAP2K4'ün PI3K/AKT sinyalleme üzerindeki etkisini modüle eder ve meme kanserinde hücre proliferasyonu ile göçünü başlatır (Liu ve ark., 2019). Vimentin ekspresyonu, taşınması ve salgılanmasına yol açan mekanizmaların aydınlatılması ayrıca, Vimentin'in viral enfeksiyonlar sırasında doku hasarı ve onarımındaki rolünü anlamak açısından kritik öneme sahiptir. Nitekim Vimentin proteini, tümör gelişimi, EMT ve metastatik yayılım dahil olmak üzere kanserin birçok aşamasında işlev görmektedir (Martha ve ark., 2014). Ancak SARS-CoV-2 enfeksiyonunda hücre dışına salınımı artan Vimentin'in, MAP2K4 gen ekspresyonunu ve buna bağlı olarak aktifleştiği düşünülen EMT sürecindeki rolü hakkında şimdiye kadar herhangi bir çalışma bulunmamaktadır.

Yukarıda bahsedilen ve yakın zamanda gerçekleştirilen bu çalışmalar, hücre dışı vimentin ekspresyonunun artışı hem EMT transkripsiyon faktörleri hem de MAP2K4 gen ifadesinin mekanizmaları üzerinde etkili olduğuna işaret etmektedir. Bununla birlikte

SARS-CoV-2’ de hem hücre yüzeyi hem de hücre içi vimentin ifadesindeki artışın, MAP2K4 geni üzerindeki etkisi henüz tam anlamıyla çalışılmamıştır. EMT, MAPK ve inflamatuvar yollar fibrozis ve tümör oluşumunda üçü birlikte kritik bir rol oynamaktadır. COVID-19 hastalarında gelişen akut solunum sıkıntısı ve sitokin fırtınası akciğerlerde fibroze sebep olmaktadır. Akciğer dokusunda oluşan fibrozis ile seyreden yara (skar) dokusunun kanserojen etkisi malignite insidansını artırdığı bilinmektedir. Ayrıca dokularda yetersiz oksijen miktarı sonucunda epitel metaplazis gelişiminin tümör oluşumuna sebep olduğu düşünülmektedir. Sonuç olarak kanser ve fibrozis ciddi akciğer hastalıkları olmasıyla birlikte çoğu zaman aynı biyolojik yolları paylaşırlar. Spesifik olarak genetik ve hücresel mekanizmalar henüz tam olarak anlaşılmamış olsa da birkaç sinyal yolunun, dokuların yapısal ve işlevsel bozukluğa yol açtığı bildirilmiştir. Özellikle son yıllarda MAP2K4 geni üzerinde yapılan çalışmalar akciğer adenoma-karsinoma gelişiminde tümör baskılayıcı gen olarak görev yaptığını, ancak yapılan farklı bir çalışmada ise meme kanserinde MAP2K4’ün pro-onkogenik bir rol oynadığı bilinmektedir. Virüsler tarafından ele geçirilen belirli yolları incelemek, hastalığın hücresel protein mekanizmaları hakkında yeni araştırmalara ışık tutacaktır.

Viral enfeksiyonlar, konakçının bağışıklık sistemini çok yönlü olarak manipüle ederek kalıcı doku hasarına ve fibrozis gelişimine zemin hazırlar. Örneğin, SARS-CoV-2 sonrası gelişebilen post-enfeksiyöz akciğer fibrozisi, pro-inflamatuvar sitokinlerin aşırı üretimi, T-hücre alt gruplarında dengesiz aktivasyon ve profibrotik büyüme faktörleri olan TGF- β ile IL-1 β , IL-6, TNF- α , IL-13 gibi mediatörlerin patolojik düzeyde salınımıyla yakından ilişkilidir (Wei ve Xiao, 2021). Ayrıca, COVID-19’un geç döneminde IL-1 α , TGF- β , CXCL10 ve CCL18 gibi sitokinlerin yükseldiğine, öte yandan interferon türlerinin IFN- β ve IFN- α , seviyesinin azaldığı tespit edilmiş ve bunun da fibrotik değişikliğin bir prediktörü olduğu raporlanmıştır (Muthiah ve ark., 2025).

Bu patofizyolojik süreçler yalnızca SARS-CoV-2’ye özgü olmamakla beraber diğer viral enfeksiyonlarda da benzer fibrotik komplikasyonlar geliştiği gösterilmiştir. Özellikle gamma Herpes virüsün (MHV-68 gibi) latent enfeksiyonda bile epitel hasarı, alveolar makrofajlar aracılığıyla alternatif aktivasyon (M2 fenotip) ve TGF- β gibi profibrotik sitokinlerin artışı sayesinde akciğer ve diğer dokularda çoklu organ fibrozisine yol açabildiği deneysel modellerde ortaya konmuştur (Vanella ve Moore, 2008). Bu

çalışmalar latent viral enfeksiyonun, fibrotik yanıt gelişiminde “ikinci bir darbe” etkisi yaşayabileceğini öne sürer (Molyneaux ve Maher, 2013). Bu bağlamda, Hepatit E virüsü (HEV), özellikle bağışıklığı baskılanmış bireylerde kronikleşme eğilimi göstermesi ve enflamatuvar süreçleri sadece karaciğerle sınırlı tutmayıp portal fibrozis ve ekstrahepatik fibrotik yanıtlar oluşturabilmesi bakımından dikkat çekicidir. Her ne kadar HEV ile sistemik fibrozis arasındaki mekanizmalar insan çalışmalarında sınırlı olarak raporlanmış olsa da HEV’in hepatik inflamasyon yoluyla fibroblast aktivasyonunu tetikleyerek portal alanda fibrotik süreç başlatabildiğine işaret eden çalışmalar mevcuttur. Ayrıca, bağışıklığı baskılanmış kişilerde HEV’in endotel yapıları ve immün hücreler üzerindeki etkileri nedeniyle sistemik inflamasyonda artışa yol açabileceği ve bu durumun potansiyel olarak ekstrahepatik doku remodeling’ine katkıda bulunabileceği öne sürülmektedir. Dolayısıyla, HEV enfeksiyonunun yalnızca hepatotropik bir patojen olarak değil, akut ve kronik enflamatuvar mekanizmalar üzerinden portal fibrozis ve sistemik fibrotik yanıtlar oluşturma potansiyeli açısından ele alınması gereklidir. Bu aşamada, HEV’in fibroze yol açan sitokin patlaması, TGF- β aktivasyonu ve fibroblast proliferasyon mekanizmalarının detaylı çalışıldığı insan ve hayvan modellerine dayanan araştırmaların artması, bu virüsün sistemik etkilerinin anlaşılması için büyük önem taşımaktadır.

2.5. Hepatit E Virüsü (HEV)

Hepatit, karaciğer nekrozu ve karaciğer inflamasyonu ile devam eden bir süreçtir. Karaciğer iltihaplanmasını tanımlayan hepatit, dünyada görülen en yaygın hastalıklardan biridir. Hepatit çeşitli faktörlerden ortaya çıkabilmektedir. Akut hepatite özellikle virüsler, ilaçlar ve alkol yol açmaktadır. Hemodinaminin bozulduğu durumlarda ortaya çıkabilen iskemik hepatit ve otoimmün hepatit diğer hepatit nedenleri arasındadır. Ancak akut hepatite yol açan nedenler arasında en sık karşılaşılanı viral hepatitlerdir. Hepatit A, B, C, D ve E en sık görülen 4 hepatit türüdür (Choi ve ark., 2019; Fritz ve ark., 2021) ve çoğunlukla B, C ve E virüsleri (HAV, HBV, HCV, HDV ve HEV) hepatit A’ dan kaynaklıdır (Samavarchi ve ark., 2020; Lu ve ark., 2021). Hepatit virüsleri çeşitli zorlu ortamlarda uzun süre hayatta kalabilir ve dış etmenlere karşı güçlü bir dirence sahiptir. Hepatit A ve E, dışkı ağız yoluyla ve kirli yiyecek veya su yoluyla sindirim sistemi aracılığıyla bulaşmaktadır (Chan ve Valcour 2021; Yang ve ark., 2023). Hepatit B ve C,

enfekte bir kişinin kanı veya vücut sıvıları, anneden çocuğa bulaşma ve cinsel yolla bulaşarak yayılır (De Cock ve ark., 1987; Cuthbert ve ark., 2001; Chen ve ark., 2021).

Virüsler yatay ve dikey olmak üzere iki şekilde bulaşmaktadır. Yatay bulaşma, bir virüsün aynı nesil içinde bir kişiden diğerine geçmesini içerirken, dikey bulaşma virüslerin anneden çocuğa geçmesini ifade etmektedir. Hepatit enfeksiyonları genellikle yaşa bağlı özellik gösterir ve yetişkinlerde daha şiddetli semptomlar görülür (Debing ve ark., 2014). HBV' ye yatay geçiş yoluyla maruz kalan kişilerde genellikle kendi kendini sınırlayan akut enfeksiyonlar gelişirken, virüsü annelerinden dikey geçiş yoluyla alan kişiler kronik HBV taşıyıcısı olma eğilimindedir (Devhare ve ark., 2014). Enfeksiyon şiddetindeki bu farklılık, yetişkinler ve küçük çocuklar arasındaki bağışıklık tepkisi farklılığından kaynaklanmaktadır. Hepatit enfeksiyonu genotipe bağlı özellikler de göstermektedir. Örneğin HEV de 4 genotip vardır (HEV 1- 4) (Ditah ve ark., 2014). Gelişmekte olan bölgelerde HEV 1 ve HEV 2' nin yaygınlığı büyük ölçekli salgınlara yol açmıştır. Enfeksiyon hamilelik sırasında meydana gelirse, ciddi sonuçlara yol açmaktadır. Buna karşılık, HEV 3 ve HEV 4 esas olarak gelişmiş bölgelerde görülür ve ana konakçı domuzlar olmak üzere hem insanlarda hem de hayvanlarda yaygındır (Dudley ve ark., 2009). Ayrıca, akut HEV enfeksiyonunun klinik bulgu ve semptomları diğer akut viral hepatit enfeksiyonları ile benzerdir. Yorgunluk, halsizlik, iştahsızlık, bulantı, kusma, karın ağrısı ve hepatomegaliye genellikle sarılık eşlik eder. İshal, artralji, kaşıntı daha az sıklıkla görülmektedir. HEV enfeksiyonu olan hastaların çoğunda spontan virüs klirensi olur ancak hastaların yaklaşık %60' ında uzamış sarılık görülmektedir (Dudley ve ark., 2009). Özellikle altta yatan karaciğer hastalığı olan bireylerde ya da malnütrisiyonu olan gebelerde akut karaciğer yetmezliği gelişebilmektedir.

2.5.1. Epidemiyoloji

Dünya genelinde 20 milyon (3,3 milyonu semptomatik akut hepatit E'ye yol açan) HEV ile enfekte hasta olduğu tahmin edilmektedir. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) verilerine göre HEV enfeksiyonu 2015'te viral hepatit ölümlerinin %3,3'üne; yani 44.000 ölüme yol açmıştır (Dugger ve ark., 2017). Son yapılan meta-analizlerde, küresel çapta 939 milyon insanın en az bir kez HEV ile enfekte olduğu ve 15-110 milyon kişinin yakın zamanda enfeksiyon geçirdiği veya devam eden bir enfeksiyonu olduğu tahmin edilmektedir (Eker

ve ark., 2009). DSÖ, verilerine göre ise dünya çapında her yıl 3 milyon ölüm ve 5,2 bin ölü doğum ile 14 milyon semptomatik HEV enfeksiyonu vakası olduğunu tahmin edilmektedir (Feng, 2016).

HEV seroprevalansına dair bazı ülkelerde çalışmalar yapılmış olsa da bu çalışmalar oldukça kısıtlıdır. Afrika, Asya, Avrupa ve Amerika'da HEV seroprevalansı sırasıyla %21,76, %15,80, %9.31 ve %7-8' dir. HEV' e bağlı küresel ölümlerin %50'den fazlası Hindistan, Bangladeş, Tayland, Kore Demokratik Halk Cumhuriyeti, Myanmar, Nepal, Butan, Sri Lanka, Endonezya, Maldivler'i içeren Asya ülkelerinden rapor edilmektedir (Emerson ve Purcell 2004).

HEV, Kuzey Afrika ve Orta Doğu'da sporadik hepatitin ikinci en yaygın nedenidir. Sporadik vakalar Batı ülkelerinde tanımlanmıştır ve çoğunlukla HEV'in endemik olduğu bölgelere seyahat eden ziyaretçilerle sınırlı kalmıştır (World Health Organization, 2022). ABD' de HEV'in genel seroprevalansı 2009 ve 2010 yılları arasında %6 olarak tahmin edilmiştir (HEV seropozitifliği riski artan yaş, Amerika Birleşik Devletleri dışında doğum, Hispanik ırk ve et tüketimi ile ilişkilidir (Guinault ve ark., 2016). HEV'in daha önce yalnızca Asya ve Afrika'nın gelişmekte olan ülkelerinde yaygın olduğu düşünülüyordu; ancak son zamanlarda, domuzlardan bulaştığı Avrupa'nın yüksek gelirli ülkelerinde yaygın bir hastalık olduğu tespit edilmiştir (Haldipur ve ark., 2018).

Türkiye'de akut hepatit E enfeksiyonu sporadik olarak görülmektedir. Akut HEV enfeksiyonu nadiren kronikleşebilir. Başta organ transplantasyonu yapılan kişiler olmak üzere immunsupresif tedavi alanlarda ve gebelerde ikinci ve üçüncü trimesterde HEV enfeksiyonuna bağlı fulminant hepatit gelişim riski ve komplikasyon riski yüksektir. Ülkemizde HEV prevalansı bölgelere göre değişkenlik göstermekle birlikte (%0-73), genel seroprevalansı %6,3 olarak saptanmıştır (Aydın ve ark., 2015). Daha çok bölgesel yapılan çalışmalarda anti HEV pozitiflikleri bildirilmektedir. 2015'te kan bağışçılarının örneklerinden yapılan bir çalışmada, Anti-HEV IgG seroprevalansı %4,4 olarak saptanmıştır. 2009'da 15 yaş üstü kişilerde yapılan başka bir çalışmada ise Anti-HEV IgG prevalansı %2,4 olarak bulunmuştur (Jia ve ark., 2014).

2.5.2. Hepatit E virüsünün genel özellikleri

Fekal- oral yoluyla bulaşan A ve B cinsinden olmayan hepatit olarak bilinen Hepatit E, akut hepatitin klinik ve morfolojik özelliklerini gösteren bulaşıcı bir viral hastalıktır. Bu hastalığa sebep olan Hepatit E virüsü, zarfsız, tek sarmallı bir ribonükleik asit (RNA) virüsü olup taksonomik olarak Hepeviridae ailesinde, Hepevirus genusunda sınıflandırılmaktadır. HEV genomu 7, 2 kb' dir ve kısa bir 5' çevrilmemiş bölge (UTR), üç açık okuma çerçevesi (ORF1, ORF2 ve ORF3) ve bir 3' UTR ve ardından bir poli A kuyruğundan oluşmaktadır (Jacobs ve ark., 2024). ORF1, ORF2 ve ORF3; sırasıyla yapısal olmayan proteini, viral kapsid proteinini ve fosforile edilmiş bir proteini kodlamaktadır. HEV yaşam döngüsü, büyük ölçüde virüsü yaymak için etkili bir hücre kültürü olmaması sebebiyle, bugüne kadar yeterince anlaşılamamıştır. Fekal – oral yolla bulaşan bir virüs olan HEV, ilk olarak gastrointestinal sistem yoluyla konakçıya girer ve bağırsak epitel hücrelerinde çoğalmaktadır (Jamieson ve ark., 1991). Daha sonra virüs viremi yoluyla kan dolaşımına girer ve hedef organ olan karaciğere ulaşır. Heparan sülfat proteoglikanlar (HSPG'ler) HEV hücresel bağlanması için spesifik bir hücresel reseptör hala tanımlanmamıştır (Jha ve ark., 2021). Replikasyon için yarı zarflı (eHEV) ve zarfsız (neHEV)'in farklı mekanizmalarından yararlandığına inanılmaktadır: eHEV hücrelere, küçük GTP' azlar Ras ile ilişkili proteinler Rab 5 ve Rab 7 gerektiren dynamin bağımlı, clathrin aracılı endositoz yoluyla girer ve lipid membran bir lizozomal protein Niemann-Pick hastalığı tip C1 (NPC1) tarafından parçalanır (Jha ve ark., 2021). NeHEV giriş mekanizmasına ilişkin bilgi azdır. HEV kapsidinin bilinmeyen bir kaplama açma işleminden sonra, viral genomik RNA doğrudan ORF1 poliprotein çeviri için mRNA görevi görür ve işlevsel enzim ya da alan üretir. Viral replikaz RdRp, ORF2 proteini ve ORF3 proteininin translasyonundan sorumlu olan sgRNA 'nın HEV replikasyonu ve transkripsiyonu için bir şablon görevi yapmak üzere tamamlayıcı bir negatif-anlamli RNA sentezler. Negatif- sens RNA, deneysel olarak HEV ile enfekte edilen çeşitli hayvanların karaciğerlerinde ve ekstrahepatik dokularında tespit edilmiştir. Tam uzunlukta genomik RNA'dan daha fazla ORF1 poliproteini çevrilir ve ORF2 kapsid proteini ve ORF3 çok işlevli sgRNA'lardan çevrilir. ORF2 VE ORF3 glikozilasyon, fosforilasyon ve palmitoilasyon gibi post-translasyonel modifikasyonlara uğrayarak ORF2 kapsid proteini virüs benzeri partiküller halinde kendiliğinden birleşir

yeni sentezlenen pozitif anlamlı genomik RNA' ya bağlanarak progeny HEV virionlarını oluşturmaktadır. ORF3 viral replikasyonu ve virion sekresyonunu teşvik etmek için bir dizi hücrel proteinle etkileşim yoluyla konakçı ortamını düzenlemektedir. Özellikle ORF3, yeni oluşan virionlarını plazma membranı ile kaynaşmasını sağlayarak tomurcuklanmasını kolaylaştırır (Kamar ve ark., 2012). Virionlar karaciğer hücrelerinden ya eHEV olarak kan dolaşımına ya da neHEV olarak safra kanalına salınır. Hepatositlerde replikasyon ile çoğalan virüs safra yollarından ise bağırsağa taşınır ve dışkı ile atılarak fekal- oral bulaşa sebep olmaktadır (Kamar ve ark., 2014).

İnsan, hayvan ve primatlardan elde edilen HEV, şu anda insanlarda hastalığa neden olduğu bilinen dört genotipe (genotip 1, 2, 3 ve 4) ayrılmıştır (Wen, J. ve ark., 2016). Bu dört genotip ayrıca 24 alt tipe (genotip 1 (n = 5), 2 (n = 2), 3 (n = 10) ve 4 (n = 7)) ve tek bir serotipe ayrılır (Kamar ve ark., 2018). HEV genotiplerinin farklı bir coğrafi dağılımı, klinik sunumu ve bulaşma şekli bulunmaktadır. Genotip 1 ve 2 sadece insanlarda bulunur ve Asya'daki çoğu HEV vakasından bu genotipler sorumludur. Genotip 2 daha yaygın olarak Latin Amerika ve Afrika'da tanımlanmıştır (Kim ve ark., 2014). Bu genotipler fekal-oral yolla bulaşır, çoğunlukla kontamine su ile ilişkili akut salgınlara neden olur. Genotip 3 ve 4 çeşitli hayvanlarda (domuz, geyik gibi) bulunur ve yüksek gelirli ülkelerde HEV enfeksiyonunun ana nedenidir. Bu genotipler, genellikle kontamine gıda tüketimi yoluyla türler arası bulaşma yoluyla enfeksiyonla ilişkilidir (Kamar ve Pischke 2018).

2.5.3. HEV patofizyolojisi

Hepatit E virüsü (HEV) en yaygın olarak kontamine sudan fekal-oral yolla bulaşır ve özellikle gelişmekte olan ülkelerde sıklıkla su kaynaklı büyük salgınlar meydana gelir. Nadiren dışkı yoluyla bulaşan zoonotik bir enfeksiyonda olabilir. Kişiden kişiye bulaşma nadir olarak gözükmemektedir. HEV özellikle endemik bölgelerde kan tranfüzyonu yoluyla bulaşabilir (Kang ve ark., 2017). HEV, enfekte annelerden bebeklerine dikey olarak bulaşabilir ve önemli perinatal mortalite ve fetal kayıpla sonuçlanabilir. HEV 'in anne sütü yoluyla bulaşmasına ilişkin yeterli veri yoktur; ancak HEV anne sütünde izole edilerek serum titrelerinin karşılaştırılabilir olduğu kaydedilmiştir (Kannan ve ark., 2009). HEV enfeksiyonunun inkübasyon süresi 28 ila 40 gün arasında değişmektedir. Yutulduktan sonra virüs gastrointestinal mukozadan portal dolaşıma emilerek karaciğere

ulaşır (Khatun ve Ray 2019). Karaciğer dışındaki dokularda HEV replikasyonu gözlenmemiştir. HEV karaciğerde hem kolestatik hem de klasik akut hepatite benzeyen morfolojik değişiklikler oluşturabilir, ancak bu özellikler HEV için tanı koydurucu değildir. HEV dışkı olarak atılmaktadır.

Son zamanlarda, HEV enfeksiyonu olan hastalarda çeşitli ekstrahepatik belirtiler (EHB'ler) tanımlanmıştır. Yakın tarihli bir sistemik derlemede, Rawla ve arkadaşları, HEV enfeksiyonu olan 324 EHB hastası vakasının verilerini analiz etmiştir. En yaygın EHB'ler nörolojik (%55), kardiyovasküler- hematolojik (%35) ve gastrointestinal belirtilerdir (%7). Nadir görülen belirtiler arasında böbrek (%1.24), endokrin (%0.31) ve deri hastalığı (%0.31) ile solunum (%0.31), kas (%0.31) ve bağışıklık sistemi (%0.31) hastalıkları yer almaktadır. Bunlardan nörolojik bozukluklar HEV ile ilişkili en yaygın EHB'lerdir. HEV ile ilişkili nevralkjik amiyotrofi (NA), Guillain-Barré sendromu (GBS) ve meningoensefalit seroprevalansının diğerlerine kıyasla önemli ölçüde daha yüksek olduğunu gösteren, iyi tanımlanmış birkaç vaka kontrol çalışmasına dayanarak, HEV ile nörolojik arasında nedensel bir ilişki olabileceği öne sürölmüştür. Ayrıca, birkaç vaka çalışmasında da beyin omurilik sıvısında (BOS) HEV RNA'nın varlığı gösterilmiştir (Lee ve ark., 2016).

Çeşitli EHB'lerin HEV enfeksiyonları ile geçici bir ilişkisi vardır; ancak hala belirsizliğini korumaktadır. Bunlardan nörolojik bozukluklar HEV ile ilişkili en yaygın EHB'lerdir. Hem periferik sinir sisteminin hem de merkezi sinir sisteminin tutulumu birlikte ortaya çıkabilir. Hastalar, genellikle doktorlar için yanıltıcı olabilen normal karaciğer fonksiyon testleri ile başvurabilirler. HEV ile ilişkili nörolojik belirtilere ilişkin veriler yetersizdir ve bu veriler çoğunlukla olgu sunumları ve olgu serileri olarak tanımlanmaktadır. HEV ile ilişkili nevralkjik amiyotrofi (NA) ve Guillain-Barré sendromu (GBS) ve meningoensefalit seroprevalansının diğerlerine kıyasla önemli ölçüde daha yüksek olduğunu gösteren, iyi tanımlanmış birkaç vaka kontrol çalışmasına dayanarak, HEV ile nörolojik arasında nedensel bir ilişki olabileceği öne sürölmüştür. Ayrıca, birkaç vaka çalışmasında da beyin omurilik sıvısında (BOS) HEV RNA'nın varlığını gösterilmiştir. Yapılan diğer bir çalışmada, bildirilen 163 HEV ile ilişkili nörolojik bozukluk vakasının verilerini analiz edilmiş ve sinir kökü ve plexus bozukluğunun HEV ilişkili en sık bildirilen hastalıklar olduğu ve bunu meningoensefalit izlediği bulunmuştur.

HEV'nin EHB' yi indükleyebildiği mekanizmalar, doğrudan veya dolaylı mekanizmalar olabilir. Doğrudan mekanizmalar, etkilenen dokularda hücrel hasarla sonuçlanan HEV replikasyonuna bağlı iken, dolaylı mekanizmalara çapraz reaktif immün tetikleyiciler, immün komplekslerin oluşumu veya ikincil enfeksiyon örnek verilebilir (Lee ve ark., 2016). Doğrudan mekanizmalar in vitro çalışmalarla desteklenmektedir. HEV, nöronal hücreleri in vitro enfekte edebilir ve insan nöronal türevli hücreler, viral RNA'nın tam uzunlukta replikasyonunu ve viral kapsid proteininin translasyonunu desteklemektedir. Dolaylı immün tetikleme aracılı mekanizmalar, patogeneizde daha alakalı görünmektedir. Hem humoral hem de hücrel immün yanıtların, hepatik ve EHB' lerin patogeneizinde yer alması muhtemeldir. Ayrıca, EHB prevalansı, immunkompetan hastalarda, immünyetmezlikli hastalardan daha yaygındır. Bir çalışmada, nörolojik belirtilerin immunkompetan hastalarda (n=137) immünyetmezlikli hastalara (n=63) kıyasla önemli ölçüde daha yaygın olduğu (%3,2'ye karşı %22,6) bulunmuştur. İmmunkompetan hastalarda nörolojik bozuklukların daha sık görülmesi, EHB'lere bağışıklık aracılı mekanizmaların yol açtığını düşündürmektedir (Lenschow, 2010).

2.5.4. Nörodejenaratif hastalıklar

Nörodejenaratif bozukluklar, seçici olarak savunmasız nöron popülasyonlarının ilerleyici kaybı ile karakterizedir. Bununla birlikte, proteotoksik stres, oksidatif stres, apoptoz ve nöroinflamasyon gibi bazı önemli fizyolojik süreçleri anormal bir şekilde etkilerler ve bu da ilerleyici nöronal işlev bozukluğuna hatta ölüme yol açmaktadır (Lhomme ve ark., 2020). Bazı hastalar az sendrom gösterirken, birçok hastada karışık klinik özellikler de gözlenmektedir. Nörodejenaratif hastalıklar (NH) farklı sınıflandırmalar temelinde geniş bir yelpazede incelenmektedir. Birincil klinik özelliklere göre Alzheimer hastalığı (AH), Parkinson hastalığı (PH), demans ve Multiple Skleroz (MS) en sık görülen nörodejenaratif hastalıklardandır.

Nörodejenaratif bozukluklarda gözlenen protein anormalliklerine bağlı olarak, bunlar amiloidozlar, tauopatiler, α -sinükleinopatiler ve TDP-43 proteinopatileri olarak da alt bölümlere ayrılmaktadır. (Louten, 2010). Protein agregasyonu, yanlış katlanmış proteinlerin kendiliğinden beta tabaka bakımından zengin fibrillere yeniden düzenlenen oligomerlere (çekirdeklenme) bir araya geldiği çekirdekli bir polimerizasyon sürecini

takip etmektedir. Amiloid fibriller daha sonra aynı türdeki proteinleri bağlayan ve anormal izoformlarına (tohumlama) dönüştüren tohumlar görevi yapmaktadır. Protein agregasyonu, anatomik olarak bağlantılı bölgelerde sırayla meydana gelir ve etkilenen bireylerin Merkezi sinir sistem (MSS) boyunca ilerleyici olduğu ve geniş bir yayılım olduğunu düşündürmektedir (Mehta ve ark., 2023). Nörodejeneratif hastalıklar yaklaşık %90'ı sporadik olarak ortaya çıkar ve sadece birkaç vaka, agregasyon eğilimli proteinlerdeki veya bunların işlenmesinde veya kaçakçılığında yer alan proteinlerdeki mutasyonlarla bağlantılıdır. İdiyopatik nörodejeneratif hastalıkların etiyolojisi tam olarak bilinmemektedir.

Nörodejenerasyonun anatomik dağılımına göre, bunlar frontotemporal dejenerasyonlar, ekstrapiramidal bozukluklar veya spinoserebellar dejenerasyonlar olarak kategorize edilebilmektedir. Son yıllarda yapılan araştırmalarla birlikte bir bireyin birden fazla nörodejenerasyon hastalığına sahip olabileceği de gözlenmiştir (Mertowska ve ark., 2023). Ayrıca, nörodejeneratif bozukluklar artan yaşın yanı sıra genetik ve çevresel risk faktörlerinin tetiklediği çok faktörlü hastalıklardır. Patojenlerin ve özellikle virüslerin çeşitli NH' larda etiyolojik faktörler olarak hareket ettiğinden şüphelenilmektedir. Etkileyici sayıda çalışma, virüslerin konakçı hücre makinelerini ele geçirme ve iltihaplanmaya neden olma kapasiteleri sayesinde dejeneratif süreçleri tetiklediğini ve/veya bunlara katkıda bulunduğunu vurgulamaktadır. Viral enfeksiyonlar astrositleri ve mikroglia'yı aktive edebilir veya periferik bağışıklık hücreleri tarafından Merkezi sinir sistemi infiltrasyonunu indükleyebilir, böylece nöroinflamasyona neden olabilir. Bazı virüsler MSS' ye girebilir ve nöronal süreçleri bozarak veya nöronal apoptozu indükleyerek enfekte nöronlardan litik çıkış yoluyla nörodejenerasyonu etkileyebilir.

2.5.6. HEV enfeksiyonunun nörodejeneratif hastalıklar üzerine etkisi

Virüs, yalnızca canlı hücrelerde yaşayabilen ve üreyebilen zorunlu bir hücre içi parazittir. Virüsler, neden oldukları hastalıklar ve saldırdıkları organlar açısından çeşitli olma eğilimindedir, ancak tüm virüsler bir yapı birliğine sahiptir ve proteinler ve nükleik asitlerden oluşur (Nagashima ve ark., 2011). Nükleik asidi dış ortamdan korumak için virüs, nükleik asidini kapsid adı verilen bir protein kabuğu ile çevreler. Nükleik asit ve kapsid birlikte virionun nükleokapsidini oluşturur (Nan ve ark., 2014). Virüsler de

benzersizdir çünkü genetik materyal olarak RNA veya DNA içerirler. Bununla birlikte, virüsler ribozomlar, mitokondri veya diğer hücre benzeri organeller içermez. Ev sahibi hücrenin metabolik süreçleri olmadan çoğalamayacakları için genetik parazitlerdir. Çok farklı özelliklere sahip 2800' den fazla farklı viral tür olduğu düşünüldüğünde, virüslerin sınıflandırılması basit değildir. Ana sınıflandırmalar virion boyutuna, kapsid yapısına, nükleik asit türüne, fiziksel özelliklere, konakçı türüne veya hastalığa bağlıdır.

İnfeksiyonların AH' na sebep olabileceği fikri ilk olarak 1907'de Alois Alzheimer'ın 'rakibi' Oskar Fischer tarafından önerilmiştir (Fischer, 1907). Bu hipotez, AH beyinlerinde Herpes Simpleks Virüsü 1 (HSV-1) DNA'sının varlığını tespit eden Jamieson ve meslektaşları (Jamieson ve ark., 1991) tarafından 1991'de doğrulanmıştır. Son 30 yılda, diğer herpes virüsleri, flavivirüsler, insan immün yetmezlik virüsü (HIV), hepatit virüsleri, Ljungan virüsü, Borna virüsü ve influenza A virüsü gibi artan sayıda virüs AH riski ile ilişkilendirilmiştir (Pirtle ve Beran 1901). Bildiğimiz kadarıyla, bu virüslerin çoğunun AH' nın patogeneziindeki potansiyel rolü marjinal olarak gözden geçirilmiş ve tartışılmıştır.

İmmunkompetan hastalarda nörolojik bozuklukların daha sık görülmesi, EHB'lere neden olan bağışıklık aracılı mekanizmaları düşündürmektedir. Doğal bağışıklık, vücudun viral enfeksiyona karşı ilk savunma hattıdır ve Tip I interferonlar (IFN-1) özellikle doğuştan gelen bağışıklığın temel bileşenidir. IFN-1, enfekte hücreler tarafından salgılanan ve üç ana işlevi olan polipeptitlerdir. İlk olarak, enfekte olmuş komşu hücrelerde, enfeksiyöz ajanların özellikle viral patojenlerin yayılmasını sınırlayan, hücreye özgü antimikrobiyal durumları indüklemektedir. İkincisi, pro-inflamatuar yolak ve sitokin üretimini kısıtlarken, antijen sunumunu ve doğal öldürücü hücre fonksiyonlarını destekleyerek, dengeli bir şekilde doğuştan gelen bağışıklık tepkilerini modüle etmektedir. Üçüncüsü ise adaptif bağışıklık sistemini aktivasyonunu sağlayarak yüksek afiniteli antijene özgü T ve B hücre tepkilerini ve immünolojik hafızanın gelişimini desteklemektedir.

Patojen istilası sırasında interferonla uyarılan genlerin (ISG'ler) indüklenmesi yoluyla immün yanıtın düzenlenmesini sağlamaktadır. Virüsler tarafından IFN'lerin uyarılması sonucunda, interferon düzenleyici faktör 9 (IRF9), fosforile edilmiş sinyal dönüştürücü ve transkripsiyon aktivatörü (STAT1 ve STAT2) ile etkileşimde bulunarak interferona

duyarlı proteinleri tanıyan ve interferon ile uyarılan gen faktörü 3 (ISGF3), interferonlara duyarlı yanıt elementi (ISRE) kompleksini oluşturmaktadır (Schwartzburg ve ark., 2019). İnterferon ile uyarılan genler (ISG'ler), kronik viral enfeksiyon sırasında, hem IFN- β hem de tip III interferonlar, IRF9 ve fosforile edilmemiş STAT1 ve STAT2'den oluşan fosforile edilmemiş bir ISGF3 (U-ISGF3) kompleksinin oluşumuna aracılık etmektedir (Sunderasan ve ark., 2023). Bu ISG'ler arasında, ubikuitin benzeri protein ISG15, en güçlü ve en hızlı indüklenenlerden biri olmakla beraber son çalışmalar, viral replikasyonu doğrudan engelleyebileceğini ve konak bağışıklığını modüle edebileceğini göstermiştir (Pischke ve ark., 2017). Ayrıca ISG15 genin antiviral aktivitesine ilişkin yapılan birçok çalışma ile bu genin varlığı veya yokluğunda viral DNA veya RNA'nın replikasyonu analiz edildiğinde virüslerin hücreden çıkıp replike olabilmesiyle ilişkisi ortaya konulmuştur. Örneğin, İnfluenza B virüs (IBV) enfeksiyonu sırasında ISG15 geni, viral nükleoprotein (NP) konjugasyon yoluyla viral replikasyon mekanizmasını, oligomerize etme ve viral nükleoproteinleri (vRNP'ler) oluşturma yeteneğini bozarak, viral RNA sentezini inhibe edebilmektedir. ISG15, insan hastalıklarının etiyolojisi ve patogeneğinde hem engelleyici hem de uyarıcı rollere sahiptir. Bu nedenle ISG15, ifadesinin yükseldiği insan hastalıkları için "iki ucu keskin bir kılıç" olarak kabul edilmektedir. ISG15, kanser hücresi proliferasyonu, göçü ve metastazındaki rolleri, tümör hücrelerine anti-kanser ilaç duyarlılığı kazandırması ve kanserde, nörodejeneratif bozukluklarda ve travmatik beyin hasarı (TBI) maruz kalanlardaki yüksek ekspresyonu nedeniyle hem ISG15 hem de ISGylation, bu rahatsızlıklar için tanısal/ prognostik biyobelirteçler ve terapötik hedefler olarak kabul edilmektedir (Purdy ve ark., 2017). Yakın zamanda yapılan çalışmalar, ataksi telenjiyektazi (AT) hastalarından türetilen fibroblastlarda ve hem AT hastalarından hem de Atm nakavt farelerden elde edilen beyin dokusunda ISG15 ifadesinin gerçekten yükseldiğini ortaya koymuştur (Rawla ve ark., 2020). Özellikle, AT'de ISG15'in yüksek ekspresyonu, aynı farelerdeki beyin dokusuna kıyasla AT'den etkilenen beynin bir parçası olan serebellumda üç kat daha yüksek olduğu belirtilmiştir. Wang ve arkadaşları AT'ye benzer şekilde, ISG15 ifadesini, insan Amyotrofik lateral skleroz (ALS) hastalarının ve SOD1 G93A ALS farelerinin omuriliklerinde de saptanmıştır (Rein ve ark., 2012). Ayrıca, global iskemi ve travmatik beyin hasarının maruz kalan farelerin beyinlerinde çarpıcı biçimde yükseltilmektedir (Ren ve ark., 2017). Ancak bu raporların aksine, ISG15'in virüs yanlı işlevleri de vardır.

ISG15, hepatit C virüsü için pro-viral bir faktör ve IFN yanıtının düzenleyicisi olarak tanımlanmıştır (Rivero-Juarez ve ark., 2016). Bu sonuçlar, ISG'lerin aktivasyonunun nöronal yaralanmaların ortak bir özelliği olduğunu ve ISG15'in merkezi sinir sistemindeki (MSS) nöronal yaralanmaları saptamak için uygun bir biyobelirteç olabileceğini düşündürmektedir. Bununla birlikte, nörodejenerasyonla nedensel olarak ilişkiliyse, daha fazla araştırma gerektirmektedir. Kısaca, interferona yanıt veren genlerin %25'i, IRF3 ve IRF7 veya ISG15 dahil olmak üzere bir HEV G1 enfeksiyonunu takiben erken viremi sırasında aşağı regüle edilmiştir. Tersine, aynı genler HEV G3 enfeksiyonu sırasında yukarı regüle edildiği gösterilmiştir. Genotip tarafından konakçı immün gen ekspresyonundaki farklılıkların, muhtemelen virüs-konak sinyal etkileşimini değiştiren virüs protein dizilerindeki farklılıklardan kaynaklanmakta olduğu düşünülmektedir (Sundresan ve ark., 2023).

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Çalışma Grubu ve Hastalar

Bu çalışma Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Sağlık Uygulama ve Araştırma Hastanesi Nöroloji ve Enfeksiyon Hastalıkları kliniği ile Yozgat Şehir Hastanesi Yoğun Bakım Ünitesi ile birlikte yürütülmüştür. Çalışma, Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu onayı (22-KAEK-074 ve 22-KAEK-188 sayılı izinler) ile gerçekleştirilmiştir. Ayrıca çalışma, Bilimsel Araştırma Projeleri (Proje No: 2022/90) tarafından desteklenmiştir. Çalışmaya katılan tüm bireylerden Helsinki Bildirgesi'ne uygun olarak bilgilendirilmiş gönüllü onam alınmıştır. Çalışma grubunu, Nisan 2022-Ocak 2023 tarihleri arasında başvuran toplam 146 birey oluşturmuştur. Ayrıca, çalışma grubu sayısı belirlemek amacıyla GPOWER Analizinden yararlanılmıştır (Çizelge 3.1. ve Çizelge 3.2.).

COVID-19 Hasta ve Kontrol grupları

- ✓ Yozgat Şehir Hastanesi Yoğun Bakım Ünitesi'nde sitokin fırtınası ve akciğer tutulumu ile yoğun bakım ünitesinde takip edilen COVID-19 tanılı hastalar (n= 22).
- ✓ Ağır COVID-19 geçirip yoğun bakım ünitesinden taburcu olduktan 6–12 ay sonra değerlendirilen iyileşmiş COVID-19 hastaları (n= 22).
- ✓ COVID-19 hastalığına spesifik ateş, koku, tat alma, halsizlik, solunum sıkıntısı gibi belirtiler göstermemiş, 18 yaş üstü sağlıklı gönüllüler (n= 22).

Nöroloji Hasta ve Kontrol grupları

- ✓ 22–89 yaş aralığında multipl skleroz (MS, n=20), Alzheimer hastalığı (AH, n=20) ve Parkinson hastalığı (PH, n= 20) tanısı doğrulanmış toplam 60 hasta.

- ✓ Aynı dönemde Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi fizik muayene merkezini ziyaret eden ve akut nörolojik hastalık tanısı bulunmayan bireylerden serum örnekleri alınmıştır (n=20).

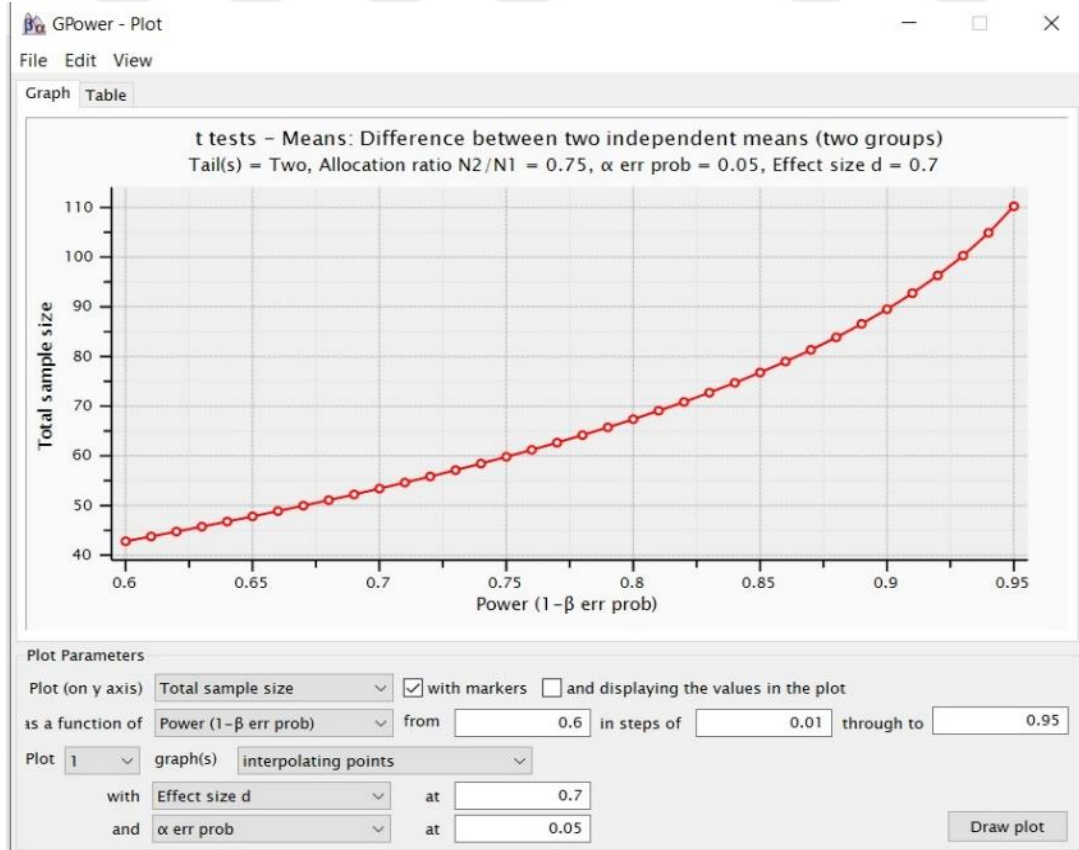
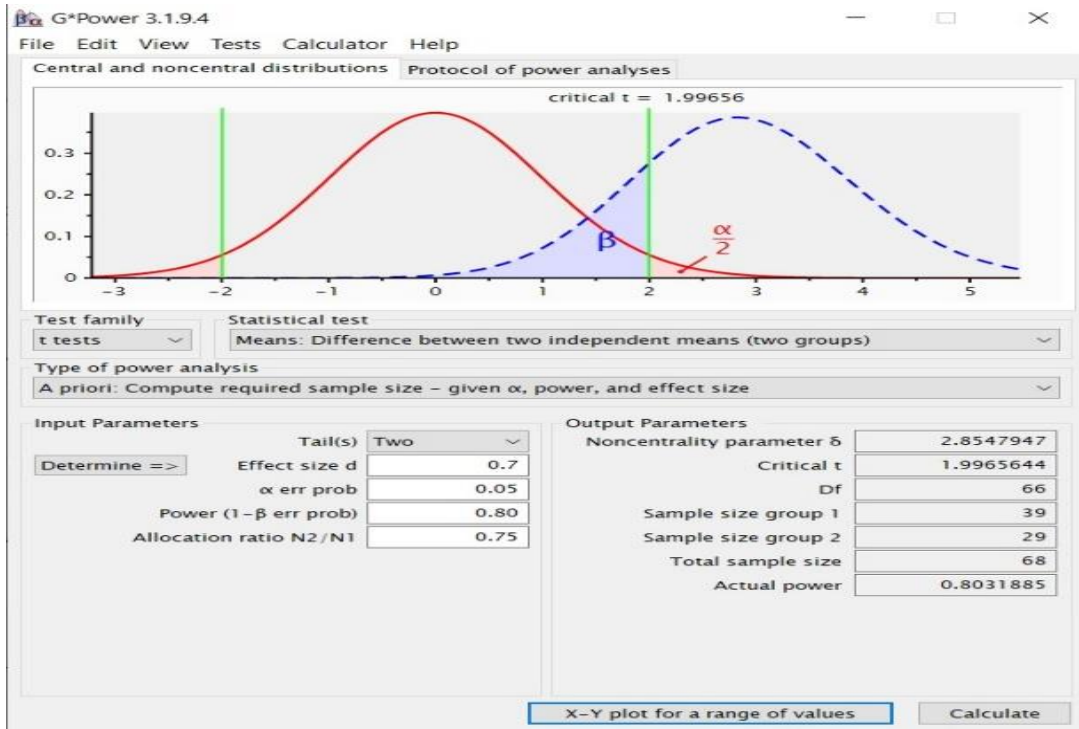
3.2. Veri ve Kan Örneklerinin Toplanması

Tüm katılımcıların epidemiyolojik verileri, cinsiyet, yaş, komorbiditeler, klinik bulgular, tanı yaşı, hastalık seyri, tedaviye başlama zamanı, tedaviye yanıt ve tedavi uyumu gibi bilgiler standart vaka rapor formu aracılığıyla kaydedilmiştir. Her bir bireyden EDTA'lı tüpe 3 ml kan alınarak, RNA izolasyonları yapılmak amacıyla- 80°C'de saklandı. Ayrıca ELISA testinde kullanılmak üzere sarı kapaklı jelli test tüplerine 2 ml kan alınarak, 30 dk. boyunca örnekler oda sıcaklığında bekletildikten sonra, 2.500 rpm'de 20 dk. boyunca santrifüj edildi. Tüpün üst kısmında toplanan serum her kriyotüpe 500 µl olacak şekilde aktarıldı ve- 80°C'de muhafaza edildi.

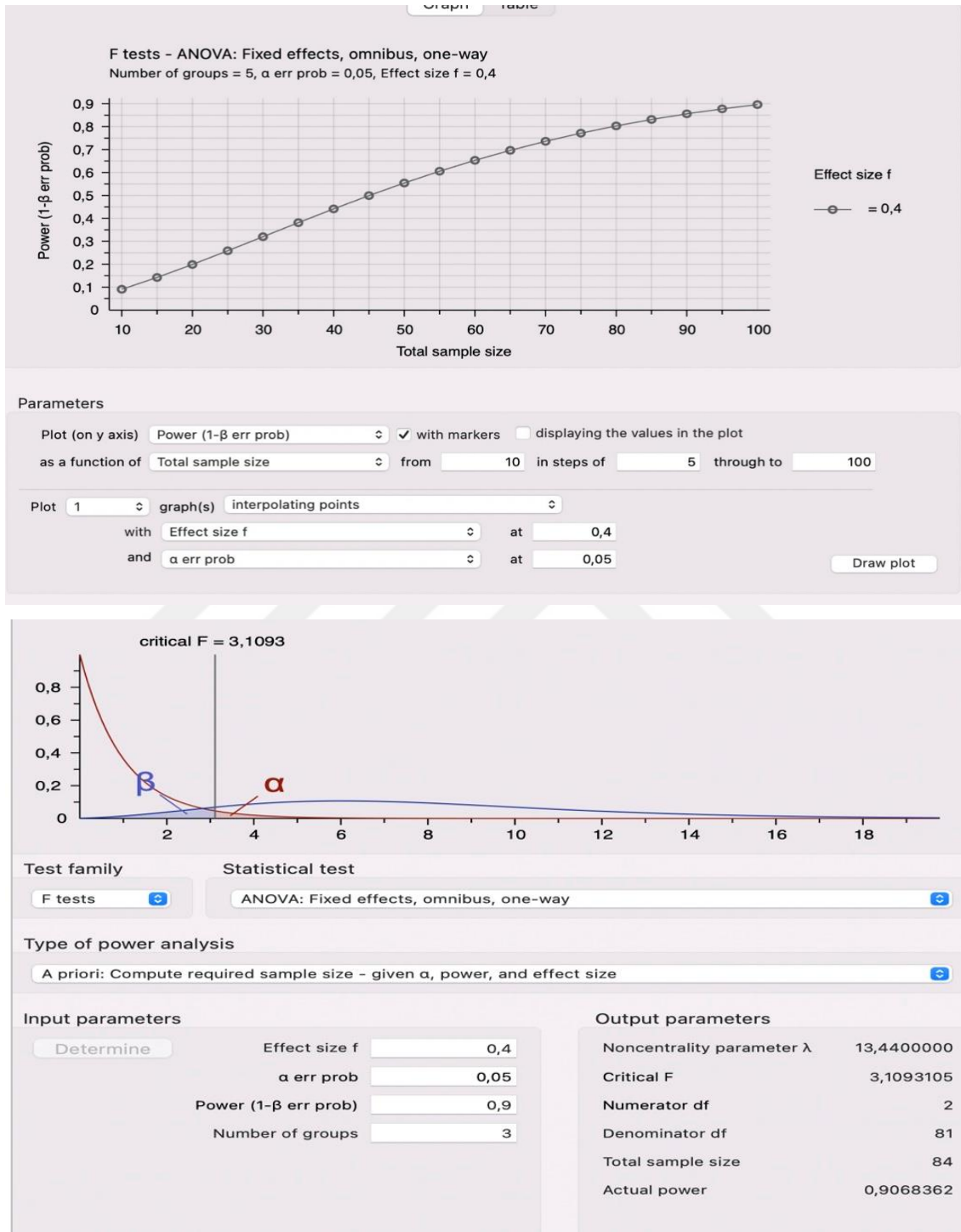
3.3. Enzim Bağlantılı İmmünosorbent Analizi (ELISA)

COVID-19 ve HEV çalışmasının deneysel aşamasında, serum vimentin düzeyleri üretici firmanın talimatlarına uygun olarak ELISA yöntemiyle (Sun Red, Çin) ölçülmüştür. Standart dilüsyonlar hazırlanarak, serum örnekleri, antikorlar ve HRP eklenmiştir. İnkübasyon ve yıkama adımlarının ardından kromojen çözeltisi eklendi ve absorbans değerleri 450 nm dalga boyunda spektrofotometre (Thermo Scientific, ABD) ile ölçülmüştür. Konsantrasyonlar standart eğriye göre hesaplanmıştır.

Çizelge 3.1. COVID-19 seropozitifliği ve nörodejeneratif bozukluğu hasta ve kontrol grubu güç analizi grafiği.



Çizelge 3.2. HEV hasta ve kontrol grubu güç analizi grafiği.



3.3.1. Vimentin, N-Kadherin, HEV-Igg ve HEV-Igm seviyesinin elisa yöntemi ile protein seviyesinin belirlenmesi

Vimentin ve N-Kadherin serum protein seviyesi ELISA yöntemi ve ölçümü için (Elabscience, China) Human ELISA kitleri kullanılmıştır. Bu amaçla ilk olarak kit protokolüne uygun olarak standart çözeltiler hazırlanmıştır. Standart çözeltiler ve seyreltme oranları aşağıdaki tablodaki gibidir (Tablo 3.1).

Tablo 3.1 Standartların hazırlanması.

Standart No.7	500ng/μl	500μl Original Standart+ 500μl Standart Diluent
Standart No.6	250ng/μl	500μl Original Standart No.7 + 500μl Standart Diluent
Standart No.5	125ng/μl	500μl Original Standart No.6 + 500μl Standart Diluent
Standart No.4	62,5ng/μl	500μl Original Standart No.5+ 500μl Standart Diluent
Standart No.3	31,25ng/μl	500μl Original Standart No.4+ 500μl Standart Diluent
Standart No.2	15,63ng/μl	500μl Original Standart No.3+ 500μl Standart Diluent
Standart No.1	7,81ng/μl	500μl Original Standart No.2 + 500μl Standart Diluent

1. Tüm reaktifler, standart çözeltiler ve örnekler kite uygun olarak hazırlandı. Deney, oda sıcaklığında gerçekleştirildi.
2. Standart kuyucuğa 100µl standart eklendi. 90 dakika boyunca 37 ° C' de inkübe edildi.
3. Örnek kuyucuklarına 100µl Biotinylated Detection Ab working solution (anti-vimentin ya da N-kadherin antikoru) eklendi.
4. Plaka parafilm ile kaplandıktan sonra 37 ° C'de 60 dakika inkübe edildi.
5. Plaka yıkama tamponu ile 3 kez yıkandı.
6. Tüm kuyucuklara 100µl streptavidin- HRP eklendi.
7. Plaka parafilm ile kaplandıktan sonra 37 ° C'de 30 dakika inkübe edildi.
8. Plaka yıkama tamponu ile 5 kez yıkandı. Her kuyucuğa 90µl substrate reagent eklendi ve plaka parafilm ile kaplandıktan sonra 37 ° C'de 15 dakika karanlıkta inkübe edildi.
9. Her kuyucuğa 50µl Stop Solüsyonu eklendi. 10 dakika içinde 450 nm' de OD değeri ölçüldü.

Çalışmaya dahil edilen, 80 hastadan toplanan serum örnekleri, üreticinin talimatlarına göre ticari olarak temin edilebilen HEV ELISA Kiti (SunRed BIO, Çin) kullanılarak anti-HEV IgM ve HEV IgG antikorlarının varlığı açısından test edildi. Sinyal-gürültü oranı (S/N oranı) > 2,2 olan örnekler pozitif kabul edildi. Kitin çalışma prensibi aşağıdaki gibidir;

Anti-HEV IgM ELISA testinde kullanılan mikropalaklar Hepatit E virüsünün dört alt tipini kapsayacak şekilde immundominant determinantları kodlayan HEV spesifik rekombinant antijenler ile kaplıdır. Katı faza, dilue edilmiş hasta örneği eklenir, sonra hasta örneğinde antijen varlığında Anti-HEV IgG katı faza bağlanır. Yıkama ile katı faza bağlanmamış komponentler uzaklaştırılır ve bağlanmış olan Anti-HEV IgG peroksidaz ile işaretlenmiş poliklonal spesifik anti-HEV IgG antikorlarının eklenmesi ile tespit edilebilir hale gelir.

Testin son aşamasında katı faza eklenen substrat ve kromojen karışım, örnekte Anti-HEV IgG miktarı ile orantılı olarak optik sinyal oluşturur. Anti-HEV IgM testinde ise mikropalaklar dört subtipde bulunan ORF3 bölgelerinden derivate edilen HEV spesifik sentetik antijenler ile kaplıdır.

Hasta ve kontrol gruplarında ELISA yöntemi uygularken, yukarıdaki protokolden farklı olarak 3. aşamada örnek kuyucuklarına 50µl numune eklendikten sonra 10µl anti- HEV-IgG ve HEV-IgM antikoru eklendi. Standart çözeltiler ve seyreltme oranları aşağıdaki tablodaki gibidir (Tablo 3.2).

Tablo 3.2 Standartların hazırlanması.

Standart No:5	4000pg/L	120µl Orijinal Standart+ 120 µl Standart Dilue
Standart No:4	2000pg/L	120µl Orijinal Standart No:5+120µl Standard Dilue
Standart No:3	1000pg/L	120µl Orijinal Standart No:4+120µl Standard Dilue
Standart No:2	500pg/L	120µl Orijinal Standart No:3+120µl Standard Dilue
Standart No:1	250pg/L	120µl Orijinal Standart No:2+120µl Standard Dilue

3.4. İstatistiksel Analizler

İstatistiksel analizler, veriler SPSS 21.0 ve GraphPad Prism® V.10.0 programı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Veriler normal dağıldığında grup ortalamalarını normal ve asimetrik değişkenlerin ortalamalarını karşılaştırmak için sırasıyla t test (non-parametrik) Mann-Whitney U testleri ve ANOVA testi kullanarak analiz edilmiştir. Ayrıca oranlardaki farklılıklar için Ki-kare veya Fisher kesin testi kullanılmıştır. qRT - PCR verileri ortalama +SEM olarak gösterilmiştir. Anlamlılık p değeri hesaplanarak

incelenmiştir ve $p < 0.05$ istatistiksel fark olarak kabul edilmiştir (****: $p < 0.0001$; ***: $p < 0.001$; **: $p < 0.01$; *: $p < 0.05$).

3.5. RNA İzolasyonu ve Gerçek Zamanlı Ters Transkripsiyon Polimeraz Zincir Reaksiyonu (qRT-PCR)

COVID-19 ve HEV çalışmasında kan örneklerinden RNA izolasyonu, Trizol reaktifi (Riboex, Geneall) kullanılarak yapılmıştır. Ekspresyon düzeyleri, Luna Universal One-Step RT-qPCR Kit (New England Biolabs, ABD) ile ölçülmüş, çalışmaya dahil olan *VIM*, *SNAIL*, *SLUG*, *ZEB1*, *MAP2K4*, *E-KADHERİN*, *STAT1*, *STAT2*, *IRF9*, *ISG15* ve *IFNB1* genler için özel primerler kullanılmıştır. *GAPDH* geni referans olarak kullanılmıştır. Ekspresyon seviyeleri $2^{-\Delta\Delta Ct}$ yöntemiyle hesaplanmıştır.

Hasta ve kontrol grubu kan örneklerinden RNA izolasyonu

1. 500 µl kan örneği ependorf tüpe aktarıldı. Daha sonra üzerine 500ul trizol eklendi ve homozenizatör yardımıyla hücrelerin parçalanması sağlandı.
2. Coloumn vial tüplere aktarılan örneklerin üzerine 150 µl kloroform eklendi.
3. Oda sıcaklığında 2-3 dakika beklendikten sonra +4'deki santrifüjde 12.000 rpm'de 15 dakika santrifüj edildi.
4. Yeni ependorf tüpleri etiketlendi.
5. Aktarım sonrası her bir tüpe 200 µl izopropanol eklendi ve tüpler alt-üst edildi.
6. Oda sıcaklığında 10 dk. inkübasyondan sonra 12.000 rpm'de 10 dk. santrifüj işlemi yapıldı.
7. Süpernatant döküldükten sonra her bir tüpe soğuk %75'lik etanol eklendi. 5 dk. boyunca 9000 rpm'de santrifüj edildi. Süpernatant kısmı uzaklaştırıldı.
8. Coloumn tüpler yeni ependorflara yerleştirildi ve tüplerin tam merkezine gelecek şekilde 40 µl RNAaz- free su tüplere eklendi.
9. 2 dk. 50°C'de inkübasyondan sonra 10.000 rpm' de 1 dk. santrifuj edildi. Örnekler- 80 °C'ye kaldırıldı.

3.5.1. Hasta ve kontrol grubu kan örneklerinden elde edilen rna'ların konsantrasyonlarının ölçümü ve qrt-pcr

RNA konsantrasyonlarının ölçümü, Thermo-Fischer nanodrop cihazı kullanarak yapıldı. Blank (Kör) olarak, RNA'ları dilue ederken kullanılan Rnase-free su kullanıldı. Mikroplaka da bulunan kuyucuklara her bir örnekten 2 tane olmak üzere 1 µl'lik RNA'lar koyuldu. 260 nm ve 280 nm'de hasta kan örneklerinden elde edilen RNA'ların absorbans değerleri ölçüldü. Ölçüm sonrası hesaplamalar aşağıdaki formül kullanılarak yapıldı. Konsantrasyon (µg/mL) = (A260RNA+A280 RNA) /2- (A260su+A280 su) / 2 × 40 µg/mL. Primerlerin hazırlanması ve dizi bilgileri, E-Kaderin, Zeb1, Vimentin, Snail, Slug, Map2k4 ve GAPDH genlerine spesifik primerler “Macrogen” firmasından sipariş verilmiştir. Tüm primerlerin stokları 100 pmol/uL olarak gelmiştir. Deney aşamasında reaksiyon karışımları **Tablo 4.3 ve Tablo 4.4** 'de, kullanılan primer sekansları ise **Tablo 4.5**'de sunulmuştur.

Kantitatif real time pcr analizleri

Hedef genlerin ekspresyon seviyelerindeki değişim oranının tespit edilmesi için “Analytik Jena” qRT-PCR cihazı kullanıldı. qRT-PCR deneyleri için tek adımlı RT-PCR imkânı tanıyan kit “Luna Universal One-Step RT-qPCR Kit” ile hedef genlerin ekspresyon seviyesi tespit edildi. Kite ait önerilen protokol ve bileşenlerin konsantrasyonları her bir reaksiyon için reaksiyon karışımı Tablo 3.3'te verilmiştir. Analiz Jena qRT-PCR cihazı ile analiz gerçekleştirilmiştir ve gerekli protokol Tablo 3.4'te verilmiştir.

QRT -PCR ile yapılan amplifikasyon sonuçları için *GAPDH* genine ait transkriptler kontrol ve deney grupları arasındaki normalizasyon için kullanılmıştır. Gen ifadelerinin analizi, üç bağımsız tekrarlı deneyin sonucunda elde edilen Ct değerlerinin ortalaması alınarak yapıldı. Bu çalışmada GAPDH geni referans gen olarak kullanıldı. Öncelikle araştırılmak istenen ilgili genin Ct değeri, referans genin Ct değerinden çıkartılarak normalize edildi ve delta Ct (ΔCt) değeri hesaplandı. Sonrasında kontrol grubunun ΔCt değerleri, deney grubunun ΔCt değerlerinden çıkartılarak ΔΔCt değeri bulundu. Gen ifadelerinin kat cinsinden artan ya da azalan değerleri 2-ΔΔCt (rölatif gen ekspresyonu)

hesabı için $2^{-\Delta\Delta CT}$ (Livak) yöntemi kullanılmıştır (Livak ve ark., 2001; Kucuk ve ark., 2021).

Tablo 3.3 qRT-PCR analizi için hazırlanan reaksiyon karışımı.

İçerikler	Hacim
Luna Universal Tek Aşamalı Reaksiyon Karışımı (2x)	5 µl
Luna WarmStart RT Enzim Karışımı (20x)	0.5 µl
Forward primer (10 µM)	0.5 µl
Reverse primer (10 µM)	0.5 µl
Kalıp RNA	<1 µg (total RNA)
Nükleazdan bağımsız su	10µl total hacime oranla

Tablo 3.4 qRT-PCR protokolü.

Aşamalar	Döngü sayısı	Sıcaklık ve Süre
Revers Transkriptaz	1	55 °C 15 dakika
Başlangıç Denatürasyonu	1	95°C 3 dakika
Amplifikasyon	40	95°C 10 saniye
		Tm-55 °C 30 saniye
		72°C 30 saniye
Soğuma	1	37°C, 30 saniye

Tablo 3.5 Hedef genlerin ekspresyon analizi için qRT-PCR’ da kullanılan primer dizileri.

GENLER	PRİMER DİZİLERİ
<i>GAPDH</i> <i>Homosapiens</i> <i>NCBI</i>	Forward:5’GTC TCC TCT GAC TTC AAC AGC G 3’ Reverse: 5’ ACC ACC CTG TTG CTG TAG CCA A 3’
<i>HEV</i> <i>Homosapiens</i> <i>NCBI</i>	Forward:5’AAT AAA TCA TAA GGT GGT TTC TGG GGT GAC 3’ Reverse: 5’AAT AAA TCA TAA GGG GTT GGT TGG ATG AA 3’
<i>IFBN-1</i> <i>Homosapiens</i> <i>NCBI</i>	Forward: 5’TTG ACA TCC CTG AGG AGA TTA AGC 3’ Reverse: 5’ TTA GCC AGG AGG TTC TCA ACA ATA G 3’
<i>ISG15</i> <i>Homosapiens</i> <i>NCBI</i>	Forward: 5’ GCG CAG ATC ACC CAG AAG AT 3’ Reverse: 5’ GTT CGT CGC ATT TGT CCA CC 3’
<i>IRF9</i> <i>Homosapiens</i> <i>NCBI</i>	Forward: 5’ CAG CAA CTG CAA CTC TGA GC 3’ Reverse: 5’ ACT CGG CCA CCA TAG ATG AA 3’
<i>STAT1</i> <i>Homosapiens</i> <i>NCBI</i>	Forward: 5’ GCG CTG CCT TTT CTC CTG CCG G 3’ Reverse: 5’CTG GTG AAC CTG CTC CAG GAA 3’
<i>STAT2</i> <i>Homosapiens</i> <i>NCBI</i>	Forward: 5’TCA TCT CAG CCA ACT GGG TAG G 3’ Reverse: 5’TCA TCT CAG CCA ACT GGG TAG G 3’

Tablo 3.5 (Devam) Hedef genlerin ekspresyon analizi için qRT-PCR’ da kullanılan primer dizileri.

GENLER	PRİMER DİZİLERİ
<i>MAP2K4</i> <i>Homosapiens</i> <i>NCBI</i>	Forward: 5’CTG AGA ACA CAC AGC ATT GAG TC-3’ Reverse: 5’ CAC AAA AGA GCA GGA TGA GGT C-3’
<i>E-KADHERİN</i> <i>Homosapiens</i> <i>NCBI</i>	Forward: 5’ ATT TTT CCC TCG ACA CCC GAT 3’ Reverse: 5’ TCC CAG GCG TAG ACC AAG A 3’
<i>ZEB1</i> <i>Homosapiens</i> <i>NCBI</i>	Forward: 5’-GCACAACCAAGTGCAGAAGA 3’ Reverse: 5’ GAACCATTGGTGGTTGATCC3’
<i>VIM</i> <i>Homosapiens</i> <i>NCBI</i>	Forward: 5’ACG TCT TGA CCT TGA ACG CA 3’ Reverse: 5’ TCT TGG CAG CCA CAC TTT CA 3’
<i>SNAI1</i> <i>Homosapiens</i> <i>NCBI</i>	Forward: 5’TGC CCT CAA GAT GCA CAT CCG A 3’ Reverse: 5’ GGG ACA GGA AGA AGG GCT TCT C 3’
<i>SLUG</i> <i>Homosapiens</i> <i>NCBI</i>	Forward: 5’ ATC TGC GGC AAG GCG TTT TCC A 3’ Reverse: 5’ GAG CCC TCA GAT TTG ACC TGT C 3’

4. BULGULAR

Bu tez çalışması kapsamında elde edilen verilerin bir kısmı aşağıda yer alan dergilerde yayınlanmıştır.

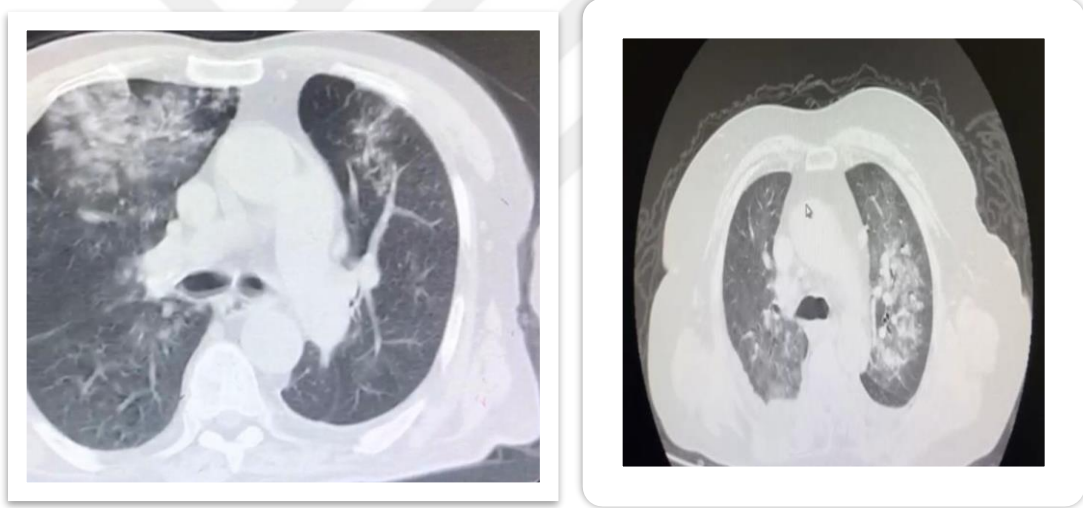
1. Yılmaz E, Yılmaz D, Cacan E. Severe and post-COVID-19 are associated with high expression of vimentin and reduced expression of N-cadherin. *Sci Rep.* 2024 Nov 26;14(1):29256. doi: 10.1038/s41598-024-72192-7.
2. Yılmaz E, Yılmaz D, Yıldız CG, Cacan E. Upregulation of the MAP2K4 gene triggers endothelial-mesenchymal transition in COVID-19. *Mol Biol Rep.* 2025 Jan 31;52(1):180. doi: 10.1007/s11033-025-10289-6.

4.1. Şiddetli ve Covid-19 Sonrası Vimentin ve N-Kadherin Ekspresyon Düzeylerinin Belirlenmesi

4.1.1. Şiddetli Covid-19 hastalarının ve enfeksiyondan 6–12 ay sonrasındaki bireylerin klinik ve demografik özellikleri, sağlıklı kontrol grubu ile karşılaştırılması

Toplamda 44 şiddetli COVID-19 hastası 22 mevcut tanılı ve 22'si enfeksiyondan 6–12 ay sonraki dönem ile COVID-19 geçirmemiş 22 birey karşılaştırılmış olup, toplamda 66 katılımcı değerlendirildi. Şiddetli COVID-19 hastaları, enfeksiyondan 6–12 ay sonraki bireyler ve COVID-19 negatif (kontrol) grubunun demografik özellikleri Tablo 4.6'da özetlendi. Şiddetli COVID-19 hastalarının 12'si erkek, 10'u kadın olup; 7'sinde hipertansiyon (HT), 8'inde diyabet (DM), 3'ünde kronik obstrüktif akciğer hastalığı (KOAH) ve 4'ünde koroner arter hastalığı (KAH) mevcuttu. Bu grubun ortalama yaşı $76 \pm 14,1$ yıl idi. COVID-19 enfeksiyonundan 6–12 ay sonraki grupta 8 erkek, 14 kadın yer almakta olup; 3 hastada HT ve KAH 6 hastada KOAH ve 3 hastada DM bulunmaktaydı. Bu grubun ortalama yaşı $67 \pm 18,5$ yıl idi. COVID-19 negatif kontrol grubunda ise 8 erkek, 14 kadın vardı ve ortalama yaş $31 \pm 8,4$ yıl idi. Bu grupta herhangi bir kronik hastalık saptanmadı (Tablo 4.1). Şiddetli COVID-19 hastaları, 6–12 ay sonraki grup ve COVID-19 negatif kontrol grubu

arasında yaş ve cinsiyet açısından anlamlı bir fark saptanmadı. COVID-19’da tipik bir toraks BT görüntüsü, bilateral, periferik veya posterior dağılımda konsolidasyonlu veya konsolidasyon şeklinde olmadan görülebilen buzlu cam veya retiküler opasiteler şeklindedir (Şekil 4.1). BT gibi tanısal görüntüleme yöntemlerinin alt solunum yolu tutulumunu değerlendirmede, hastalık progresyonunu izleme veya COVID-19’un diğer komplikasyonlarını araştırmada katkısı olsa da tanısal görüntüleme yöntemlerinin duyarlılığı alt solunum yolundan örnekleme ve moleküler yöntemlerle test etmeye kıyasla daha düşüktür. Ayrıca özgüllük de sınırlıdır, çünkü COVID-19’a özgü tipik görüntüleme bulguları diğer solunum yolu virüsleri veya hastalıklarında da görülebilir.



Şekil 4.1. Şiddetli COVID-19 hastalarının (sitokin fırtınası) akciğer bilgisayarlı tomografi (BT) görüntüleri.

Ağır COVID-19 hastaları ile hem 6–12 ay sonrası bireyler hem de sağlıklı kontrol grubu karşılaştırıldığında, tablo 4.6.’de gösterildiği gibi çeşitli biyokimyasal ve hematolojik parametrelerde anlamlı farklılıklar gözlemlendi. Ağır COVID-19 hastalarında; beyaz kan hücresi (WBC), C-reaktif protein (CRP), prokalsitonin (PROC), troponin I, fibrinojen, D-dimer ve laktat dehidrogenaz (LDH) düzeylerinin, her iki gruba karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı biçimde yüksek olduğu saptandı ($p < 0.01$; $p = 0.012$; $p < 0.001$; $p = 0.001$; $p < 0.05$; $p = 0.042$; $p < 0.05$; $p = 0.024$; $p < 0.001$; $p = 0.001$; $p < 0.001$; $p =$

0.001 ve $p = 0.001$; $p = 0.000$). Bu parametrelerdeki artış, hastalığın şiddetli inflamatuvar süreci ve koagülopatik etkilerini yansıtmaktadır. Öte yandan, ağır COVID-19 hastalarında lenfosit seviyeleri sağlıklı bireylerle karşılaştırıldığında anlamlı şekilde düşük bulundu ($p < 0.001$; $p = 0.001$). Bu durum, hastalığa eşlik eden lenfopeni ile ilişkilendirilmektedir. Ayrıca hem ağır hastalarda hem de 6–12 ay sonrası bireylerde, sağlıklı kontrol grubuna göre trombosit (PLT) düzeylerinde belirgin bir azalma gözlemlendi ($p < 0.05$; $p = 0.023$). Tüm bu bulgular, COVID-19'un akut döneminde olduğu kadar uzun dönem etkilerinin de hematolojik ve inflamatuvar belirteçler üzerinde kalıcı izler bırakabileceğini göstermektedir (Tablo 4.2).

Tablo 4.1. Şiddetli COVID-19 tanısı konmuş bireylerin, enfeksiyondan 6-12 ay sonra incelenen bireylerin ve COVID-19 testi negatif olan grubun demografik verileri.

	Covid 19 Pozitif	İyileşmiş Hasta	Covid 19 Negatif
Yaş Aralığı			
20-35	2 (34±2,1)	5 (33 ±2,08)	14 (26 ±5)
35-65	2 (58±4,9)	9 (53 ±7,6)	8 (40±4,08)
65-90	18 (81±7,2)	8 (81 ±6,7)	-
Total	22 (76±14.1) i**	22 (67±18,5)	22 (31±8,4)
Cinsiyet			
Kadın	10 (45%)	15 (68,1%)	14 (63,6%)
Erkek	12 (55%)	7 (31,9%)	8 (36,4%)
Total	22	22	22
Kronik Hastalıklar			
DM	8 (36,3%)	3 (13,6%)	-
KAH	4 (18,1%)	3 (13,6%)	-
KOAH	3 (13,6%)	6 (27,2%)	-
HT n %	7 (31,8%)	3 (13,6%)	-
Kronik Hastalıkları olmayan	-	7 (31,8%)	22 (100%)

Ortalama ± standart sapma. n: kişi sayısı, *: Şiddetli COVID-19 pozitif grup ile karşılaştırma, i: COVID-19 negatif grup ile karşılaştırması.

Göğüs BT görüntüleri, her iki akciğerde bilateral, multifokal, segmental yamalı “ground glass” opasiteler ve konsolidasyon alanlarını, ayrıca loblar arası septal kalınlaşmayı göstermektedir; bu bulgular, sitokin fırtınası yaşayan şiddetli COVID-19 hastalarında ciddi akciğer tutulumunu işaret etmektedir.

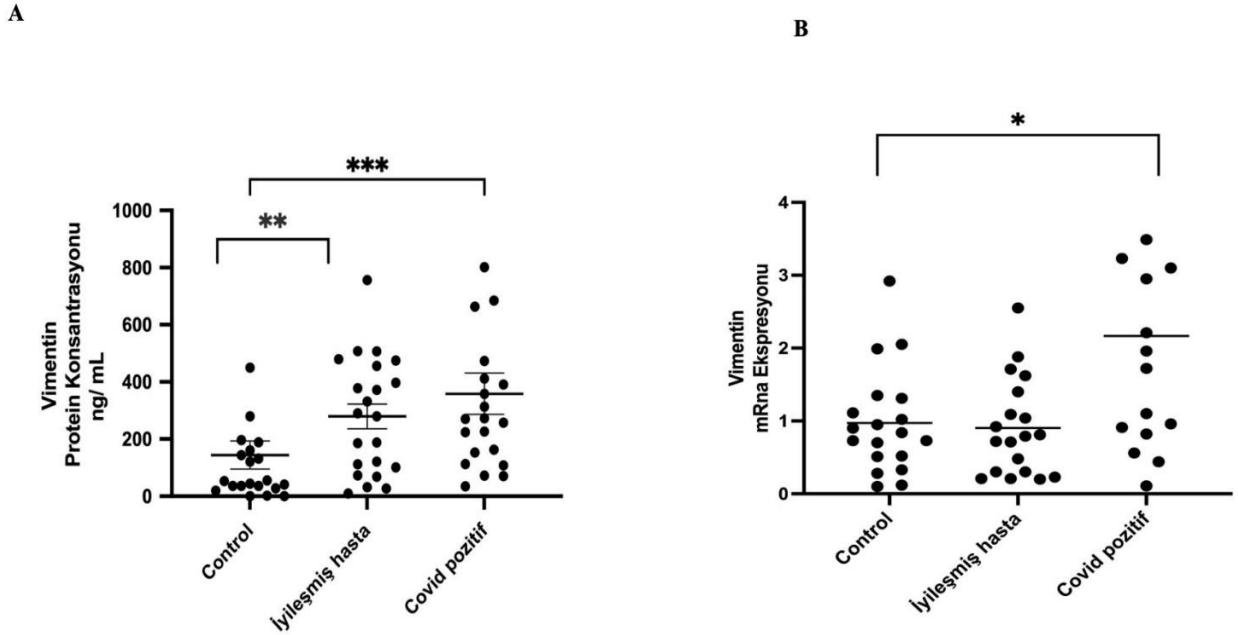
Tablo 4.2. Klinik veriler, şiddetli covid-19 testi pozitif olan bireyler, enfeksiyondan 6-12 ay sonra izlenen bireyler ve COVID-19 testi negatif olan bir gruba ait bilgileri içermektedir.

Parametreler	Covid 19 Negatif	İyileşmiş Hasta	Covid 19 Pozitif
WBC 10 ³ /mL	7±1.4	8.6±4.03	10.7±6.9*i
Lenfosit (n/UL)	2±0.5	1.7±0.87	1.01±0.6***i
CRP (mg/L)	0.02±0.16	2.8±4.3	14.9±14.4***i
PCT (ng/mL)	0.01±0.1	0.1±0.2	1.6±2.8*i
Troponin I (U/L)	9±4.8	10.9±8.3	15±11.2*i
Fibrinojen (mg/dL)	285±72.4	405.5±183.6*i	524.7±205.7***i
D-Dimer (mg/dL)	0.01±0.09	0.9±1.5	2.4±2.8***i
LDH (n /uL)	137±80	232.7±51*i	298.2±119.6**i
PLT (× 10 ⁹ /L)	282±92.7	223.7±88.5*i	213±67.2*i

Şiddetli COVID-19 tanısı konmuş bireylerin, enfeksiyondan 6-12 ay sonra incelenen bireylerin ve COVID-19 testi negatif olan grubun demografik verileri. Ortalama ± standart sapma. n: kişi sayısı, *: Şiddetli COVID-19 pozitif grup ile karşılaştırma, i: COVID-19 negatif grup ile karşılaştırması.

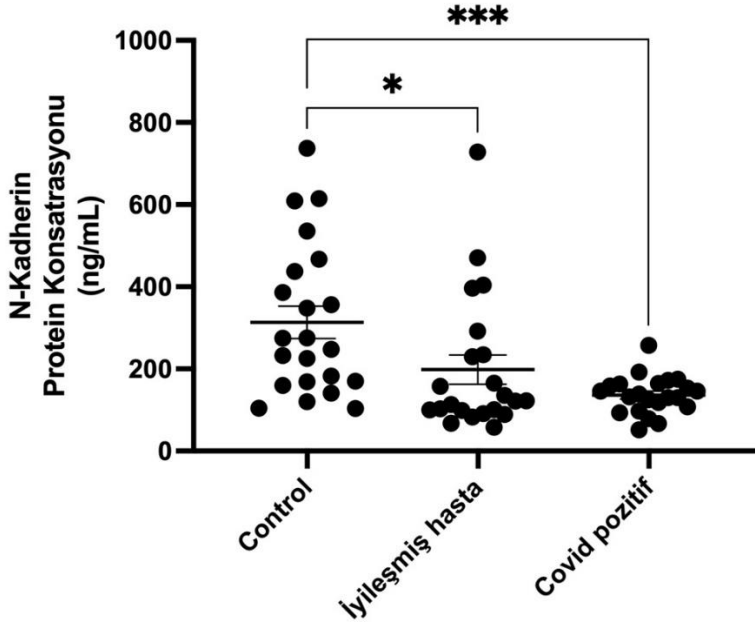
4.1.2. Şiddetli COVID-19 hastalarında vimentin seviyeleri kontrol grubuna kıyasla artış gösterirken, serum n-kaderin seviyesi azalma gösterdi

Şiddetli COVID-19 hastalarında serum ve transkript düzeylerindeki vimentin, kontrol grubuna kıyasla anlamlı derecede yükseldi (Şekil 4.2.). Buna karşılık, N-kaderin serum konsantrasyonları, şiddetli COVID-19 hastalarında kontrol grubuna kıyasla anlamlı şekilde azaldı ve enfeksiyondan 6-12 ay sonra izlenen kişilerde de benzer bir azalma gözlemlendi (Şekil 4.3.). Ek olarak, Spearman korelasyon analizi, şiddetli COVID-19 hastalarında serum vimentin seviyeleri ile klinik parametreler arasında ilişkiler olduğunu gösterildi; bu parametreler arasında CRP ($r=0,402$, $p=0.023$), laktat dehidrogenaz ($r=0,360$, $p=0.042$) ve lenfosit sayısı ($r=-0,398$, $p=0.024$) yer almaktadır (Tablo 4.3.).



Şekil 4.2. Şiddetli COVID-19 hastalarında, enfeksiyondan 6-12 ay sonra iyileşmiş bireylerde ve kontrol grubunda vimentin proteini ve transkript düzeyleri. Hata çubukları, ortalamanın standart hatasını ($\pm$ SEM) göstermektedir. İstatistiksel anlamlılık parametrik olmayan Mann-Whitney U testi ile değerlendirilmiş olup, anlamlılık düzeyleri şu şekilde gösterildi: * $p \leq 0.05$, ** $p \leq 0.01$ ve *** $p \leq 0.001$.

Şiddetli COVID-19 hastalarında serum vimentin düzeylerinin yükselmiş olması, SARS-CoV-2 enfeksiyonunun ortaya çıkışı ile potansiyel bir ilişki olabileceğini düşündürdü. ROC eğrisi analizi, SARS-CoV-2 enfeksiyonunun tanısında serum vimentin için eğri altındaki alanın (AUC) 0.92 (%95 güven aralığı) olduğunu ve şiddetli COVID-19 için belirlenen kesme değerinin 210,2 ng/ml olduğunu gösterdi. Buna karşılık, şiddetli COVID-19 hastalarında serum N-kaderin düzeylerinin azalması, SARS-CoV-2 enfeksiyonunun ortaya çıkışı ile potansiyel bir ilişkiyi işaret etti. ROC eğrisi analizi, SARS-CoV-2 enfeksiyonunun tanısında serum N-kaderin için AUC'nin 0.83 (%95 güven aralığı) olduğunu ve şiddetli COVID-19 için belirlenen eşik değerinin 169,0 ng/ml olduğu gösterildi (Tablo 4.4).



Şekil 4.3. Şiddetli COVID-19 hastalarının, enfeksiyondan 6-12 ay sonra iyileşmiş bireylerin ve kontrol grubunun serum N-kaderin düzeyleri. Grafik, ortalamanın standart hatasını (SEM) gösteren hata çubukları ile sunuldu. İstatistiksel anlamlılık, Çoklu karşılaştırmalar için Dunnett sonrası testi ile One-way ANOVA kullanılarak değerlendirildi. Anlamlılık düzeyleri şu şekilde gösterildi: * $p \leq 0.05$, ** $p \leq 0.01$ ve *** $p \leq 0.001$.

Tablo 4.3. COVID-19 hastalarında serum vimentin düzeyinin parametrelerle korelasyonu.

Değerler	Vimentin ile Korelasyon	
	<i>r</i>	<i>p</i>
CRP mg/L	0.402	0.023
LDH	0.360	0.042
Lenfosit	-0.398	0.024

Tablo 4.4. COVID-19 hastalarında serum vimentin ve N-kadherin regresyon analizi.

Değerler	AUC (% 95/CI)	Cut off	<i>p</i>	Sensitivity (%)	Specificity (%)
Vimentin	0.92	210.2 ng/mL	<0.001	76,5	94.7
N-kadherin	0.83	169.0 ng/mL	<0.001	72	78,9

4.2. MAP2K4 Geninin Yukarı Düzenlenmesi SARS-COV-2'de EndMT'yi Tetiklemektedir

4.2.1. Şiddetli Covid-19 hastalarının demografik ve klinik özellikleri

Prospektif olarak 66 birey çalışmaya dahil edildi: Tablo 4.5'te yirmi iki şiddetli COVID-19 hastası (akciğer tutulumuyla birlikte şiddetli solunum sıkıntısı), enfeksiyondan 6–12 ay sonra iyileşmiş yirmi iki şiddetli COVID-19 hastası ve COVID-19 negatif yirmi iki kişi karşılaştırıldı. SARS-CoV-2 negatif katılımcıların ortalama yaşı $31 \pm 8,4$ yıl olup 14'ü kadındır. Pozitif katılımcıların ortalama yaşı $76 \pm 14,1$ yıl olup 10'u kadındır. Enfeksiyondan 6–12 ay sonra COVID-19 geçirmiş katılımcıların ortalama yaşı $67 \pm 18,5$ yıl olup 15'i kadındır.

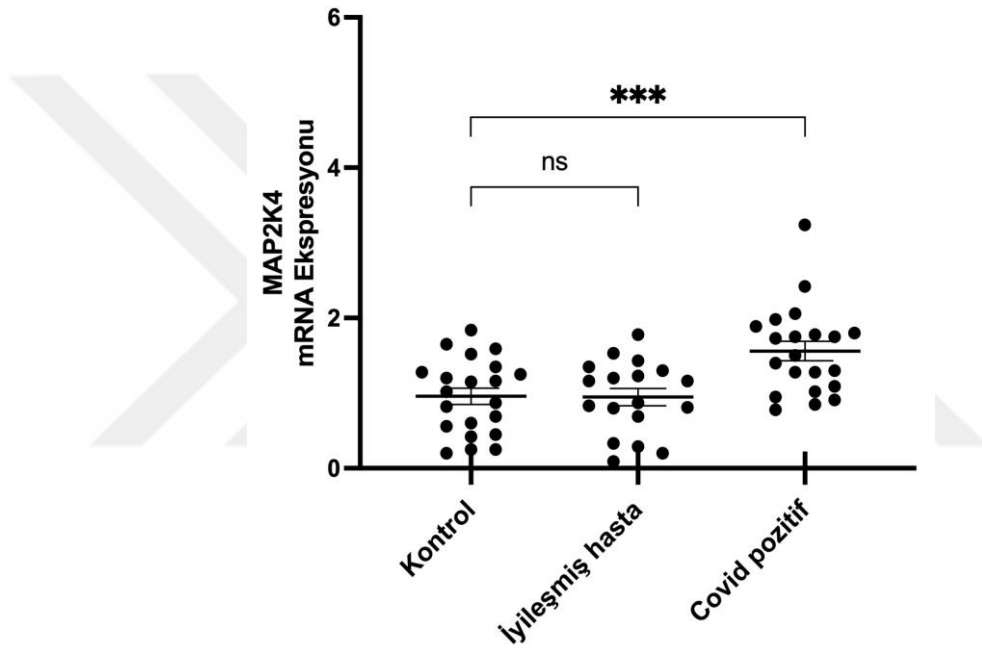
Tablo 4.5. SARS-CoV-2 pozitif hastaların başlangıçtaki hematokimyasal özellikleri.

Hematokimyasal Değerler	Covid-19 Pozitif
Beyaz Kan Hücreleri (n/uL)	10.7 ± 6.9
Lenfosit (n/uL)	1.01 ± 0.6
C-Reaktif Protein (mg/dL)	14.9 ± 14.4
Aspartat Transaminaz (U/L)	34.5 ± 24.7
Alanin Transaminaz (U/L)	52.2 ± 47.2
Prokalsitonin (ng/mL)	1.6 ± 0.8
Troponin I (U/L)	15 ± 11.2
Fibrinojen (mg/dL)	524.7 ± 205.7
D- Dimer (mg/dL)	2.4 ± 1.8
CK (mg/L)	94.3 ± 64.6
CKMB (mg/L)	20.2 ± 8.5
Creatin (U/L)	1.3 ± 0.8
Bun (U/L)	77.9 ± 48.4
Laktat Dehidrogenaz (U/L)	298.2 ± 119.6
Trombosit (n/uL)	213 ± 67.2

CK-MB: Kreatin kinaz-MB, CK: Kreatin kinaz, BUN: Kan Üre Azotu, Ortalama $\pm$ standart sapma.

4.2.2. SARS-Cov-2 enfeksiyonu map2k4 gen ekspresyonunu artırmaktadır

MAP2K4, hücre proliferasyonu, farklılaşma ve apoptoz gibi hücresel süreçleri etkiler. Şekil 4.4.'de şiddetli COVID-19 hastalarında MAP2K4 gen ekspresyonunun kontrol grubuna kıyasla anlamlı şekilde arttığını tespit ettik (Şekil 4.4.).

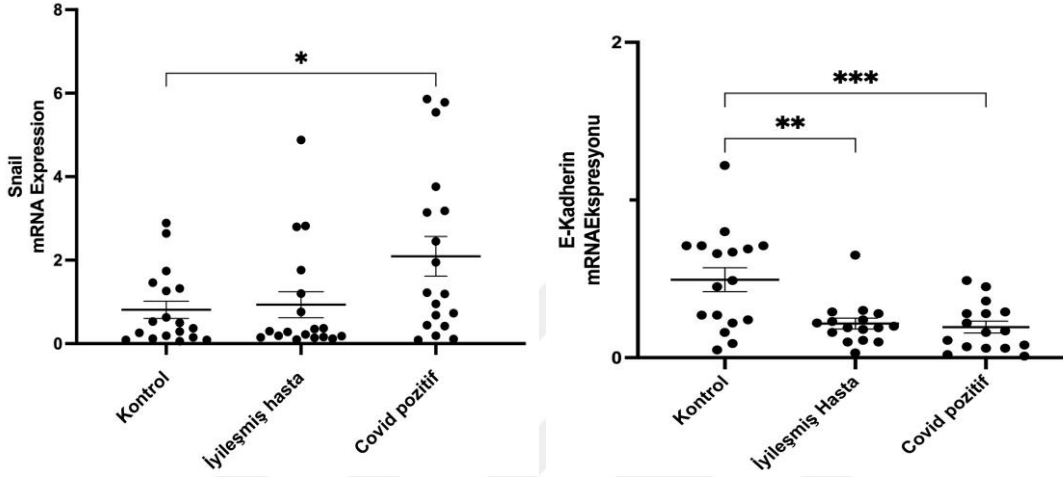


Şekil 4.4. Şiddetli COVID-19 hastaları, enfeksiyondan 6–12 ay sonra iyileşmiş bireyler ve kontrol grubunda MAP2K4 transkript seviyeleri. Grafiklerde hata çubukları, ortalamanın standart hatasını (SEM) göstermektedir. İstatistiksel anlamlılık, parametrik olmayan Mann-Whitney U testi ile değerlendirilmiş olup anlamlılık düzeyleri şu şekilde gösterildi: * $p \leq 0.05$, ** $p \leq 0.01$ ve *** $p \leq 0.001$.

4.2.3. SARS-Cov-2 enfeksiyonu olan hastalarda End-MT ile ilişkili snail gen ekspresyonu artarken e-kaderin seviyesi azalmaktadır

qRT-PCR sonuçlarımız, Şekil 4.5.'de Snail gen ekspresyonunun şiddetli COVID-19 hastalarında kontrol grubuna göre anlamlı şekilde daha yüksek olduğunu gösterdi. Buna karşılık, E-kaderin gen ekspresyonu şiddetli COVID-19 hastalarında kontrol grubuna göre

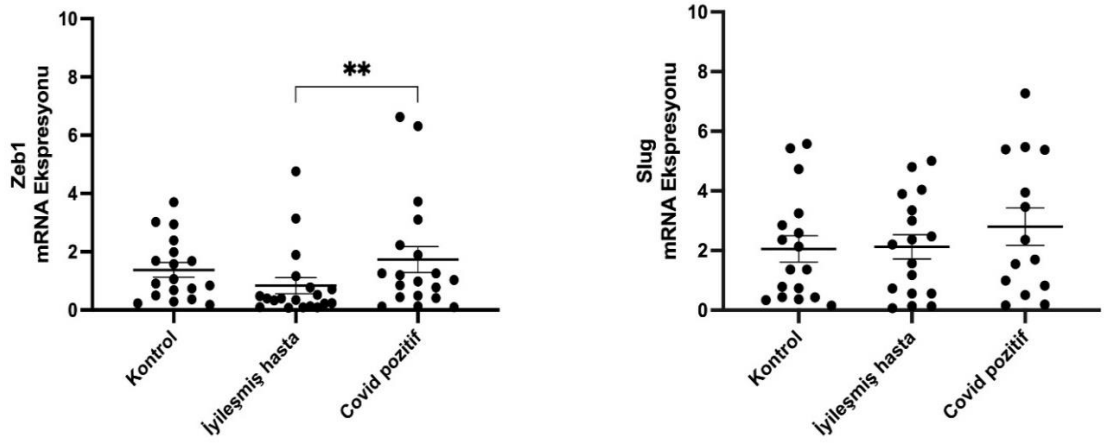
anlamlı şekilde azalmış olup, enfeksiyondan 6–12 ay sonra iyileşmiş bireylerde de benzer bir düşüş gözlemlendi (Şekil 4.5.).



Şekil 4.5. Şiddetli COVID-19 hastalarında, enfeksiyondan 6-12 ay sonra iyileşmiş bireylerde ve kontrol grubunda Snail ve E-Kadherin hedef genlerinin transkripsiyon düzeyleri. Grafik, ortalamanın standart hatasını (SEM) temsil eden hata çubukları ile verileri göstermektedir. İstatistiksel anlamlılık, parametrik olmayan Mann-Whitney U testi ve çoklu karşılaştırmalar için Dunnett'in post-hoc testi ile takip edilen tek yönlü ANOVA kullanılarak değerlendirildi. İstatistiksel anlamlılık seviyeleri şu şekilde gösterildi: * $p \leq 0.05$, ** $p \leq 0.01$ ve *** $p \leq 0.001$.

4.2.4. SARS-Cov-2 enfeksiyonu olan hastalarda End-MT ile ilişkili slug ve zeb1 gen ekspresyon seviyeleri farklılık göstermektedir

Şiddetli COVID-19 hastaları ile kontrol grubu arasında Zeb1 ekspresyonu açısından anlamlı bir fark gözlenmedi; ancak, enfeksiyondan 6–12 ay sonraki dönemde anlamlı bir artış saptandı. Şiddetli COVID-19 hastalarında Slug gen ekspresyonunda artış eğilimi gözlemlense de istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı (Şekil 4.5.).



Şekil 4.6. Şiddetli COVID-19 hastalarında, enfeksiyondan 6-12 ay sonra iyileşmiş bireylerde ve kontrol grubunda Zeb1 ve Slug hedef genlerinin transkripsiyon düzeyleri. Grafik, ortalamanın standart hatasını ($\pm$ SEM) temsil eden hata çubukları ile verileri göstermektedir. İstatistiksel anlamlılık, parametrik olmayan Mann-Whitney U testi kullanılarak değerlendirilmiş olup, anlamlılık seviyeleri şu şekilde gösterildi: * $p \leq 0.05$, ** $p \leq 0.01$ ve *** $p \leq 0.001$.

4.2.5. E-kadherin ekspresyonu ile hematolojik bulgular arasındaki korelasyon

Tablo 4.6’da şiddetli COVID-19 hastalarında E-kadherin transkript düzeyleri ile klinik bulgular arasındaki ilişkiyi tahmin etmek için Spearman korelasyon analizi yapıldı. Şiddetli COVID-19 hastalarında E-Kadherin ile PLT ($r = -0,480$, $p = 0.01$), Lenfosit ($r = -0,471$, $p = 0.02$) ve CKMB ($r = -0,422$, $p = 0.03$) arasında korelasyon bulundu (Tablo 4.6.).

Tablo 4.6. COVID-19 hastalarında e-kadherin ekspresyonunun parametrelerle korelasyonu

Değerler	E-Kadherin ile Korelasyon	
	R	p
PLT	-0.480	0.01
Lenfosit	-0.471	0.02
CKMB	-0.422	0.03

4.2.6. MAP2K4, slug ve zeb gen ekspresyonları ile hematolojik bulgular arasındaki korelasyon farklılıkları

Bu çalışmada, Tablo 4.12’de şiddetli COVID-19 hastalarında MAP2K4, SLUG ve ZEB1 gen ekspresyonları ile klinik veriler arasındaki korelasyon farklılıklarını da belirledik. Sonuç olarak, şiddetli COVID-19 hastalarında MAP2K4 ile AST ($r=-0.584$, $p=0.01$), SLUG ile BUN ($r=0,463$, $p=0.02$) ve ZEB ile CK ($r=0.535$, $p=0.009$) arasında ilişki bulundu (Tablo 4.7).

Tablo 4.7. MAP2K4, slug ve zeb1 transkript düzeylerinin klinik belirteçlerle korelasyonu

	MAP2K4	SLUG	ZEB1
AST	$r=-0.584$, $p=0.01$	-	-
CK	-	-	$r=0.535$, $p=0.009$
BUN	-	$r=0,463$, $p=0.02$	-

**Hepatit E Virüsünün Nörolojik Hastalılardaki Prevalansının Belirlenmesi ve Doğal İmmün Yanıttaki Etkisinin Genetik Açidan İncelenmesi Projemiz Yükseköğretim Kurumları Tarafından Destekli Bilimsel Araştırma Projesi tarafından desteklenmektedir.*

4.3. Hepatit E Virüsünün Nörolojik Hastalılardaki Prevalansının Belirlenmesi ve Doğal İmmün Yanıttaki Etkisinin Genetik Açıdan İncelenmesi

4.3.1. Hasta ve kontrol grubu bireylerin klinik ve demografik bulgularının incelenmesi

Çalışmamızda, MS, AH ve PH tanısı almış, toplamda 60 hasta ile nörolojik hastalığı bulunmayan 20 sağlıklı bireyin yer aldığı bir araştırma gerçekleştirildi. Hastaların tanı süreçleri aşağıdaki kriterlerle belirlendi. MS tanısı, 2017'de güncellenen McDonald kriterlerine dayanarak konuldu. Hastaların klinik bulguları, manyetik rezonans görüntüleme (MRG) bulguları ve biyomarker analizleri dikkate alındı. Öyküde, geçici nörolojik semptomlar, tekrarlayıcı ataklar ve görüntüleme ile saptanan lezyonlar değerlendirildi. Ek olarak, hastaların lomber ponksiyon ile elde edilen beyin omurilik sıvısı örnekleri, oligoklonal bantların varlığı açısından incelendi.

AH tanısı için, DSM-5 ve NINCDS-ADRDA kriterleri kullanıldı. Hastaların bilişsel değerlendirmeleri, Mini-Mental State Examination (MMSE) ve Montreal Cognitive Assessment (MoCA) testleri aracılığıyla yapıldı. Ayrıca, nörolojik muayene, günlük yaşam aktivitelerindeki (GYA) bozulmalar ve nöropsikolojik testler de dikkate alındı. İlaveten, görüntüleme yöntemleri (özellikle PET ve MRG) amyloid ve tau proteinlerinin varlığını değerlendirmek için kullanıldı.

Parkinson tanısı, uluslararası kabul görmüş kriterlere göre konuldu. Hastaların klinik öyküleri, motor semptomlar (titreme, bradikinezi, sertlik ve postüral instabilite) ve nörolojik muayene ile birlikte ele alındı. Ek olarak, hastaların yanıt verdiği dopamin agonistleri ile yapılan tedavi denemeleri de tanı sürecinin bir parçası olarak değerlendirildi. MRG ve diğer görüntüleme yöntemleri, hastalığın seyrini ve potansiyel farklı tanıları dışlamak için kullanıldı. Araştırmanın sağlıklı kontrol grubu ise, nörolojik hastalığı bulunmayan bireylerden oluşmaktadır. Bu grup, demografik özellikler (yaş, cinsiyet, eğitim durumu) açısından hasta gruplarıyla eşleştirildi. Sağlıklı bireylerin nörolojik muayenesi yapılarak, akli

veya fiziksel herhangi bir rahatsızlıkları olup olmadığını doğrulayan standart testler uygulandı.

Çalışmamızda, Tablo 4.8’de kontrol grubu bireylerin 11’i kadın 9’u erkek, AH’larının 12’si kadın 8’i erkek, PH’nın 13’ü erkek 7’si kadın ve MS hastalarının 15’i kadın 5’i erkek bireyden oluşturuldu. Yaş ortalamalarına bakıldığında ise; kontrol grubunun yaş aralığı 22–49, AH’nın yaş aralığı 44–89, PH’nın yaş aralığı 57–85, MS hastalarının yaş aralığı 20–60 arasında değişmekteydi (Tablo 4.7). Hasta ve kontrol grubunun klinik verileri incelendiğinde ise; kontrol grubunda WBC sayısı 6.65 ± 1.35 hücre/L olarak bulunmuştur. Hem AH hem de PH gruplarında, kontrol grubuna kıyasla anlamlı derecede yüksek WBC sayıları gözlemlendi (sırasıyla 8.86 ± 4.27 ve 8.20 ± 2.98 hücre/L). Bu artış, bu hastalıklarla ilişkili olası bir inflamatuvar yanıtı işaret edebilir. MS grubunda en yüksek WBC sayısı (9.13 ± 2.80 hücre/L) kaydedildi ve bu durum, bağışıklık aktivitesinin daha da arttığını göstermektedir. Kontrol grubunda ortalama lenfosit sayısı 2.06 ± 0.57 hücre/ μ L olarak gözlemlendi. AD grubunda, bağışıklık yanıtında olası bir değişikliği işaret edebilecek şekilde lenfosit sayısı oldukça yüksek çıktı (3.92 ± 2.90 hücre/ μ L). Ancak PD ve MS gruplarında lenfosit değerleri daha düşüktür (sırasıyla 2.84 ve 2.44 hücre/ μ L). RBC, HGB ve HCT: Kontrol grubuna kıyasla (RBC:4,88 milyon hücre/ μ L, HGB: 14.07 g/dL, HCT: %40.09), AD grubunda anlamlı derecede düşük RBC (4,29 milyon hücre/ μ L, $p < 0.01$) ve HGB (13.09 g/dL, $p < 0.05$) değerleri saptandı. Bu düşüşler, olası bir anemi veya kemik iliği ile ilgili bir duruma işaret edebilir. PD grubunda da benzer şekilde düşük hematolojik parametreler, özellikle RBC (3,84 milyon hücre/ μ L) değeri gözlemlendi ve bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p < 0.01$). Karaciğer Fonksiyon Testleri olarak kullanılan ALT ve AST değerlerine gelindiğinde ise; AD grubunda ALT ve AST düzeyleri, kontrol grubuna kıyasla anlamlı derecede düşüktür ($p < 0.001$ ve $p < 0.05$). PD grubunda da benzer düşüşler görüldü ($p < 0.001$ ve $p < 0.01$), bu durum nörodejeneratif hastalıklarla ilişkili olabilecek karaciğer fonksiyon değişikliklerini gösterebilir. Kontrol grubunda ortalama BUN düzeyi 27,90 mg/dL iken, AD ve PD gruplarında daha düşük düzeyler gözlemlendi (sırasıyla 22,94 mg/dL ve 9,84 mg/dL). Özellikle PD grubunda anlamlı derecede düşük kreatinin seviyesi (0.84 mg/dL, $p < 0.001$), hastalık patolojisi ile ilişkili olabilecek böbrek fonksiyon değişikliklerini düşündürmektedir.

Elektrolitler (Ca ve K): Kontrol grubunda kalsiyum düzeyi 1.71 ± 0.44 mmol/L iken, AD grubunda bu değer keskin bir şekilde arttı (9.05 ± 1.06 mmol/L, $p < 0.05$). PD grubunda potasyum düzeyleri belirgin şekilde yüksek çıktı (12.84 ± 0.34 mEq/L, $p < 0.01$), bu durum nöronal stres yanıtı olarak ortaya çıkabilecek olası metabolik değişiklikleri veya dengesizlikleri gösterebilir. İnflamasyon göstergesi olan CRP ise, tüm hastalık gruplarında anlamlı derecede yüksek bulundu (AD'de 15.08, PD'de 13.84, MS'de 9.67) ve kontrol grubunda 3,71 mg/L'dir. Yüksek CRP değerleri, nörodejeneratif hastalıklarla ilişkili sistemik inflamasyona işaret etmektedir (Tablo 4.8).

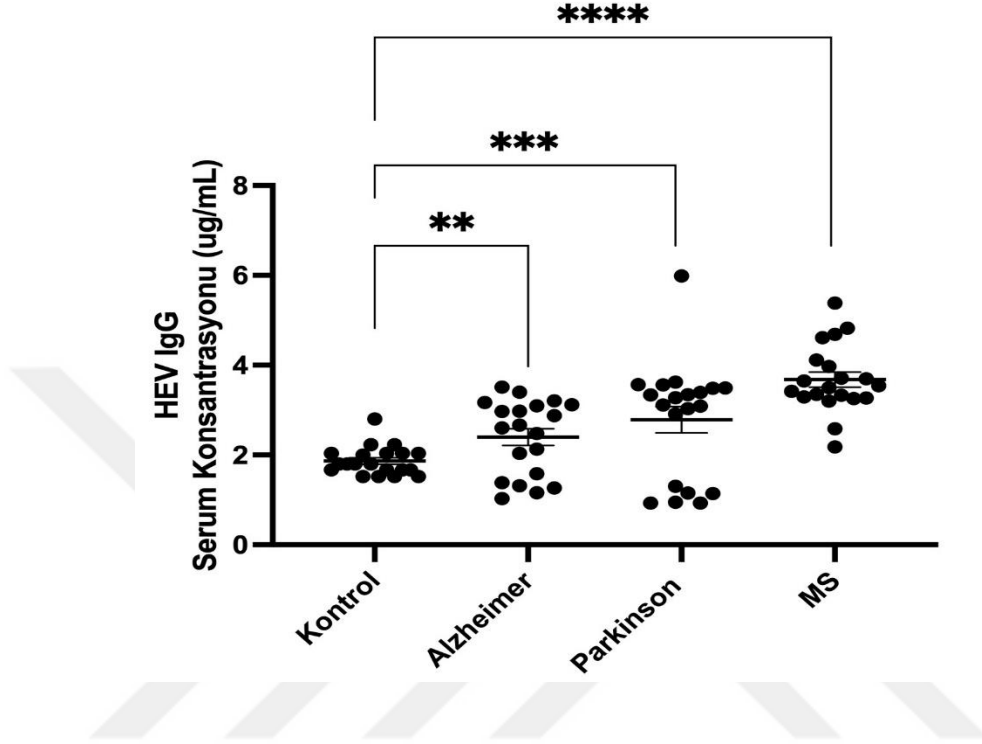
Tablo 4.8. Hasta ve kontrol grubu bireylerin klinik ve demografik bulguları

	Kontrol	Alzheimer	Parkinson	MS
CİNSİYET, Erkek/Kadın %	45/55%	40/60%	55/45%	25/75%
YAŞ, medyan (yıl) (aralık)	34.45 (22–49)	75.47 (44–89)	72.50 (57–85)	39.52 (20–60)
WBC, Hücreler/L	6.65 ± 1.35	8.86 ± 4.27*	8.20 ± 2.98*	9.13 ± 2.80
LENFOSİT, Hücreler/ML	2.06 ± 0.57	3.92 ± 2.90*	2.84 ± 2.09	2.44 ± 1.75
RBC, Milyon Hücre/μL	4.88 ± 0.79	4.29 ± 0.66**	3.84 ± 0.40	4.55 ± 0.47
HGB, g/dL	14.07 ± 1.52	13.09 ± 1.51*	4.84 ± 1.37	13.42 ± 1.22
HCT, %	40.09 ± 3.71	40.53 ± 4.32	5.84 ± 2.76	39.27 ± 3.32
PLT, Hücreler/μL	272.55 ± 82.25	276.79 ± 87.79	6.84 ± 58.76	233.8 ± 61.06
ALT, U/L	26.05 ± 9.29	12.03 ± 5.69***	7.84 ± 6.43***	16.54 ± 7.17**
AST, U/L	31.30 ± 10.90	19.99 ± 13.07*	8.84 ± 10.06*	16.76 ± 6.37***
BUN, mg/dL	27.90 ± 7.16	22.94 ± 8.80	9.84 ± 6.49*	11.92 ± 3.87***
CREATİN, mg/dL	0.71 ± 0.18	0.95 ± 0.32*	10.84 ± 0.45*	0.77 ± 0.18
Ca, mmol/L	1.71 ± 0.44	9.05 ± 1.06*	11.84 ± 0.60	9.59 ± 0.96
K, mEq/L	2.71 ± 0.30	4.62 ± 0.87	12.84 ± 0.34	4.27 ± 0.51
CRP, mg/L	3.71 ± 0.15	15.08 ± 9.26***	13.84 ± 8.98***	9.67 ± 9.60***

Veriler ortalama (standart sapma) olarak ifade edilir. Kategorik değişkenler N (%) olarak sunulmuştur. Normal dağılım gösteren değişkenler Student t-testi kullanılarak, çarpık dağılım gösteren değişkenler ise Mann-Whitney U testi kullanılarak karşılaştırıldı (*p ≤ 0.05; **p ≤ 0.01, ***p ≤ 0.001). Beyaz Kan Hücresi (WBC), Kırmızı Kan Hücresi (RBC), Hemogloblin (HGB), Hematokrit (HCT), Trombosit (PLT), Alanin Aminotransferaz (ALT), Aspartat Aminotransferaz (AST), Kan Üre Azotu (BUN), Kalsiyum (Ca), Potasyum (K), C-Reaktif Protein (CRP), Multipl Skleroz (MS).

4.3.2. Hasta ve kontrol grupları arasında hev-igg seropozitifliğinin belirlenmesi

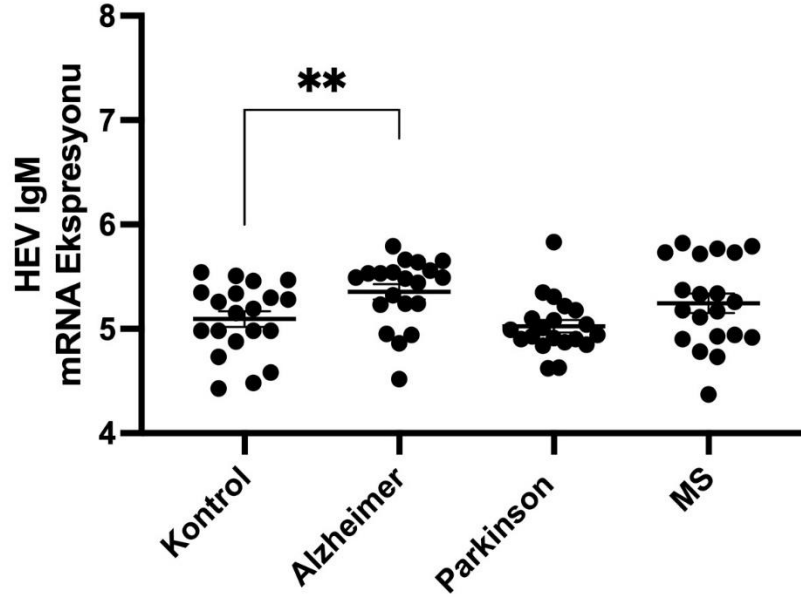
Nöroloji polikliniğe gelen belirli bir nörolojik hastalığa sahip olmayan hem de MS, AH ve PH tanısı alan hastaların serum örnekleri, üreticinin talimatlarına göre ELISA kullanılarak anti-HEV IgM ve IgG antikorları açısından test edildi. ELISA sonuçları, örnek optik yoğunluğunun (OD) kesme OD'sine bölünmesiyle elde edilen oranlar olarak sunulmaktadır. Bizde bu çalışmada HEV-IgG antikoruna için cut off değerini hesapladık. Sağlanan kontrol absorbans örnekleri için 1,5 çarpanı kullanılarak hesaplanan kesme değeri yaklaşık olarak 2,2 olarak hesaplandı. Sonuç olarak IgG antikorları için OD oranları > 2,2 pozitif sonucu gösterirken, <2,2 oranlar negatif olarak sınıflandırıldı. Çalışmaya alınan MS hastalarının HEV-IgG pozitifliği %100 (n=20), PH'nın HEV-IgG pozitifliği %60 (n=12), AH'nın HEV-IgG pozitifliği %60 (n=12) ve kontrol grubu bireylerin HEV-IgG pozitifliği %10 (n=2) çıkmıştır. Aynı zamanda hasta ve kontrol grubu kendi içinde HEV-RNA seviyesi üzerinden araştırılmış ve AH ve PH'a sahip bireylerin HEV-IgG seviyesinde kontrole nazaran düşük seviyelerde gözlemlendi. ELISA test analizlerinin sonuçlarına göre hem nöroloji polikliniğe gelen belirli bir nörolojik hastalığa sahip olmayan hem de MS, AH ve PH tanısı alan hastaların sonuçları bir arada değerlendirilmiş ve serum IgG düzeyleri akut inflamatuvar bir belirteç olarak değerlendirilmeye alındı. Şekil 4.7'de gösterildiği gibi kontrol grubu bireylerin AH, PH tanısı alan bireylere nazaran serum IgG düzeyleri anlamlı düzeyde azaldı (Şekil 4.7).



Şekil 4.7. Hasta ve kontrol grupları arasında serum IgG seviyesinin belirlenmesi. Hata çubukları, ortalamanın standart hatasını ($\pm$ SEM) göstermektedir. İstatistiksel anlamlılık Student's t-test ile değerlendirilmiş olup, anlamlılık düzeyleri şu şekilde gösterildi: * $p \leq 0.05$, ** $p \leq 0.01$ ve *** $p \leq 0.001$.

4.3.3. Hasta ve kontrol grupları arasında serum Igm seviyesinin belirlenmesi

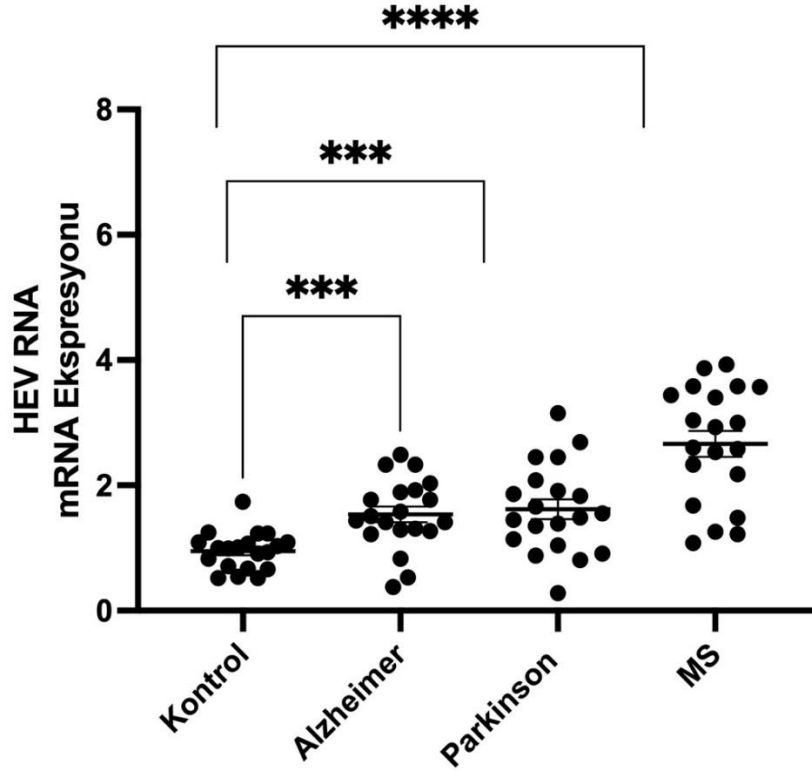
ELISA analizinin sonuçlarına göre hem nöroloji polikliniğe gelen belirli bir nörolojik hastalığa sahip olmayan hem de MS, AH ve PH tanısı alan hastaların sonuçları bir arada değerlendirildi ve serum IgM düzeyleri akut inflamatuvar bir belirteç olarak değerlendirilmeye alındı. Konsantrasyona göre cut-off değeri 5,51 olarak hesaplandı. Bu değere göre 5 MS hastası, 1 parkinson hastası, 8 alzhemir hastası ve 2 sağlıklı bireyin cut off değeri $\geq 5,51$ olduğu tespit edildi. Daha sonra hasta ve kontrol grubu bireyler kendi aralarında kıyaslandı. Şekil 4.8'de gösterildiği gibi AH tanısı alan bireylerde diğer gruplara nazaran serum IgM seviyesinin daha yüksek olduğu gözlemlendi.



Şekil 4.8. Hasta ve Kontrol Grupları arasında serum IgM seviyesinin belirlenmesi. Hata çubukları, ortalamanın standart hatasını ($\pm$ SEM) göstermektedir. İstatistiksel anlamlılık Student's t-test ile değerlendirilmiş olup, anlamlılık düzeyleri şu şekilde gösterildi: * $p \leq 0.05$, ** $p \leq 0.01$ ve *** $p \leq 0.001$.

4.3.4. Hasta ve kontrol grupları arasında hev-rna miktarının belirlenmesi

Orf3, HEV'nin genetik yapısında bulunan önemli bir bölgedir. Bu bölge, virüsün replikasyonu ve bağışıklık yanıtı üzerinde etkili olan proteinler kodlar. Orf3 bölgesi, virüsün tanımlanmasında ve moleküler analizin yapılmasında kullanılır. Özellikle qPCR ile bu bölgedeki genetik materyal tespit edilerek HEV enfeksiyonu doğrulanabilir. Bizde bu amaç doğrultusunda hasta ve kontrol grupları HEV pozitifliğinin doğrulanması için qPCR işlemine tabi tutuldu. Kontrol grubu baz alınarak HEV pozitifliği açısından cut-off değeri $\geq 1,20$ olarak belirlendi. Sonuçlara göre kontrol grubu HEV pozitifliği %10 (n=2), %85 AH (n=17), %65 PH (n=13), %90 MS (n=18) olarak tespit edildi. Daha sonra hasta ve kontrol grubu bireyler kendi aralarında kıyaslandı. Şekil 4.9'da gösterildiği gibi AH tanısı alan bireylerde diğer gruplara nazaran serum IgM seviyesinin daha yüksek olduğu gözlemlendi.



Şekil 4.9. Hasta ve kontrol grubu HEV-RNA ekspresyon seviyeleri. Hata çubukları, ortalamanın standart hatasını ($\pm$ SEM) göstermektedir. İstatistiksel anlamlılık Student's t-test ile değerlendirilmiş olup, anlamlılık düzeyleri şu şekilde gösterildi: * $p \leq 0.05$, ** $p \leq 0.01$ ve *** $p \leq 0.001$.

4.3.5. Hasta ve kontrol grubu doğal immün yanıtında görevli genlerin ekspresyon seviyesinin qrt-pcr ile belirlenmesi

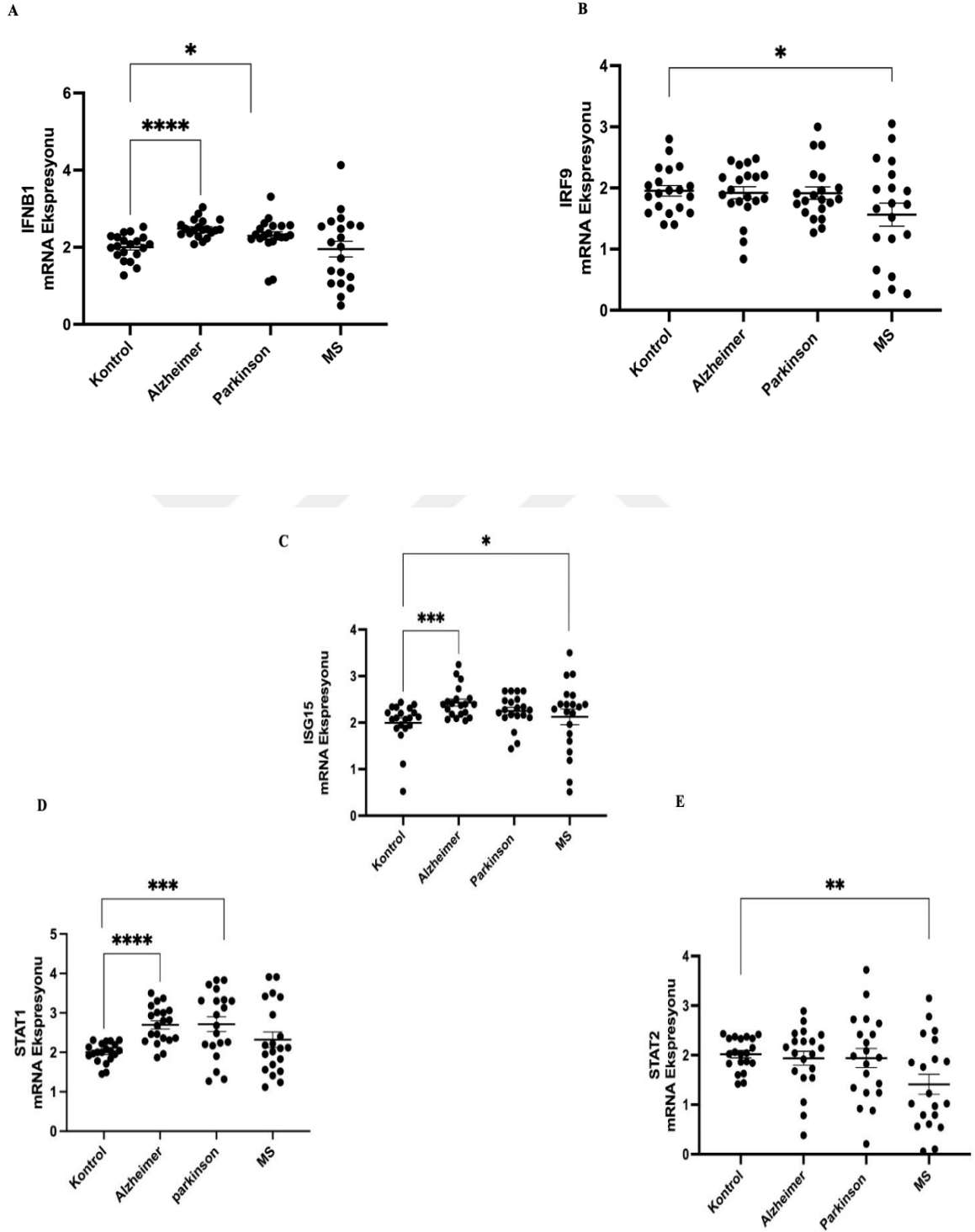
Hepatit E'ye karşı IgG antikorları, önceden geçirilmiş bir enfeksiyonu ve olası gelecekteki enfeksiyonlara karşı bağışıklığı işaret eder. HEV enfeksiyonuyla ilişkili dolaylı mekanizmalar enfeksiyondan sonra veya enfeksiyon sırasında çapraz reaktif bağışıklık tepkileri, bağışıklık komplekslerinin oluşumu veya ikincil enfeksiyonla oluşur. Burada aktif bağışıklıkta görevli olan ve viral enfeksiyonlar sırasında etkili bir savunma mekanizması olarak işlev gören IFNB1, ISG15, IRF9, STAT1 ve STAT2'in hasta ve kontrol gruplarındaki mRNA ekspresyon seviyelerini karşılaştırdık. Sonuç olarak her bir gene ait farklı ekspresyon seviyeleri gözlemledik. Şekil 4.10'da dört farklı grupta (Kontrol, MS, AH ve PH) çeşitli

interferonla ilişkili genlerin (IFNB1, IRF9, ISG15, STAT1 ve STAT2) gen ekspresyon düzeylerini göstermektedir. Ekspresyon düzeyleri GAPDH'a göre normalize edilmiş ve A'dan E'ye kadar olan panellerdeki her gen için kutu grafiklerinde sunuldu.

IFNB1 geninin ifadesi, AH'da kontrol grubuna göre anlamlı bir şekilde artış göstermekte olup (****, $p < 0.0001$), PH'ında ise orta derecede artış gözlemlenmiştir (*, $p < 0.05$). MS hastalarında ise kontrol grubu ile arasında anlamlı bir fark bulunmamaktadır (ns, $p > 0.05$), (Şekil 4.10A).

IRF9 genine ilişkin veriler ise, MS hastalarında kontrol grubuna göre hafif bir artış göstermektedir (*, $p < 0.05$); ancak AH ve PH'ında kontrol grubu ile anlamlı bir fark yoktur (ns, $p > 0.05$), (Şekil 4.9B). *ISG15* geninin ifadesi, AH'da kontrol grubuna göre anlamlı bir artış sergilemekte olup (** $p < 0.01$), PH ve MS hastalıkları açısından kontrol grubuyla anlamlı bir fark bulunmamaktadır (ns, $p > 0.05$), (Şekil 4.10C).

STAT1 geninde AH'da kontrol grubuna göre güçlü bir artış gözlemlenirken (****, $p < 0.0001$), Parkinson hastalığında orta derecede bir artış kaydedildi (** $p < 0.01$). MS hastalarında ise bu gen açısından kontrol grubuyla anlamlı bir farklılık yoktur (ns, $p > 0.05$), (Şekil 4.10D). Son olarak, STAT2 geninin ifadesi, MS hastalarında kontrol grubuna göre anlamlı bir artış göstermektedir (** $p < 0.01$); AH ve PH açısından ise kontrol grubuyla anlamlı bir fark bulunmamaktadır (ns, $p > 0.05$), (Şekil 4.10E).



Şekil 4.10. Hasta ve kontrol grubu doğal immün yanıtında görevli ıfbn-1, ırf9, ısg15, stat1 ve stat2 genlerin ekspresyon seviyeleri. Hata çubukları, ortalamanın standart sapmasını ($\pm$ SEM) göstermektedir. İstatistiksel anlamlılık Student's t-test ile değerlendirilmiş olup, anlamlılık düzeyleri şu şekilde gösterildi: * $p \leq 0.05$, ** $p \leq 0.01$ ve *** $p \leq 0.001$.

4.3.6. Hasta ve kontrol grubunda klinik parametreler ve doğal immün yanıtında görevli genlerin ilişkilendirilmesi

Çalışmamızda ayrıca, HEV ile ilişkili çeşitli biyokimyasal parametreler (HEV-IgG, HEV-IgM, HEV-RNA) ile bağışıklık yanıtı ile ilgili genler (IFNB1, ISG15, STAT1) arasındaki korelasyonları araştırdık. Anlamlı bir ilişki gözlemlenen tüm parametreler Tablo 4.14’de gösterilmiştir. Bu tabloya göre, HEV-IgM, birkaç biyokimyasal parametre ile güçlü ve anlamlı pozitif korelasyonlar göstermektedir. HEV-IgM düzeyleri ile RBC ($r = 0.742$) sayısı arasında güçlü bir ilişki olduğunu göstermektedir. Bu, yüksek HEV-IgM’ in kırmızı kan hücresi sayısının artması ile ilişkilendirilebileceğini düşündürmektedir. HEV-IgM’ in, HGB ($r = 0.812$) ve HCT ($r = 0.846$) ile korelasyon çok daha güçlüdür.

Bu durum, HEV-IgM’ in genel kan oksijen taşıma kapasitesi ve kan hacmi ile önemli bir ilişkisi olduğunu göstermektedir. Kalsiyum ($r = 0.871$) ve Potasyum ($r = 0.800$) gibi elektrolit düzeylerinin HEV-IgM ile yüksek pozitif korelasyonları, HEV-IgM düzeylerinin elektrolit dengesizlikleri ile bağlantılı olabileceğini düşündürmektedir. Bu sonuçlar, yüksek HEV-IgM’in hematolojik parametrelerin iyileşmesi ile ilişkili olabileceğini göstermektedir.

HEV-IgG ile HEV-RNA arasında ($r = 0.552$) orta düzeyde pozitif bir korelasyon bulunmaktadır ve bu istatistiksel olarak anlamlıdır ($p \leq 0.001$). Bu ilişki, yüksek HEV- IgG seviyelerinin viral replikasyonun (HEV-RNA ile ölçülen) artışı ile ilişkili olabileceğini göstermektedir.

IFNB1 ve ISG15: HEV-IgM ile ilgili bu bağışıklık genleriyle (IFNB1 için $r = 0.556$ ve ISG15 için $r = 0.615$) olan korelasyonlar, HEV enfeksiyonu sırasında bağışıklık yanıtının arttığını ve bunun sonuçlarının HEV-IgM düzeyleri ile ilişkili olduğunu göstermektedir. Bunlara ek olarak, ISG15, HGB, HCT, Ca ve K ile anlamlı korelasyonlar göstermektedir; bu durum hematolojik durumların bağışıklık yanıtı ile ilişkili olduğunu öne sürmektedir. ISG15’in bu parametrelerle olan korelasyonları, (r yaklaşık 0.509 ile 0.598 arasında) viral enfeksiyon göstergeleriyle bağışıklık gen ifadeleri arasında tutarlı bir ilişki olduğunu anlatmaktadır.

Ayrıca, bağışıklık genleri arasında dikkate değer korelasyonlar bulunmaktadır. IFNB1 ve ISG15 ($r = 0.532$) ile, bu genlerin bağışıklık yanıtında etkileşim içinde olabileceğine işaret etmektedir. ISG15 ve STAT1 ($r = 0.513$) ile, bu genlerin antiviral yanıtlarla ilgili bir yol veya işlevi paylaşabileceğini göstermektedir (Tablo 4.9).



Tablo 4.9. Hasta ve kontrol grubunda klinik parametreler ve doğal immün yanıtında görevli genlerin ilişkilendirilmesi.

Gen	Değişken	r	p-Value
<i>HEV-IgG</i>	<i>HEV-RNA</i>	0.552	$p \leq 0.002$
<i>HEV-IgM</i>	RBC	0.742	$p \leq 0.0015$
<i>HEV-IgM</i>	HGB	0.811	$p \leq 0.0002$
<i>HEV-IgM</i>	HCT	0.846	$p \leq 0.0001$
<i>HEV-IgM</i>	Ca	0.870	$p \leq 0.0001$
<i>HEV-IgM</i>	K	0.800	$p \leq 0.0001$
<i>HEV-IgM</i>	<i>IFNB1</i>	0.555	$p \leq 0.002$
<i>HEV-IgM</i>	<i>ISG15</i>	0.614	$p \leq 0.0039$
<i>HEV-RNA</i>	<i>HEV-IgG</i>	0.552	$p \leq 0.002$
<i>IFNB1</i>	<i>HEV-IgM</i>	0.555	$p \leq 0.001$
<i>IFNB1</i>	<i>ISG15</i>	0.532	$p \leq 0.011$
<i>ISG15</i>	HGB	0.509	$p \leq 0.021$
<i>ISG15</i>	HCT	0.534	$p \leq 0.015$
<i>ISG15</i>	Ca	0.540	$p \leq 0.013$
<i>ISG15</i>	K	0.598	$p \leq 0.006$
<i>ISG15</i>	<i>HEV-IgM</i>	0.614	$p \leq 0.0039$

5. TARTIŞMA

2019 yılının sonunda, Çin'in Hubei Eyaleti'ndeki Wuhan'da, şiddetli akut solunum sendromuna neden olan SARS-CoV-2 virüsü kaynaklı COVID-19 salgını patlak vermiş ve kısa sürede dünya geneline yayılmıştır (Shmakova ve ark., 2023). SARS-CoV-2 enfeksiyonu, esas olarak konakçı hücre yüzeyinde bulunan ACE2 reseptörü ile TMPRSS2 proteazı arasındaki etkileşim yoluyla ilerlemektedir. Hastalığın şiddetine bağlı olarak enfeksiyon asemptomatik seyredebilir veya hafif ateşli bir tablodan yaşamı tehdit eden komplikasyonlara kadar değişkenlik gösterebilir (Jamil ve ark., 2020). Ayrıca, SARS-CoV-2 enfeksiyonunun, öksürük, yorgunluk, kas güçsüzlüğü, nefes darlığı, ishal, bulantı ve kusma gibi semptomlarla kendini gösterdiği ve ciddi olgularda şiddetli ARDS yol açtığı gösterilmiştir (Garg ve ark., 2020; George ve ark., 2020).

SARS-CoV-2 başlıca akciğerleri etkilemektedir ancak, böbrek ve karaciğer gibi diğer hayati organları da etkilendiği gösterilmiştir (Kolesova ve ark., 2021). COVID-19'a bağlı ortaya çıkan pulmoner fibrozis (PF), viral enfeksiyonun yol açtığı ve hastalar üzerinde ciddi klinik etkiler oluşturan önemli bir komplikasyondur (Wendisch ve ark., 2021). SARS-CoV-2 enfeksiyonu, belirli fibrozis belirteçlerinin mRNA seviyelerinde artışa neden olmakta ve hastaların yaklaşık %30'unda PF geliştirmektedir. Ayrıca, bu oran hastalığın şiddeti ve süresiyle doğru orantılı olarak da artmaktadır (Xu ve ark., 2020; Zhang ve ark., 2020; Francione ve ark., 2020). SARS-CoV-2 hastalığını atlaman bireylerin %17'sinde PF gözlemlenmesi, akciğer fonksiyonlarının uzun süreli bozulabileceğini göstermektedir (Pan ve ark., 2020). Pulmoner fibrozis ve kanser gibi inflamasyonla ilişkili hastalıkların moleküler mekanizmalarını anlamak, EMT sürecinin önemini ortaya koymuştur (Kim ve ark., 2016). Bu kritik süreç, MAPK sinyal yolu ile yakından ilişkilidir. Özellikle MAPK sinyal yolu, proliferasyon, farklılaşma, metabolizma, hayatta kalma ve apoptoz gibi temel hücresel süreçleri koordine eder (Low ve ark., 2016) ve E- kadherin ile vimentin aracılığıyla hücre hareketliliğini ve bağlantı kaybını artırdığı kanıtlanmıştır (Pang ve ark., 2016). EMT, MAPK ve inflamatuvar yollar, fibrozis ve tümör oluşumunda birlikte kritik bir rol oynamaktadır. COVID-19 hastalarında gelişen ARDS ve sitokin fırtınası, akciğerlerde fibrozis oluşumunu

tetikler (Soy ve ark., 2021). Bu bağlamda, virüs, akciğerin yanı sıra kardiyovasküler sistem, böbrekler ve bağırsak gibi diğer organları da hedefler (Wiersinga ve ark., 2019; Richardson ve ark., 2020). Endotel hücrelerindeki başlıca enfeksiyon, proinflatuar ve prokoagulan bir durumu tetikleyerek End-MT yoluyla miyofibroblast fenotipinin uyarılmasına ve fibrotik dokunun oluşumuna katkıda bulunduğu öne sürülmüştür (Van Meeteren ve ark., 2012; Amraei ve ark., 2020).

COVID-19'un patofizyolojisi tam olarak aydınlatılamamış olmakla birlikte, trombosit bağımlı endotel inflamasyonu, artmış pıhtılaşma faktörleri, edinilmiş antifosfolipid antikorları ve azalmış endojen antikoagulan seviyeleri ile ilişkilidir (Bradley ve ark., 2020; Varga ve ark., 2020). Bu mekanizmalar; bağışıklık hücrelerinin alımına, trombosit aktivasyonu ve agregasyonuna ve pıhtılaşma kaskad yollarının aktifleşmesine yol açarak endotel hasarına ve tromboz oluşumuna neden olur (Liu ve ark., 2022). Bu süreçler sonucunda, CRP, WBC ve prokalsitonin (PROC) gibi hiperinflamasyon belirteçlerinin şiddetli COVID-19 hastalarında kontrol grubuna göre belirgin şekilde arttığı gözlenmiştir. Ayrıca, troponin I, D-dimer ve LDH düzeyleri de COVID-19'un klinik seyrinde kısa vadeli risk sınıflandırmasında değerli biyobelirteçler olarak öne çıkmaktadır (Fantin ve ark., 2006; Li ve ark., 2022).

Çalışmamızda, şiddetli COVID-19 hastalarının, enfeksiyondan 6–12 ay sonra bile CRP, D-dimer, fibrinojen, LDH ve troponin I düzeylerinin sağlıklı bireylere kıyasla yüksek kaldığı belirlenmiştir. Özellikle fibrinojen ve LDH seviyelerinin hem akut hem de iyileşme sonrası dönemde yüksek kalmaya devam ettiği görülmüştür. Bu bulgular, mitokondride hipoksi kaynaklı elektron taşıma zinciri bozulmasına bağlı laktat birikiminin, miyofibroblast farklılaşması ve pulmoner fibrozis ile ilişkili olabileceğini düşündürmektedir. Son dönem çalışmalarda, laktatın EndMT'yi tetikleyerek kardiyak fibrozise katkı sağlayabileceği ortaya konmuştur (Biegus ve ark., 2019; Rajes ve ark., 2023). Hastalık sonrası dönemde laktat ve troponin I düzeylerinin yüksek kalması, devam eden EndMT süreçlerinin bir göstergesi olabilir (Brooks ve ark., 2018). Şiddetli COVID-19 hastalarında lenfosit seviyelerinde anlamlı bir azalma gözlenmiş, trombosit seviyeleri ise hastalığın hem akut evresinde hem de

iyileşme sonrasında düşük kalmıştır. Bu trombositopeninin altında yatan nedenlerin; trombosit aktivasyonu, endotel hasarı ve viral enfeksiyonun neden olduğu kemik iliği baskılanması gibi çok sayıda faktörü içerebileceği düşünülmektedir (Lippi ve ark., 2020).

Önceki araştırmalar, serum vimentin düzeylerinin inflamasyon yanıtı olarak arttığını ve sistemik inflamatuvar yanıt sendromunda yüksek seviyelere ulaştığını göstermiştir (Su ve ark., 2019). Vimentin, tip III ara filament proteinlerinden biri olup endotel hücreleri, fibroblastlar ve monositler gibi mezenkimal hücrelerde yaygın şekilde ifade edilmektedir. Hücre iskeletinin bir bileşeni olmanın yanı sıra vimentin; endotel hücreleri, vasküler düz kas hücreleri ve makrofajların hücre dışı yüzeylerinde de bulunabilmektedir (Lowery ve ark., 2015). Ayrıca, lenfositler ve nötrofiller gibi farklı bağışıklık hücrelerinde de ifade edilir (Mor-Vaknin ve ark., 2003). Vimentin, birçok inflamatuvar hastalıkta görev alır (Liu ve ark., 2013). Çalışmamızda, şiddetli COVID-19 hastalarında ve hastalıktan 6–12 ay sonra alınan örneklerde, kontrol grubuna göre vimentin düzeylerinde ve gen ekspresyonunda anlamlı bir artış saptanmıştır. Bu bulgular, artmış vimentin seviyesinin COVID-19'un belirgin bir özelliği olabileceğini düşündürmektedir.

Vimentin seviyeleri ile gen ekspresyonu arasında anlamlı bir korelasyon bulunmuş ve ROC analizi, serum vimentin düzeylerinin şiddetli COVID-19'un tanısında ek bir biyobelirteç olarak kullanılabileceğini göstermiştir. Vimentin, inflamatuvar süreçlerde görev alan bağışıklık hücrelerinde ve endotel hücrelerinde ifade edilir (Mor-Vaknin ve ark., 2003). Bu bağlamda, hiperkoagülasyon ve hiperinflamasyon sırasında salınarak endotel disfonksiyonu ve EndMT süreçlerine katkı sağlayabilir. SARS-CoV-2 enfeksiyonuna bağlı gelişen endotel disfonksiyonu, vazokonstriksiyon ve iskemiye neden olarak anaerobik solunumu artırır ve bu da LDH aracılığıyla laktat üretimini uyarır (Kedzioro ve ark., 2020; Nappi ve ark., 2022). Korelasyon analizimizde, serum vimentin düzeylerinin LDH, CRP ve lenfosit sayısı ile anlamlı ilişki gösterdiği ortaya konmuştur.

Lenfopeni, şiddetli COVID-19'un ayırt edici özelliklerinden biri olup; laktik asidoz, sitokin fırtınası, lenfoid organ atrofisi ve bozulmuş lenfosit proliferasyonuna bağlanmaktadır (Fathi

ve ark., 2020). Lenfosit düzeyleri ile vimentin düzeyleri arasındaki negatif korelasyon, artmış vimentin seviyelerinin fibrotik yanıtın bir göstergesi olabileceğini düşündürmektedir. LDH, CRP ve serum vimentin arasındaki bu ilişkiler, COVID-19'un prognozunu ve sonuçlarını daha iyi anlamak için ileri çalışmalarda daha detaylı olarak değerlendirilmelidir.

Hücreler arası yapışkan bağlantılarda görev alan N-kadherin, doku bütünlüğü, morfogenez ve hücre tanıma süreçlerinde temel bir rol oynamaktadır (Mège ve ark., 2017). Kas dokusunda sitoskeletonu stabilize ederek doku polaritesini ve yapısal bütünlüğü korur (Maîtreve ark., 2013). Çalışmamızda, şiddetli COVID-19 hastalarında ve enfeksiyonun 6–12 ay sonrasında dahi N-kadherin seviyelerinin sağlıklı bireylere göre belirgin şekilde azaldığı gözlenmiştir. Düşük N-kadherin düzeyleri, hücre-hücre adezyonunun bozulmasına ve buna bağlı olarak doku bütünlüğü ile işlevinde kayba neden olabilir. Bu durum, COVID-19 sonrası doku kırılabilirliğinin ve iyileşme sürecinin neden uzayabileceğini açıklayabilir.

Endotel, vücuttaki tüm damarların (kılcal damarlar, arterler, venler ve lenf damarları dahil) iç yüzeyini döşeyen ince, zar benzeri bir yapıdır ve temel işlevi damar duvarı geçirgenliğini düzenlemek ve korumaktır (Davis, 2000). Endotel-mezenkimal geçiş, embriyonik gelişim süreçlerinde ve malign, vasküler, inflamatuvar ve fibrotik hastalıklar da dahil olmak üzere birçok genetik ve edinsel insan hastalığının patogenezinde rol oynamaktadır (Kim ve Choi, 2010; Yue ve ark., 2020).

Enflamasyona bağlı organ fibrozisi üzerine yapılan çalışmalar, patolojik EndMT'ye yol açan yolların ve bu süreçte görev alan proteinlerin aynı olduğunu göstermiştir. Fibrozis bağlamında, bu proteinler etkilenen dokularda mezenkimal hücre birikimine katkı sağlamakta, bu da hücre dışı matriksin (ECM) birikimine ve doku skar oluşumuna yol açmaktadır (Peinado ve ark., 2004; Varga ve ark., 2020). Ayrıca, TGF- β 2, Smad, MEK, PI3K ve p38 MAPK sinyal yollarının yukarı yönde düzenlenmesinin EMT uyardığı gösterilmiştir. Hücre adezyonunu baskılayan Snail adlı transkripsiyon faktörünün artan üretiminin ise bu yolların tümünü gerektirdiği belirtilmiştir (Weckbach ve ark., 2022).

Genel kabul gören görüşe göre, Snail ailesi proteinleri hem EndMT hem de EMT süreçlerinin düzenlenmesinde önemli bir rol oynamaktadır (Kokudo ve ark., 2008; Medici ve ark., 2008; Wang ve ark., 2013). Snail, Slug ve Zeb1, Snail ailesine ait çinko parmak (zinc finger) yapısında transkripsiyon faktörleridir. Bu faktörler, embriyonik gelişim ve tümör metastazı sırasında hücre hareketliliğini düzenler (Kudo-Saito ve ark., 2009; Zheng ve ark., 2015). Genellikle Snail ve Slug'ın hücre trans-diferansiyasyonu tetiklediği düşünülse de bu süreci başlatan asıl ve hayati unsurun Snail olduğu belirtilmektedir (Lamouille ve ark., 2014).

Bu nedenle Snail ekspresyonunu yöneten süreçleri anlamak için derinlemesine çalışmalara ihtiyaç duyulmuştur. Son araştırmalara göre, MAPK yolunun, EMT'de Snail ailesi proteinlerinin ekspresyonunu kontrol ettiği gösterilmiştir (Seifert ve Posern, 2017). Önceki çalışmalar (Katsura, 2016) MAPK'ların bu düzenlemede görev alabileceğini ileri sürmüştür. Ancak, SARS-CoV-2 enfeksiyonunda, EndMT üzerinden MAP2K4 aracılığıyla Snail ekspresyonunun moleküler düzeyde nasıl düzenlendiği bugüne kadar detaylı olarak çalışılmamıştır.

Bu çalışmada, COVID-19'da MAP2K4 geninin EndMT ile ilişkisini değerlendirmeyi amaçladık. Bu kapsamda, Snail, Slug, Zeb1 ve E-kadherin ekspresyonlarını ve bu ekspresyonların SARS-CoV-2 pozitifliğini ve bazı klinik özellikleri öngörme kapasitelerini değerlendirmek üzere korelasyon analizi gerçekleştirdik. Sonuçlara göre, MAP2K4 ve Snail ekspresyon düzeyleri, özellikle COVID-19 pozitif bireylerde, negatif bireylere göre daha yüksek bulundu. Buna karşılık, E-kadherin düzeylerinin COVID-19 hasta grubunda kontrol grubuna kıyasla daha düşük olduğu gözlemlendi. Bu durum, SARS-CoV-2 enfeksiyonunun EndMT'yi aracılık ettiğini düşündürmektedir. Ayrıca, Snail ekspresyonunun MAP2K4 yolu aracılığıyla aktive edildiği öngörülmektedir. Ancak Slug ve Zeb1 ekspresyonları açısından farklı bir durum gözlemlenmiştir. COVID-19 hastalarında bu genlerin ekspresyonunda kontrol grubuna kıyasla artış olmasına rağmen, bu artış istatistiksel olarak anlamlı değildir. Yine de Zeb1 gen ekspresyonunun, hastalıktan 6–12 ay sonra elde edilen iyileşme sonrası döneme kıyasla COVID-19 hasta grubunda daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Ayrıca, E-kadherin ile PLT (trombosit), CKMB ve lenfosit düzeyleri arasında negatif korelasyon saptanmıştır. Bu

bulgular, hücre içi sinyal iletim yollarının bu patolojinin şiddetini etkileyebileceğine işaret etmektedir. Örneğin, yüksek CKMB düzeyleri, COVID-19 ile ilişkili olabilen miyokardit gibi kalp kası hasarının bir göstergesidir (Li ve ark., 2020; Yang ve ark., 2021; Bansal ve ark., 2021). Ayrıca MAP2K4 ile AST düzeyleri arasında negatif, SLUG ile BUN, ZEB1 ile CK düzeyleri arasında pozitif korelasyon saptanmıştır. COVID-19, SARS-CoV-2 virüsüne karşı vücudun bağışıklık yanıtı sonucu ortaya çıkan inflamatuvar bir durumdur. Ağır vakalarda bu bağışıklık yanıtı “sitokin fırtınası” olarak adlandırılan sistemik inflamasyonla karakterize olan kontrolsüz bir sürece dönüşebilir (Fajgenbaum, 2020; Rokni ve ark., 2020).

Cusato J. ve arkadaşlarının çalışmasına göre (Cusato ve ark., 2023), H-Ras, H-Raf, MAPK1, MAPK2 ve ERK gibi biyobelirteçler, SARS-CoV-2 pozitifliğini ve bazı COVID-19 klinik özelliklerini öngörmek amacıyla ROC analizlerinde kullanılmıştır. Ayrıca, H-Ras, H-Raf, MAPK1, MAPK2, pERK ve iERK ile COVID-19 ile ilişkili biyobelirteçler arasında korelasyon ölçümleri yapılmıştır (Rokni ve ark., 2022). Bu analizler, hücre içi sinyal yollarının hastalık şiddetindeki rolünü daha iyi anlamaya katkı sağlamaktadır. Ayrıca, bazı çalışmalar gen polimorfizmleri ile COVID-19 şiddeti ve mortalite arasındaki ilişkiyi ortaya koymuştur (Heidari ve ark., 2022; Rokni ve ark., 2022). Genetik biyobelirteçlerin, bireyin virüse maruz kalma düzeyini ve buna bağlı olarak klinik semptomlarını etkileyebileceği belirtilmektedir. Ayrıca, COVID-19 semptomları ve mortalitenin etnisite, cinsiyet, yaş, obezite, diyabet, astım gibi komorbiditeler dahil olmak üzere çeşitli faktörlere bağlı olarak değişkenlik gösterebileceği artık iyi bilinmektedir (Strangfeld ve ark., 2021; Williamson ve ark., 2020).

Bizim bulgularımız, önceki bulgularımız ve Terpos ve arkadaşlarının çalışmalarıyla (Terpos ve ark., Yılmaz ve ark., 2024), bu çalışmalar, COVID-19’un hematopoetik sistem ve koagülasyon fonksiyonu üzerinde de önemli etkileri olduğunu göstermiştir. Ayrıca, tek değişkenli ve genler arası korelasyon analizleri, erken dönemde hipoproteinemi ve böbrek fonksiyon bozuklukları saptandığını göstermiştir. COVID-19 ile ilişkili semptomlar arasında yer alan ateş, iştahsızlık ve ishal, yeterli böbrek perfüzyonunun sağlanamamasına ve buna bağlı olarak böbrek hasarına yol açabilir.

ACE2 reseptörü, SARS-CoV-2'nin hedef aldığı hücrelerin giriş kapısıdır ve akciğerlerde, böbreklerde ve kan yoluyla yayılan birçok hücrede ifade edilir. Otopsi bulguları arasında glomerüller ve tübüler ödem, tübül hücre dökülmesi, hyalin trombüsler, böbrek içindeki küçük arterlerde hasar ve idrarda SARS-CoV-2'nin varlığı, virüsün doğrudan ACE2 bağımlı olarak böbrekleri hedef alabileceğini göstermektedir (Naicker ve ark., 2020). Ayrıca, böbrek içinde lokalize immün kompleks birikimi ve sistemik inflamatuvar yanıtlar da potansiyel olarak böbrek hasarına neden olabilir. Özellikle, akciğer hasarına yanıt olarak uygulanan tedavi müdahaleleri, böbrek fonksiyonlarının homeostazını bozabilir. Akut böbrek hasarı; asit-baz dengesi, damar tonusu ve sıvı dengesi üzerinde de etkili olabilir ve dolayısıyla akciğer hasarını daha da kötüleştirebilir (Zhou ve ark., 2020). Böbrek hasarı ayrıca, akciğer iltihabını artıran sistemik inflamatuvar reaksiyonları tetikleyebilir (Faubel ve ark., 2016). Bu şekilde böbrek ve akciğer hasarı, ölüm, çoklu organ yetmezliği ve geri dönüşsüz kötüleşmelere yol açabilecek kısır bir döngü başlatabilir.

Sonuç olarak, COVID-19; vimentin ve diğer biyobelirteçlerdeki artışla da desteklendiği üzere, iskemi-reperfüzyon hasarı, ciddi solunum komplikasyonları ve çoklu organ yetmezliği gibi sonuçlara yol açabilmektedir. SARS-CoV-2 enfeksiyonuna bağlı gelişen sitokin fırtınasının ve çoklu organ yetmezliğinin altında yatan mekanizmaların daha iyi anlaşılması, hastalığın şiddetini azaltmak ve klinik sonuçları iyileştirmek adına yeni tedavi hedeflerinin belirlenmesine katkı sağlayacaktır. Bu bağlamda, COVID-19 patogenezinin daha iyi anlaşılması için inflamatuvar medyatörler, endotel disfonksiyonu ve doku bütünlüğü bozulmalarının etkileşimlerini ortaya koyan çok disiplinli ve geniş ölçekli çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır. Ayrıca, hastalık süreci boyunca hem klinik hem genetik verilerin birlikte değerlendirilmesi, bireyselleştirilmiş tedavi yaklaşımlarının geliştirilmesi açısından önem arz etmektedir.

COVID-19'un Fibrosiz gelişiminde uzun süreli ve yavaş ilerleyen seyir ile ayrıca, HEV'in çeşitli dokulardaki RNA tespiti, her iki viral enfeksiyonun uzun ve orta dönemli etkilerinin önemini ortaya koymaktadır. Bu nedenle, hem COVID-19 hem de HEV enfeksiyonlarının

patogenezini anlamak, enfeksiyon sonrası komplikasyonları öngörmek ve uygun tedavi stratejileri geliştirmek açısından kritik öneme sahiptir.

HEV, dünya çapında akut viral hepatitin yaygın bir nedenidir ancak yeni veriler HEV enfeksiyonunun bir dizi ekstrahepatik belirti ile ilişkili olduğunu göstermektedir. HEV genellikle enterik olarak bulaşır. Henüz yeterince anlaşılmamış bir mekanizma yoluyla, HEV bağırsağa nüfuz eder ve virüsün replikasyonunu başlatmak için karaciğere ulaştığı kana girer. Yeni sentezlenen virionlar, enfekte hepatositlerin hem bazolateral hem de apikal membranlarında salınır. Bazolateral membranda salınan virionlar kan dolaşımına geri döner ve sonraki enfeksiyon turlarına aracılık ederken, apikal membranda salınanlar safra yoluna girer ve en sonunda dışkıyla atılır. HEV replikasyonu sitopatik değildir ve patolojinin bağışıklık aracılı olduğuna inanılmaktadır (Feng, 2016).

HEV enfeksiyonuyla ilişkili EM' ler doğrudan veya dolaylı mekanizmalarla oluşabilir. Doğrudan mekanizmalar, yerel doku hasarının nedeni olarak etkilenen dokularda HEV replikasyonunu içerirken, dolaylı mekanizmalar enfeksiyondan sonra veya enfeksiyon sırasında çapraz reaktif bağışıklık tepkileri, bağışıklık komplekslerinin oluşumu veya ikincil enfeksiyonla oluşur. Doğrudan mekanizmalarda, HEV'in konak hücre zarında gizlenmesi (Kamar ve ark., 2014; Jha ve ark., 2021) ve insan dizilerinin HEV genomuna eklenmesi (Kamar ve ark., 2012) ile geniş bir konak hücre aralığı kolaylaştırılabilir. Zar gizleme, farklı hücre tipleri tarafından spesifik olmayan bağlanma ve alımla sonuçlanabilir. Ek olarak, zarla kaplı HEV virionu (eHEV) ile ekzosomlar arasındaki benzerlikler, HEV'in ekzosomların yaptığı gibi merkezi sinir sistemi gibi immünolojik olarak ayrıcalıklı bölgelere nüfuz edebileceği olasılığını ortaya koymaktadır (Pischke ve ark., 2017). HEV RNA ayrıca, hepatit E hastalarının beyin omurilik sıvılarında (BOS) da tespit edilmiştir (Nayak ve ark., 2013). Özetle, yayınlanan çalışmaların çoğu etkilenen dokularda ve organlarda aktif HEV replikasyonu için ikna edici kanıtlardan yoksundur ve bu da HEV replikasyonunun bu EM' lerden doğrudan sorumlu olma olasılığını azaltır.

Dolaylı mekanizmalar arasında, çapraz tepkili bağışıklık tepkileri, bağışıklık komplekslerinin oluşumu ve sekonder mikrobiyal enfeksiyonlar bulunur. HEV enfeksiyonuyla ilişkili EM'lerin çoğu nörolojik sorunlar ve böbrek hasarıyla ilişkilidir (Guinault ve ark., 2016). Nörolojik sorunlar genellikle enfeksiyondan sonra ortaya çıkar ve muhtemelen çapraz tepkili bağışıklık tepkilerinden kaynaklanırken, böbrek hasarı genellikle viral antijenler ve antikorlar arasında oluşan bağışıklık komplekslerinin birikmesini içerir. Bu senaryolarda, etkilenen dokularda viral replikasyon gerekli olmayabilir. Belirli koşullar altında, istilacı mikroplara karşı yönlendirilen bağışıklık tepkileri, otoimmüniteye yol açan konak antijenleriyle çapraz reaksiyona girer. Bu, çapraz reaksiyonlu antikorlar veya T hücreleri tarafından aracılık edilebilir (Sundaresan ve ark., 2023).

Nörolojik hastalıklar ve HEV virüsü arasındaki ilişki, son yıllarda yapılan araştırmalarla giderek daha fazla ortaya konmuştur. Hepatit E virüsü, genellikle karaciğeri etkileyen bir virüs olarak bilinse de bazı çalışmalarda, bu virüsün nörolojik komplikasyonlar geliştirme potansiyeli gösterdiği bulunmuştur. Özellikle, enfeksiyon sonrası bazı hastalarda ensefalit, periferik nöropati ve diğer nörolojik semptomlar rapor edilmiştir. Bu durum, virüsün merkezi sinir sistemi üzerinde doğrudan veya dolaylı etkileri olabileceğini düşündürmektedir. Öte yandan, HEV virüsüne bağlı enfeksiyonun, iltihaplanma ve otoimmün süreçleri tetikleyerek nörodejeneratif hastalıklara zemin hazırlayabileceği de öne sürülmektedir (Zhou ve ark., 2017). Dolayısıyla, Hepatit E virüsünün nörolojik hastalıklarla ilişkisi, bu virüsün epidemiyolojik izlenimi ve tedavi stratejileri açısından önemli bir araştırma alanı olarak karşımıza çıkmaktadır. Biz bu çalışmamızda MS, AH ve PH'nda HEV seroprevelansını ve immün yanıtındaki rolünü araştırdık. İlk olarak bu hasta gruplarının klinik ve demografik özelliklerini inceleyerek, hematolojik, inflamatuvar, böbrek ve karaciğer fonksiyon parametrelerini kontrol grubuyla karşılaştırdık. WBC sayısı, AH, PH ve MS hasta gruplarında belirgin şekilde yükselmiş olup, bu durum, nörodejeneratif ve otoimmün hastalıklarda iltihabi bir bileşenin varlığını desteklemektedir. En yüksek WBC sayısı MS grubunda gözlemlenmiş olup, bu durum, MS'nin demiyelinizasyon ve merkezi sinir sisteminde bağışıklık aktivasyonu ile karakterize olan otoimmün doğası ile uyumludur. AH ve PH gruplarındaki yüksek WBC sayısı, her iki hastalıkta da mikrogliyal aktivasyonun olası bir sonucu olarak, nöroinflamasyonun bir belirtisi

olarak artan kanıtları desteklemektedir (Akaishi ve ark., 2021). AH grubundaki lenfosit sayısındaki artış, lenfosit infiltrasyonunun amyloid plakların ve AH patolojisindeki nöroinflamasyon ile ilişkilendirilmiş olması nedeniyle bunu daha da desteklemektedir. PH ve MS hastalarındaki azalmış lenfosit sayıları, bu durumların her birinde aktif olan farklı bağışıklık yanıtı mekanizmalarını yansıtır olabilir (Jacobs ve ark.,2024). CRP seviyeleri de tüm hastalık gruplarında kontrol grubuna kıyasla önemli ölçüde yüksek bulunmuştur; bu durum, MS, AH ve PH’ da sistemik iltihabın rolünü desteklemektedir. Özellikle AH grubundaki yüksek CRP seviyeleri, periferik iltihabın nörodejenerasyonu ve bilişsel gerilemeyi artırabileceği ile ilişkilendirilebilir. Benzer şekilde, PH ve MS’de yüksek CRP seviyeleri, daha önceki çalışmalarda sistemik iltihabın PH’ de nörodegeneratif süreçlere ve MS’de otoimmün aktiviteye bağlandığı gösterildiği için hem periferik hem de merkezi iltihabı yansıtabilir (Bloom ve ark., 2020; Mehta ve ark., 2023; Mouliou ve ark., 2023). Kontrollere kıyasla hem AH hem de PH gruplarında RBC ve HGB seviyelerinde önemli bir azalma gözlemlenmiştir; PH grubunda en düşük RBC değerleri bulunmuştur. Anemi, nörodegeneratif hastalıklarla ilişkilendirilmiş olup, hipoksi ve oksidatif stresin artmasına katkıda bulunarak nöronal hasarı artırabilir. AH grubundaki bulgular, eritropoezde bozulma veya kronik hastalık anemisi ile ilişkili olabilir; bu durum, AH hastalarında kronik iltihabi yanıtlarla bağlantılıdır. PH grubundaki daha belirgin RBC azalması, PH hastalarında sıklıkla gözlemlenen mitokondriyal disfonksiyon ve oksidatif stres nedeniyle altında yatan hematopoetik veya metabolik düzensizliği gösterebilir. Aneminin yorgunluk ve bilişsel bozulma ile ilişkilendirilmesi, bu bulguların AH ve PH hastalarında rutin izleme ve muhtemel tedavi gereksinimini vurgulamaktadır. ALT ve AST seviyelerindeki azalma, karaciğer metabolizmasında veya nörodegeneratif hastalık patolojisi nedeniyle sentezde bir bozulmayı yansıtabilir. Bu değişiklik, karaciğer fonksiyonunun AH ve PH’de etkilenmiş olabileceğini veya nörodegeneratif süreçlerle ilişkili olabileceğini düşündürmektedir. Alternatif olarak, bu durum, yaşla ve nörodegeneratif hastalıkların ilerlemesiyle bilinen protein sentezindeki azalmaları yansıtır olabilir. Kan üre nitrojeni (BUN) seviyeleri de AH ve PH hastalarında önemli ölçüde düşük bulunmuş olup, PH grubunda en belirgin azalma gözlemlenmiştir; bu, kreatinin seviyeleriyle birlikte gözlemlenmiştir. Düşük BUN ve kreatinin seviyeleri, kronik nöroinflamatuvar durumlar veya nörodejenerasyona bağlı metabolik değişiklikler nedeniyle değişen böbrek fonksiyonunu

yansıtabilir. PH hastalarında özellikle düşük kreatinin, kas kütlesinin azalmasını veya metabolik disfonksiyonu gösterebilir; çünkü kreatinin, kas metabolizmasının bir yan ürünüdür. Bu durum, PH'nin karakteristik motor semptomları ve kas sertliği ile tutarlıdır; azalmış fiziksel aktivite kas atrofisine yol açabilir (Yang ve ark., 2023).

Son olarak, hastalık gruplarında elektrolit seviyeleri de önemli ölçüde değişmiştir. AH grubunda, kontrol grubuna kıyasla Ca seviyelerinde belirgin bir artış gözlemlenmiştir; bu durum, nörodejenerasyonla ilişkili hiperkalsemiyi gösterebilir. Beyindeki artan Ca, AH'nin patogenezinde rol oynamış olup, Ca düzensizliği nöronal ölüme yol açabilir ve amyloid ile tau patolojisi ile ilişkilidir (Samavarchi ve ark, 2020). Bunun aksine, PH grubunda potasyum seviyeleri anlamlı şekilde yüksek bulunmuş olup, bu durum, nöronal stres veya metabolik değişiklikleri yansıtabilir. Hiperkalemi, kas disfonksiyonu ile ilişkilendirilmiştir ve PH hastaları sertlik ve motor bozukluklar yaşadığından, bu elektrolit dengesizliği, nöromusküler semptomları artırabilir. Gözlemlenen bu hematolojik ve biyokimyasal değişiklikler, nörodejeneratif ve otoimmün hastalıklarda çok sistemli izlemenin önemini vurgulamaktadır. MS, AH ve PH'daki artan iltihap belirteçleri ve bağışıklık hücresi sayıları, sistemik iltihabın bu hastalıkların patogenezinde önemli bir rol oynayabileceğini önermektedir. Ayrıca, karaciğer ve böbrek fonksiyon göstergelerindeki değişiklikler, bu hastalarda metabolik sağlığın izlenmesi gerekliliğini vurgulamaktadır; çünkü karaciğer ve böbrek sağlığı, hastalık ilerlemesi ve genel sağlık durumu üzerinde etkili olabilir.

IgG, geçmişte bir enfeksiyona veya aşılama maruz kalındığını gösteren bir antikor türüdür. Hepatit E bağlamında, HEV virüsüne karşı spesifik IgG antikorlarının bulunması, bireyin virüse yönelik geçmişte bir enfeksiyon geçirdiğini veya önceden aşılandığını ifade eder. Bir kişi HEV ile enfekte olduğunda, bağışıklık sistemi öncelikle enfeksiyonun erken döneminde (akut fazda) tespit edilebilen IgM antikorlarını üretir. Enfeksiyon süreçleri sona erdikçe veya bağışıklık yanıtı olgunlaştıkça, daha uzun süreli bağışıklık sağlamaya yardımcı olan IgG antikorları üretilir. Bu durum, bir bireyin kanında HEV'e karşı IgG antikorlarının varlığını tespit etmenin, genellikle geçmişte virüsle enfekte olduğunu ve bu enfeksiyona karşı bir miktar bağışıklık geliştirdiğini gösterdiğini ortaya koyar. Sonuç olarak, hepatit E'ye karşı IgG

antikorları, önceden geçirilmiş bir enfeksiyonu ve olası gelecekteki enfeksiyonlara karşı bağışıklığı işaret eder. Çalışmamızda ayrıca hasta ve kontrol grubu bireylerin hem serum HEV-IgM hem de HEV-IgG seviyeleri ELISA yöntemi ile incelendi. MS, AH ve PH hastalarında yüksek anti-HEV IgG ve IgM seviyelerinin gözlemlenmesi, HEV virüsünün, çeşitli nörolojik ve otoimmün hastalıklarla ilişkili olabileceğine dair bulgularla uyumludur. Bu nörolojik rahatsızlıklarda artan IgG pozitifliği, HEV'nin merkezi ve periferik sinir sistemlerinde enflamatuvar yanıtları tetikleyebileceğini düşündürmektedir. Nitekim, yeni çalışmalar HEV IgG pozitifliğini kronik enflamatuvar demiyelinizan polinöropati (CIDP) gibi nörolojik durumlarla ilişkilendirmekte olup, HEV maruziyetinin bağışıklık tepkilerini tetikleyebileceği veya bu tür otoimmün reaksiyonları başlatabileceği yönünde kanıtlar sunmaktadır (Pischke ve ark., 2024).

MS hastalarında yüksek oranda HEV-RNA tespiti, AD ve PD hastalarında da anlamlı HEV pozitifliğinin görülmesi, aktif ya da yakın zamanlı bir enfeksiyonu ve kronik bağışıklık yanıtında olası bir viral rolü işaret edebilir. Literatürde, HEV enfeksiyonunun bağışıklık sistemi zayıf veya bağışıklık açısından hassas bireylerde ekstrahepatik etkiler oluşturabildiği, atipik inflamatuvar yanıtları tetikleyebildiği belirtilmiştir. Özellikle akut belirteç olarak IgM'in yüksek saptanması, Guillain-Barré sendromu gibi inflamatuvar nöropatilerde HEV enfeksiyonunun çapraz reaktivite ya da doğrudan bağışıklık aktivasyonu nedeniyle rol oynayabileceği fikriyle uyumludur (Fritz- Weltin ve ark., 2021).

Bu bulgular, HEV enfeksiyonunun nörolojik hastalık patofizyolojisinde tetikleyici veya eş faktör olarak hizmet edebileceğini araştırmak için daha fazla çalışmaya duyulan gereksinimi vurgulamaktadır. Çalışmamız, nörolojik hastalıklarda HEV seropozitifliği ve RNA ekspresyonunun daha iyi anlaşılması için araştırmaların önemine işaret etmektedir. Bu doğrultuda, HEV'nin sistemik etkilerini ve potansiyel nörotropizmini açıklığa kavuşturmak için geniş kapsamlı çalışmalar yapılması gerektiği değerlendirilmektedir. MS hastalarında yüksek oranda HEV-RNA tespiti, AH ve PH hastalarında da anlamlı HEV pozitifliğinin görülmesi, aktif ya da yakın zamanlı bir enfeksiyonu ve kronik bağışıklık yanıtında olası bir

viral rolü işaret edebilir. Literatürde, HEV enfeksiyonunun bağışıklık sistemi zayıf veya bağışıklık açısından hassas bireylerde ekstrahepatik etkiler oluşturabildiği, atipik inflamatuvar yanıtları tetikleyebildiği belirtilmiştir. Özellikle akut belirteç olarak IgM'in yüksek saptanması, Guillain-Barré sendromu gibi inflamatuvar nöropatilerde HEV enfeksiyonunun çapraz reaktivite ya da doğrudan bağışıklık aktivasyonu nedeniyle rol oynayabileceği fikriyle uyumludur (Fritz-Weltin ve ark., 2021). Bu bulgular, HEV enfeksiyonunun nörolojik hastalık patofizyolojisinde tetikleyici veya eş faktör olarak hizmet edebileceğini araştırmak için daha fazla çalışmaya duyulan gereksinimi vurgulamaktadır. Çalışmamız, nörolojik hastalıklarda HEV seropozitifliği ve RNA ekspresyonunun daha iyi anlaşılması için araştırmaların önemine işaret etmektedir. Bu doğrultuda, HEV'nin sistemik etkilerini ve potansiyel nörotropizmini açıklığa kavuşturmak için geniş kapsamlı çalışmalar yapılması gerektiği değerlendirilmektedir. Bu tez kapsamında son olarak, nörolojik hastalıkları olan bireylerde HEV-RNA seroprevalansını inceleyen çalışmamızda, HEV-RNA artışıyla birlikte antiviral yanıt genlerinde anlamlı farklılıklar gözlemlenmiştir. Özellikle IFNB1, ISG15 ve STAT1 genlerinin Alzheimer ve Parkinson hastalarında ekspresyonunun artması, bu hastalıklarda kronik inflamasyon ve interferon aracılı savunma yanıtının göstergesidir. Bunun aksine, Multipl Skleroz hastalarında STAT2 ve IRF9 gen ekspresyonlarında azalma saptanmıştır. Bu bulgu, HEV enfeksiyonunun, MS gibi bağışıklık düzeninde bozulmaların gözlemlendiği durumlarda, zayıflamış Tip I interferon yanıtından yararlanarak konağın aktif olan antiviral savunmasını baskılayabileceğini ve bu yolla enfeksiyonun süregelmesine veya kötüleşmesine katkıda bulunabileceğini düşündürmektedir (Kang ve ark., 2017; Lhomme ve ark., 2020; Yadav ve ark., 2021; Devhare ve ark., 2021).

Antiviral bağışıklıkta özellikle Tip I IFN'ler (IFNB1), viral replikasyonu engelleyen interferon aracılı uyarılmış genlerin transkripsiyonunu başlatarak merkezi bir rol oynamaktadır. ISG'ler, ISG15, IRF9, STAT1 ve STAT2 gibi genellikle viral enfeksiyonlara karşı bağışıklık yanıtını aktive etmek için gerekli olan JAK-STAT sinyal yolunu kullanır. Ancak MS'de, immün sinyal yollarında çeşitli değişikliklere yol açabilir; bu durum JAK-STAT yolunun ve aşağı akış hedeflerinin aktivitesini zayıflatarak IFN üretimini azaltabilir. Bu bozulma HEV enfeksiyonu tarafından daha da derinleştirilebilir; zira HEV gibi RNA

virüsleri, interferon yanıtlarını aktif olarak baskılayarak bağışıklık sisteminden kaçma stratejileri geliştirir. Dolayısıyla nörolojik hastalığı bulunan bireylerde HEV, bağışıklık yanıt yollarındaki mevcut işlev bozukluklarından faydalanarak enfeksiyon için daha elverişli bir ortam bulabilir.

IFNB1, ISG15 ve STAT1'in AH ve PH hastalarında artışı, interferon yanıtının bu hastalıklarda farklı biçimlerde regüle edildiğini göstermektedir. Buna karşın, MS hastalarında STAT2 ve IRF9 ekspresyonundaki azalma, ISGF3 kompleksinin (STAT1–STAT2–IRF9) oluşumunu olumsuz etkileyerek antiviral yanıt kapasitesini düşürebilir. Bu durum, HEV enfeksiyonunun MS bağlamında minimal antiviral müdahale ile ilerleyebilme olasılığını desteklemektedir. Literatürde interferon sinyal bozukluklarının hem viral persistans hem de otoimmün süreçlerle ilişkili olduğu bildirilmektedir (Honda ve Taniguchi, 2006; Schoggins ve Rice, 2011), bu da bulgularımızın hem patofizyolojik hem de klinik açıdan önemini vurgulamaktadır. D ISG15'in erken fazda artışı antiviral yanıtı güçlendirse de uzamış ekspresyonu USP18 aracılığıyla Tip I IFN sinyalleşmesini negatif regüle edebilir (Mertowska ve ark., 2023). Bu nedenle, genin yüksek ifadesi yalnızca antiviral yanıtın yetersizliğini değil, aynı zamanda viral invazyon sırasında IFN üretimini sürdüren geri bildirim döngüsünün de bozulduğunu düşündürmektedir. HEV gibi virüsler bu düzenleyici boşluklardan faydalanarak bağışıklık sisteminden kaçabilir. Bu bulgular, Tip I IFN yanıtındaki bozulmanın hem viral enfeksiyonlara karşı duyarlılığı artırabileceğini hem de otoimmün süreçleri tetikleyerek nörolojik hasara yol açabileceğini göstermektedir. Gelecekteki çalışmalar, IRF9, STAT2 ve ISG15'in bu bağlamdaki rollerini daha ayrıntılı biçimde incelemeli ve Tip I IFN aracılı savunmanın modülasyonunu hedefleyen terapötik yaklaşımları araştırmalıdır.

Sonuç olarak, çalışmamız HEV enfeksiyonunun nörolojik ve otoimmün hastalıklarla olan ilişkisinin hem doğrudan hem de dolaylı mekanizmalarla ortaya çıkabileceğini göstermektedir. HEV'nin merkezi sinir sistemine ulaşma potansiyeli ve ekzosomlar aracılığıyla immünolojik ayrıcalıklı alanlara geçişi, virüsün nörolojik komplikasyonlar oluşturma olasılığını desteklemektedir. Çalışmamızda MS, AH ve PH hastalarında

gözlemlenen yüksek IgG ve IgM seviyeleri, HEV'nin nöroinflamatuvar yanıtları tetikleyebileceğini düşündürmektedir. Ayrıca, bu hastalıklarda artan WBC ve CRP düzeyleri, bağışıklık sisteminin aktif olduğunu ve iltihabi bir yanıtın mevcut olduğunu desteklemektedir (Tian ve ark., 2019). Çalışmamızın antiviral bağışıklık mekanizmalarına getirdiği bir diğer önemli katkı, HEV enfeksiyonunun interferon aracılı savunma düzenleyici genlerde *IFNB1*, *ISG15*, *IRF9*, *STAT1* ve *STAT2* gözlemlenen değişiklikler, nörodejeneratif hastalıklarda bağışıklık yanıtı ve kronik inflamasyonu göstermektedir. IFN yanıtında kritik olan ISG'lerin hastalığa spesifik olarak artan ve azalan ekspresyonu, bağışıklık sisteminin virüsle mücadele kapasitesini ve HEV' in bağışıklık yanıtını baskılama yönünde kolaylaştırabilir. Bu sonuçlar, özellikle nörolojik hastalıkları olan bireylerde antiviral bağışıklık yollarını modüle eden yeni tedavi yaklaşımlarının önemini vurgulamaktadır. Çalışmamızın bu alandaki epidemiyolojik izlem ve tedavi stratejilerine katkıda bulunabilecek önemli bir araştırma alanı açtığını söylemek mümkündür.

6. SONUÇ

Bu çalışma hem COVID-19 hem de HEV enfeksiyonlarının patogenezeine dair önemli bulgular ortaya koyarak, her iki virüsün de insan sağlığı üzerindeki uzun vadeli etkilerine dikkat çekmektedir. COVID-19'un vimentin ve diğer biyobelirteçlerdeki artışla desteklenen patofizyolojisi; iskemi-reperfüzyon hasarı, ciddi solunum komplikasyonları ve çoklu organ yetmezliği gibi ağır klinik tablolara yol açabileceğini göstermektedir. SARS-CoV-2 enfeksiyonuna bağlı gelişen sitokin fırtınası ve çoklu organ yetmezliğinin altında yatan mekanizmaların daha iyi anlaşılması, hastalık şiddetini azaltmaya yönelik yeni tedavi hedeflerinin belirlenmesi açısından büyük önem taşımaktadır. Bu bağlamda, inflamatuvar medyatörler, endotel disfonksiyonu ve doku bütünlüğü bozulmalarının etkileşimlerini inceleyen çok disiplinli ve geniş ölçekli çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır. Öte yandan, COVID-19'un uzun süreli seyir gösteren fibrozis gelişimi ve HEV'in çeşitli dokularda RNA'sının tespit edilmesi, her iki virüsün de orta ve uzun vadeli komplikasyonlar doğurabileceğini ortaya koymaktadır. Bu durum, enfeksiyon sonrası sürecin daha iyi anlaşılması, komplikasyonların öngörülmesi ve bireyselleştirilmiş tedavi stratejilerinin geliştirilmesi gerekliliğini vurgulamaktadır.

Çalışmamızda HEV enfeksiyonunun nörolojik ve otoimmün hastalıklarla olan ilişkisine dair elde edilen bulgular, bu bağlantının hem doğrudan hem de dolaylı mekanizmalarla oluşabileceğini göstermektedir. HEV'nin MSS ulaşma potansiyeli ve ekzosomlar aracılığıyla immünolojik ayrıcalıklı alanlara erişebileceği varsayımı, nörolojik komplikasyonların gelişme olasılığını güçlendirmektedir. MS, AH ve PH olan bireylerde gözlemlenen yüksek IgG ve IgM düzeyleri, HEV'nin nöroinflamatuvar süreçleri tetikleyebileceğini düşündürmektedir.

Bununla birlikte, HEV enfeksiyonu sırasında interferon yolundaki kritik düzenleyici genlerde IFNB1, ISG15, IRF9, STAT1 ve STAT2 gözlemlenen baskılanma, antiviral bağışıklık yanıtının zayıflamasına neden olabilmekte ve bu durum nörodejeneratif hastalıkların seyrini olumsuz etkileyebilmektedir. IFN yanıtında görev alan ISG'lerin azalan

ekspresyonu, bağışıklık sisteminin virüsle mücadele kapasitesini sınırlandırmakta ve HEV'nin immün yanıtıdan kaçışını kolaylaştırmaktadır.

Sonuç olarak, hem COVID-19 hem de HEV enfeksiyonlarının patogenezinin detaylı şekilde anlaşılması, enfeksiyon sonrası komplikasyonların önceden öngörülmesi ve etkili tedavi stratejilerinin geliştirilmesi açısından kritik öneme sahiptir. Bu çalışma, özellikle nörolojik hastalıklarda antiviral bağışıklık yollarını modüle eden yeni tedavi yaklaşımlarının geliştirilmesi ve bu alandaki epidemiyolojik izlem çalışmalarının desteklenmesi gerektiğini ortaya koymaktadır. Bulgularımız, gelecekte bu alanda yapılacak araştırmalar için önemli bir temel oluşturmakta ve klinik uygulamalara yön verecek yeni bakış açıları sunmaktadır.

7. KAYNAKÇA

- Abravanel, F., Pique, J., Couturier, E., Nicot, F., Dimeglio, C., et al (2018). Acute hepatitis E in French patients and neurological manifestations. *J Infect*; 77: 220-226. <https://doi.org/10.1016/j.jinf.2018.06.007>.
- Akaishi, T., Misu, T., Fujihara, K. et al. (2021). White blood cell count profiles in multiple sclerosis during attacks before the initiation of acute and chronic treatments. *Sci Rep* 11, 22357. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-01942-8>.
- Allnutt, M. A., Johnson, K., Bennett, D. A., Connor, S. M., Troncoso, J. C., Pletnikova, O., ... Jacobson, S. (2020). Human herpesvirus 6 detection in Alzheimer's disease cases and controls across multiple cohorts. *Neuron*, 105(6), 1027-1035. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2019.12.031>.
- Arnaud, N., Dabo, S., Akazawa, D., Fukasawa, M., Shinkai-Ouchi, F., Hugon, J., Wakita, T., Meurs, E.F. (2011). Hepatitis C virus reveals a novel early control in acute immune response. *PLoS Pathog.*;7: e1002289. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1002289>.
- Aydın, N. N., Ergünay, K., Karagül, A., Pınar, A., & Us, D. (2015). Investigation of the hepatitis E virus seroprevalence in cases admitted to Hacettepe University Medical Faculty Hospital". *Mikrobiyoloji Bulteni*, c. 49, sy 4, ss. 554-64. <https://doi.org/10.5578/mb.9881>.
- Bansal, A., Kumar, A., Patel, D., Puri, R., Kalra, A., Kapadia, S. R., & Reed, G. W. (2021). Meta-analysis comparing outcomes in patients with and without cardiac injury and coronavirus disease 2019 (COVID-19). *American Journal of Cardiology*, 141, 140–146. <https://doi.org/10.1016/j.amjcard.2020.11.009>
- Biegus, J., Zymliński, R., Fudim, M., Jankowska, E. A., Ponikowski, P., & Metra, M. (2019). Clinical, respiratory, haemodynamic, and metabolic determinants of lactate in heart failure. *Kardiologia Polska*, 77(1), 47–52. <https://doi.org/10.5603/KP.a2018.0240>.
- Bloom, O., Herman, P. E., & Spungen, A. M. (2020). Systemic inflammation in traumatic spinal cord injury. *Experimental neurology*, 325, 113143. <https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2019.113143>
- Bradley, B. T., Maioli, H., Johnston, R., Chaudhry, I., Fink, S. L., Xu, H., ... & Marshall, D. A. (2020). Histopathology and ultrastructural findings of fatal COVID-19 infections in Washington state: A case series. *The Lancet*, 396(10247), 320–332. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)31305-2](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)31305-2)
- Brettschneider, J., Tredici, K. D., Lee, V. M. Y., & Trojanowski, J. Q. (2015). Spreading of pathology in neurodegenerative diseases: a focus on human studies. *Nature Reviews Neuroscience*, 16(2), 109-120. <https://doi.org/10.1038/nrn3887>
- Broering, R., Zhang, X., Kottlil, S., Trippler, M., Jiang, M., Lu, M., et al. (2010). The interferon stimulated gene 15 functions as a proviral factor for the hepatitis C virus

- and as a regulator of the IFN response. *Gut*, 59(8), 1111-1119. <https://doi.org/10.1136/gut.2009.195545>
- Brooks, G. A. (2018). The science and translation of the lactate shuttle theory. *Cell Metabolism*, 27(4), 757–785. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2018.03.008>
- Cardinal-Fernandez, P., Lorente, J. A., Ballen-Barragan, A., & Matute-Bello, G. (2017). Acute respiratory distress syndrome and diffuse alveolar damage: New insights on a complex relationship. *Annals of the American Thoracic Society*, 14(6), 844–850. <https://doi.org/10.1513/AnnalsATS.201609-728PS>
- Carsana, L., Sonzogni, A., Nasr, A., Rossi, R. S., Pellegrinelli, A., Zerbi, P., et al. (2020). Pulmonary post-mortem findings in a series of COVID-19 cases from northern Italy: A two-centre descriptive study. *The Lancet Infectious Diseases*, 20(10), 1135–1140. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(20\)30434-5](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(20)30434-5)
- Centers for Disease Control and Prevention. (2020.3 September 15). *Hepatitis E*. Retrieved from <https://www.cdc.gov/hepatitis/hev/index.html>
- Chan, P., & Valcour, V. (2021). Neurocognition and the aging brain in people with HIV: implications for screening. *Topics in antiviral medicine*, 29(5), 423-429. <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC8862751/>
- Chen, Y., Gong, Q. L., Wang, Q., Wang, W., Wei, X. Y., Jiang, J., & Ni, H. B. (2021). Prevalence of hepatitis E virus among swine in China from 2010 to 2019: A systematic review and meta-analysis. *Microbial Pathogenesis*, 150.3 104687. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2020.104687>
- Choi, Y., Zhang, X., & Skinner, B. (2019). Analysis of IgG Anti-HEV Antibody Protective Levels During Hepatitis E Virus Reinfection in Experimentally Infected Rhesus Macaques. *The Journal of infectious diseases*, 219(6), 916–924. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiy603>
- Chousterman, B. G., Swirski, F. K., & Weber, G. F. (2017). Cytokine storm and sepsis disease pathogenesis. *Seminars in Immunopathology*, 39(5), 517–528. <https://doi.org/10.1007/s00281-017-0639-8>
- Cosset, F. L., & Lavillette, D. (2011). Cell entry of enveloped viruses. *Advances in Genetics*, 73, 121–183. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-380860-8.00004-5>
- Cusato, J., Manca, A., Palermi, A., Mula, J., Costanzo, M., Antonucci, M., et al. (2023). COVID-19: A possible contribution of the MAPK pathway. *Biomedicines*, 11(5), 1459. <https://doi.org/10.3390/biomedicines11051459>
- Cuthbert, J. A. (2001). Erratum: Hepatitis a: Old and new (clinical microbiology reviews (2001) 14:1 (38-58)). *Clinical Microbiology Reviews*, 14 (3), 642. <https://doi.org/10.1128/CMR.14.1.38-58.2001>
- Dalton, H. R., Bendall, R., Ijaz, S., & Banks, M. (2008). Hepatitis E: an emerging infection in developed countries. *The Lancet infectious diseases*, 8(11), 698-709. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(08\)70255-X](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(08)70255-X)

- Davis, R. J. (2000). Signal transduction by the JNK group of MAP kinases. *Cell*, 103(2), 239–252. [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(00\)00116-1](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(00)00116-1)
- De Cock, K. M., Bradley, D. W., Sanford, N. L., Govindarajan, S., Maynard, J. E., & Redeker, A. G. (1987). Epidemic non-A, non-B hepatitis in patients from Pakistan. *Annals of internal medicine*, 106(2), 227-230. <https://doi.org/10.7326/0003-4819-106-2-227>
- Debing, Y., Neyts, J., & Thibaut, H. J. (2014). Molecular biology and inhibitors of hepatitis A virus. *Medicinal research reviews*, 34(5), 895-917. <https://doi.org/10.1002/med.21292>
- Delorey, T. M., Ziegler, C. G. K., Heimberg, G., Normand, R., Yang, Y., Segerstolpe, Å., et al. (2021). COVID-19 tissue atlases reveal SARS-CoV-2 pathology and cellular targets. *Nature*, 595(7865), 107–113. <https://doi.org/10.1038/s41586-021-03570-8>
- Devhare, P., Madiyal, M., Mukhopadhyay, C., Shetty, S., Shastry, S. Interplay between Hepatitis E Virus and Host Cell Pattern Recognition Receptors. *Int. J. Mol. Sci.* 2021, 22, 9259. <https://doi.org/10.3390/ijms22179259>
- Ditah, I., Ditah, F., Devaki, P., Ditah, C., Kamath, P. S., & Charlton, M. (2014). Current epidemiology of hepatitis E virus infection in the United States: low seroprevalence in the National Health and Nutrition Evaluation Survey. *Hepatology*, 60(3), 815-822. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdfdirect/10.1002/hep.27219>
- Dudley, T. (2009). Viral hepatitis. *Liver Diseases: An essential guide for nurses and health care professionals*, 135-157. <https://doi.org/10.1002/9781444322682>
- Dugger, B. N., & Dickson, D. W. (2017). Pathology of neurodegenerative diseases. *Cold Spring Harbor perspectives in biology*, 9(7), a028035. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a028035>
- Eker, A., Tansel, O., Kunduracılar, H., Tokuc, B., Yuluğkural, Z., & Yüksel, P. (2009). Hepatitis E virus epidemiology in adult population in Edirne province, Turkey. *Mikrobiyoloji bulteni*, 43(2), 251-258. <https://europepmc.org/article/med/19621610>
- Emerson, S. U., & Purcell, R. H. (2004). Running like water--the omnipresence of hepatitis E. *The New England journal of medicine*, 351(23), 2367-2368. <https://doi.org/10.1056/NEJMp048285>
- Fajgenbaum, D. C., & June, C. H. (2020). Cytokine storm. *New England Journal of Medicine*, 383(23), 2255–2273. <https://doi.org/10.1056/NEJMra2026131>
- Fan, M., Zhang, Y., Zhang, C., Zhang, Z., Guo, J., Yan, W., et al. (2023). Lactate promotes endothelial-to-mesenchymal transition via Snail1 lactylation after myocardial infarction. *Science Advances*, 9(5), eadh9465. <https://doi.org/10.1126/sciadv.adc9465>
- Fantin, V. R., St-Pierre, J., & Leder, P. (2006). Attenuation of LDH-A expression uncovers a link between glycolysis, mitochondrial physiology, and tumor maintenance. *Cancer Cell*, 9(6), 425–434. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2006.04.023>
- Fathi, N., & Rezaei, N. (2020). Lymphopenia in COVID-19: Therapeutic opportunities. *Cell Biology International*, 44(9), 1792–1797. <https://doi.org/10.1002/cbin.11403>

- Faubel, S., & Edelstein, C. L. (2016). Mechanisms and mediators of lung injury after acute kidney injury. *Nature Reviews Nephrology*, 12(1), 48–60. <https://doi.org/10.1038/nrneph.2015.158>
- Feng Z. (2016). Causation by HEV of extrahepatic manifestations remains unproven. *Liver international: official journal of the International Association for the Study of the Liver*, 36(4), 477–479. <https://doi.org/10.1111/liv.13085>
- Flint, J., Skalka, A. M., Rall, G. F., & Racaniello, V. R. (2015). *Principles of virology, Volume I: Molecular biology* (5th ed.). ASM Press. <https://cabidigitallibrary.org/doi/full/10.5555/20163211735>
- Fortier, D., Treadwell, T. L., & Koff, R. S. (1989). Enterically transmitted non- A, non-B hepatitis: importation from Mexico to Massachusetts.
- Franceschi, C., Bonafè, M., Valensin, S., Oliviero, F., & De Luca, M. (2014). Inflammaging: an evolutionary perspective on immunosenescence. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1019(1), 32–38.
- Fritz-Weltin, M., Frommherz, E., Isenmann, N., Niedermeier, L., Csernalabics, B., Boettler, T., et al. (2021). Hepatitis E virus as a trigger for Guillain-Barré syndrome. *BMC neurology*, 21(1), 304. <https://doi.org/10.1186/s12883-021-02334-1>
- Global Hepatitis Report, 2017. World Health Organization <http://www.who.int/hepatitis/publications/global-hepatitis-report2017/en/> (Erişim tarihi: 10.03.2018).
- Gouttenoire, J., Pollan, A., Abrami, L., Oechslin, N., Mauron, J., Matter, M., et al. (2018). Palmitoylation mediates membrane association of hepatitis E virus ORF3 protein and is required for infectious particle secretion. *PLoS pathogens*, 14(12), e1007471. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1007471>
- Grasselli, G., Tonetti, T., Protti, A., Langer, T., Girardis, M., Bellani, G., ... Pesenti, A. (2020). Pathophysiology of COVID-19-associated acute respiratory distress syndrome: A multicentre prospective observational study. *The Lancet Respiratory Medicine*, 8(12), 1201–1208. [https://doi.org/10.1016/S2213-2600\(20\)30370-2](https://doi.org/10.1016/S2213-2600(20)30370-2)
- Guinault, D., Ribes, D., Delas, A., Milongo, D., Abravanel, F., Puissant-Lubrano, B., et al. (2016). Hepatitis E virus-induced Cryoglobulinemic glomerulonephritis in a nonimmunocompromised person. *American journal of kidney diseases*, 67(4), 660–663. <https://doi.org/10.1053/j.ajkd.2015.10.022>
- Haldipur, B., Bhukya, P. L., Arankalle, V., & Lole, K. (2018). Positive regulation of hepatitis E virus replication by microRNA-122. *Journal of virology*, 92(11), 10–1128. <https://doi.org/10.1128/jvi.01999-17>
- Heidari Nia, M., Rokni, M., Mirinejad, S., Kargar, M., Rahdar, S., Sargazi, S., Sarhadi, M., & Saravani, R. (2022). Association of polymorphisms in tumor necrosis factors with SARS-CoV-2 infection and mortality rate: A case-control study and in silico analyses. *Journal of Medical Virology*, 94(4), 1502–1512. <https://doi.org/10.1002/jmv.27477>

- Itzhaki, R. F. (2018). Corroboration of a major role for herpes simplex virus type 1 in Alzheimer's disease. *Frontiers in Aging Neuroscience*, 10, 3324. <https://doi.org/10.3389/fnagi.2018.00324>
- Jacobs, T., Jacobson, S. R., Fortea, J., Berger, J. S., Vedvyas, A., Marsh, K., et al. (2024). The neutrophil to lymphocyte ratio associates with markers of Alzheimer's disease pathology in cognitively unimpaired elderly people. *Research square*, rs.3.rs-4076789. <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-4076789/v1>
- Jamieson, G. A., Maitland, N. J., Wilcock, G. K., Craske, J., & Itzhaki, R. F. (1991). Latent herpes simplex virus type 1 in normal and Alzheimer's disease brains. *Journal of medical virology*, 33(4), 224-227. <https://doi.org/10.1002/jmv.1890330403>
- Jha, A. K., Kumar, G., Dayal, V. M., Ranjan, A., & Suchismita, A. (2021). Neurological manifestations of hepatitis E virus infection: An overview. *World journal gastroenterology*, 27(18), 2090-2104. <https://doi.org/10.3748/wjg.v27.i18.2090>
- Jia, Z., Yi, Y., Liu, J., Cao, J., Zhang, Y., Tian, R., et al. (2014). Epidemiology of hepatitis E virus in China: Results from the third national viral hepatitis prevalence survey, 2005-2006. *PloS one*, 9(10), e110837. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0110837>
- Jucker, M., & Walker, L. C. (2018). Propagation and spread of pathogenic protein assemblies in neurodegenerative diseases. *Nature neuroscience*, 21(10), 1341-1349. <https://doi.org/10.1038/s41593-018-0238-6>
- Kabata, H., Moro, K., Koyasu, S. (2018). The group 2 innate lymphoid cell (ILC2) regulatory network and its underlying mechanisms. *Immunological reviews*, 286(1), 37-52. <https://doi.org/10.1111/imr.12706>
- Kalia, M., Chandra, V., Rahman, S. A., Sehgal, D., & Jameel, S. (2009). Heparan sulfate proteoglycans are required for cellular binding of the hepatitis E virus ORF2 capsid protein and for viral infection. *Journal of virology*, 83(24), 12714-12724. <https://doi.org/10.1128/jvi.00717-09>
- Kalluri, R., & Weinberg, R. A. (2009). The basics of epithelial-mesenchymal transition. *Journal of Clinical Investigation*, 119(6), 1420-1428. <https://doi.org/10.1172/JCI39104>
- Kamar N., Bendall R., Legrand-Abravanel F., Xia N.S., Ijaz S., Izopet J. Hepatitis E. *Lancet*. 2012; 379:2477-2488. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(11\)61849-7](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(11)61849-7)
- Kamar N., Dalton H.R., Abravanel F., Izopet J. Hepatitis E virus infection. *Clin Microbiol Rev*. 2014; 27:116-138. <https://doi.org/10.1128/cmr.00057-13>
- Kamar, N., Bendall, R. P., Peron, J. M., Cintas, P., Prudhomme, L., Mansuy, J. M., et al. (2011). Hepatitis E virus and neurologic disorders. *Emerging Infectious Diseases*, 17(2), 173-179. <https://doi.org/10.3201/eid1702.100856>

- Kamar, N., Pischke, S. (2018). Acute and persistent hepatitis E virus genotype 3 and 4 Infection: Clinical features, pathogenesis, and treatment. *Cold Spring Harb. Perspect. Med.*; 9: a031872. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a031872>
- Kang, S., & Myoung, J. (2017). Host innate immunity against hepatitis E virus and viral evasion mechanisms. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 27(10), 1727-1735. <https://doi.org/10.4014/jmb.1708.08045>
- Kannan, H., Fan, S., Patel, D., Bossis, I., & Zhang, Y. J. (2009). The hepatitis E virus open reading frame 3 product interacts with microtubules and interferes with their dynamics. *Journal of virology*, 83(13), 6375-6382. <https://doi.org/10.1128/jvi.02571-08>
- Katsura, A., Suzuki, H. I., Ueno, T., Mihira, H., Yamazaki, T., Yasuda, T., & Miyazono, K. (2016). MicroRNA-31 is a positive modulator of endothelial–mesenchymal transition and associated secretory phenotype induced by TGF- β . *Genes to Cells*, 21(1), 99–116. <https://doi.org/10.1111/gtc.12323>
- Katzenstein, A. L., Bloor, C. M., & Liebow, A. A. (1976). Diffuse alveolar damage: The role of oxygen, shock, and related factors. A review. *The American Journal of Pathology*, 85(1), 209–228. PMID: 822932
- Kędziora, A., Urbanowicz, T., Olasińska-Wisniewska, A., Gąsecka, A., Rodzki, M., & Jemielity, M. (2020). Postoperative serum lactate levels for in-hospital mortality prediction among heart transplant recipients. *Annals of Transplantation*, 25, e920288-1. <https://doi.org/10.12659/AOT.920288>
- Khatun, M., & Ray, R. B. (2019). Mechanisms underlying hepatitis C virus- associated hepatic fibrosis. *Cells*, 8(10), 1249. <https://doi.org/10.3390/cells8101249>
- Khuroo, M. S., Khuroo, M. S., & Khuroo, N. S. (2016). Transmission of Hepatitis E Virus in Developing Countries. *Viruses*, 8(9), 253. <https://doi.org/10.3390/v8090253>
- Kim, E. K., & Choi, E. J. (2010). Pathological roles of MAPK signaling pathways in human diseases. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease*, 1802(4), 396–405. <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2009.12.009>
- Kim, J. H., Nelson, K. E., Panzner, U., Kasture, Y., Labrique, A. B., & Wierzba, T. F. (2014). A systematic review of the epidemiology of hepatitis E virus in Africa. *BMC infectious diseases*, 14(1), 308. <https://doi.org/10.1186/1471-2334-14-308>
- King, A. M., Lefkowitz, E., Adams, M. J., & Carstens, E. B. (Eds.). (2011). *Virus taxonomy: Ninth report of the International Committee on Taxonomy of Viruses* (Vol. 9). Elsevier.
- Kokudo, T., Suzuki, Y., Yoshimatsu, Y., Yamazaki, T., Watabe, T., & Miyazono, K. (2008). Snail is required for TGF- β -induced endothelial-mesenchymal transition of embryonic stem cell-derived endothelial cells. *Journal of Cell Science*, 121(20), 3317–3324. <https://doi.org/10.1242/jcs.028282>

- Kovacic, J. C., Dimmeler, S., Harvey, R. P., & Finkel, T. (2019). Endothelial to mesenchymal transition in cardiovascular disease: JACC state-of-the-art review. *Journal of the American College of Cardiology*, 73(2), 190–209. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2018.09.089>
- Kudo-Saito, C., Shirako, H., Takeuchi, T., & Kawakami, Y. (2009). Cancer metastasis is accelerated through immunosuppression during Snail-induced EMT of cancer cells. *Cancer Cell*, 15(3), 195–206. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2009.01.023>
- Lam, F. W., Da, Q., Guillory, B., & Cruz, M. A. (2018). Recombinant human vimentin binds to P-selectin and blocks neutrophil capture and rolling on platelets and endothelium. *Journal of Immunology*, 200(5), 1718–1726. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1700784>
- Lamouille, S., Xu, J., & Derynck, R. (2014). Molecular mechanisms of epithelial–mesenchymal transition. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 15(3), 178–196. <https://doi.org/10.1038/nrm3758>
- Lee, G. H., Tan, B. H., Teo, E. C. Y., Lim, S. G., Dan, Y. Y., Wee, A., et al. (2016). Chronic infection with camelid hepatitis E virus in a liver transplant recipient who regularly consumes camel meat and milk. *Gastroenterology*, 150(2), 355–357. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2015.10.048>
- Lenschow, D. J. (2010). Antiviral properties of ISG15. *Viruses*, 2, 2154–2168. <https://doi.org/10.3390/v2102154>
- Lhomme, S., Abravanel, F., & Kamar, N. (2021). Hepatitis E Virus Infection: Neurological Manifestations and Pathophysiology. *Pathogens*, 10(12), 1582. <https://doi.org/10.3390/pathogens10121582>
- Lhomme, S., Marion, O., Abravanel, F., Izopet, J., & Kamar, N. (2020). Clinical Manifestations, Pathogenesis and Treatment of Hepatitis E Virus Infections. *Journal of clinical medicine*, 9(2), 331. <https://doi.org/10.3390/jcm9020331>
- Li, X., Pan, X., Li, Y., An, N., Xing, Y., Yang, F., ... & Xing, Y. (2020). Cardiac injury associated with severe disease or ICU admission and death in hospitalized patients with COVID-19: a meta-analysis and systematic review. *Critical care*, 24(1), 468. <https://doi.org/10.1186/s13054-020-03183-z>
- Li, X., Yang, Y., Zhang, B., Lin, X., Fu, X., An, Y., et al. (2022). Lactate metabolism in human health and disease. *Signal transduction and targeted therapy*, 7(1), 305. <https://doi.org/10.1038/s41392-022-01151-3>
- Lippi, G., Plebani, M., & Henry, B. M. (2020). Thrombocytopenia is associated with severe coronavirus disease 2019 (COVID-19) infections: A meta-analysis. *Clinica Chimica Acta*, 506, 145–148. <https://doi.org/10.1016/j.cca.2020.03.022>
- Liu, G., Cheresch, P., & Kamp, D. W. (2013). Molecular basis of asbestos-induced lung disease. *Annual Review of Pathology: Mechanisms of Disease*, 8, 161–187. <https://doi.org/10.1146/annurev-pathol-020712-163942>

- Liu, L., Jing, H., Wu, X., Xiang, M., Novakovic, V. A., Wang, S., & Shi, J. (2022). The cross-talk of lung and heart complications in COVID-19: Endothelial cells dysfunction, thrombosis, and treatment. *Frontiers in Cardiovascular Medicine*, 9, 957006. <https://doi.org/10.3389/fcvm.2022.957006>
- Louten, J. (2016). Emerging and reemerging viral diseases. *Essential Human Virology*, 291. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-800947-5.00016-8>
- Lowery, J., Kuczmarski, E. R., Herrmann, H., & Goldman, R. D. (2015). Intermediate filaments play a pivotal role in regulating cell architecture and function. *Journal of Biological Chemistry*, 290(28), 17145–17153. <https://doi.org/10.1074/jbc.R115.640359>
- Lu, Y., Pike, J. R., Selvin, E., Mosley, T., Palta, P., Sharrett, A. R., et al. (2021). Low Liver Enzymes and Risk of Dementia: The Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study. *Journal of Alzheimer's disease: JAD*, 79(4), 1775–1784. <https://doi.org/10.3233/JAD-201241>
- Lwoff, A. (1957). The concept of virus. *Journal of General Microbiology*, 17(1), 239–253. <https://doi.org/10.1099/00221287-17-1-239FEMS>
- Medici, D., Hay, E. D., & Olsen, B. R. (2008). Snail and Slug promote epithelial-mesenchymal transition through β -catenin–T-cell factor-4–dependent expression of transforming growth factor- β 3. *Molecular Biology of the Cell*, 19(11), 4875–4887. <https://doi.org/10.1091/mbc.e08-05-0506>
- Mège, R. M., & Ishiyama, N. (2017). Integration of cadherin adhesion and cytoskeleton at adherens junctions. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 9(5), a028738. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a028738>
- Mehta, N., Luthra, N. S., Corcos, D. M., & Fantuzzi, G. (2023). C-reactive protein as the biomarker of choice to monitor the effects of exercise on inflammation in Parkinson's disease. *Frontiers in Immunology*, 14, 1178448. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2023.1178448>
- Mehta, P., McAuley, D. F., Brown, M., et al. (2020). COVID-19: consider cytokine storm syndromes and immunosuppression. *The Lancet*, 395(10229), 1033–1034. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30628-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30628-0)
- Melms, J. C., Biermann, J., Huang, H., Wang, Y., Nair, A., Tagore, S., et al. (2021). A molecular single-cell lung atlas of lethal COVID-19. *Nature*, 595(7865), 114–119. <https://doi.org/10.1038/s41586-021-03569-1>
- Mertowska, P., Smolak, K., Mertowski, S., & Grywalska, E. (2023). Immunomodulatory Role of Interferons in Viral and Bacterial Infections. *International journal of molecular sciences*, 24(12), 10115. <https://doi.org/10.3390/ijms241210115>
- Mor-Vaknin, N., Punturieri, A., Sitwala, K., & Markovitz, D. M. (2003). Vimentin is secreted by activated macrophages. *Nature Cell Biology*, 5(1), 59–63. <https://doi.org/10.1038/ncb898>

- Mouliou D. S. (2023). C-Reactive Protein: Pathophysiology, Diagnosis, False Test Results and a Novel Diagnostic Algorithm for Clinicians. *Diseases (Basel, Switzerland)*, 11(4), 132. <https://doi.org/10.3390/diseases11040132>
- Moyer, C. L., & Nemerow, G. R. (2011). Viral weapons of membrane destruction: Variable modes of membrane penetration by non-enveloped viruses. *Current Opinion in Virology*, 1(1), 44–49. <https://doi.org/10.1016/j.coviro.2011.05.002>
- Musaelyan, A., Lapin, S., Nazarov, V., Tkachenko, O., Gilburd, B., Mazing, A., et al. (2018). Vimentin as antigenic target in autoimmunity: a comprehensive review. *Autoimmunity reviews*, 17(9), 926-934. <https://doi.org/10.1016/j.autrev.2018.04.004>
- Nagashima, S., Takahashi, M., Jirintai, N., Tanaka, T., Yamada, K., Nishizawa, T., & Okamoto, H. (2011). A PSAP motif in the ORF3 protein of hepatitis E virus is necessary for virion release from infected cells. *Journal of general virology*, 92(2), 269-278. <https://doi.org/10.1099/vir.0.025791-0>
- Naicker, S., Yang, C. W., Hwang, S. J., Liu, B. C., Chen, J. H., & Jha, V. (2020). The novel coronavirus 2019 epidemic and kidneys. *Kidney International*, 97(5), 824–828. <https://doi.org/10.1016/j.kint.2020.03.001>
- Nan, Y., Ma, Z., Wang, R., Yu, Y., Kannan, H., Fredericksen, B., & Zhang, Y. J. (2014). Enhancement of interferon induction by ORF3 product of hepatitis E virus. *Journal of Virology*, 88(15), 8696-8705. <https://doi.org/10.1128/jvi.01228-14>
- Nappi, F., & Avtaar Singh, S. S. (2022). Endothelial dysfunction in SARS-CoV-2 infection. *Biomedicines*, 10(3), 654. <https://doi.org/10.3390/biomedicines10030654>
- National Center for Biotechnology Information (NCBI). (2024). Gene database entries for SNAI1, SNAI2, ZEB1, CDH1, VIM, MAP2K4, ISG15, IFNB1, IRF9, STAT1, and STAT2 (Homo sapiens). Bethesda (MD): National Library of Medicine. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/> (Accessed: October 15, 2025).
- Nayak, H. K., Kamble, N. L., Raizada, N., Garg, S., & Daga, M. K. (2013). Acute pancreatitis complicating acute hepatitis E virus infection: a case report and review. *Case Reports in Hepatology*, 2013(1), 531235. <https://doi.org/10.1155/2013/531235>
- Nimgaonkar, I., Ding, Q., Schwartz, R. E., & Ploss, A. (2018). Hepatitis E virus: advances and challenges. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, 15(2), 96-110. <https://doi.org/10.1038/nrgastro.2017.150>
- Ojeda-Juárez, D., Harahap-Carrillo, I. S., & Kaul, M. (2022). Neurodegeneration Associated with HIV-1 in the Era of cART. In *Handbook of Neurotoxicity* (pp. 1-30). Cham: Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-030-71519-9_137-1
- Peinado, H., García del Portillo, F., & Cano, A. (2004). Transcriptional regulation of cadherins during development and carcinogenesis. *The International Journal of Developmental Biology*, 48(5-6), 365–375. <https://doi.org/10.1387/ijdb.041794hp>

- Pirtle, E. C., & Beran, G. W. (1991). Virus survival in the environment. *Revue Scientifique et Technique*, 10(3), 733-748. <https://doi.org/10.20506/rst.10.3.570>
- Pischke, S., Hartl, J., Pas, S. D., Lohse, A. W., Jacobs, B. C., & Van der Eijk, A. A. (2017). Hepatitis E virus: Infection beyond the liver?. *Journal of hepatology*, 66(5), 1082-1095. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2016.11.016>
- Plempner, R. K. (2011). Cell entry of enveloped viruses. *Current Opinion in Virology*, 1(2), 92–100. <https://doi.org/10.1016/j.coviro.2011.06.002>
- Prasad, B. V., & Schmid, M. F. (2012). *Principles of virus structural organization*. In *Advances in Experimental Medicine and Biology* (Vol. 726, pp. 17–47). https://doi.org/10.1007/978-1-4614-0980-9_3
- Purdy, M. A., Harrison, T. J., Jameel, S., Meng, X. J., Okamoto, H., Van der Poel, W. H. M., ... & ICTV Report Consortium. (2017). ICTV virus taxonomy profile: Hepeviridae. *Journal of General Virology*, 98(11), 2645-2646. <https://doi.org/10.1099/jgv.0.000940>
- Rajesh, R., Atallah, R., & Bärnthaler, T. (2023). Dysregulation of metabolic pathways in pulmonary fibrosis. *Pharmacology & Therapeutics*, 246, 108436. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2023.108436>
- Ramos, I., Stamatakis, K., Oeste, C. L., & Pérez-Sala, D. (2020). Vimentin as a multifaceted player and potential therapeutic target in viral infections. *International journal of molecular sciences*, 21(13), 4675. <https://doi.org/10.3390/ijms21134675>
- Rawla, P., Raj, J. P., Kannemkuzhiyil, A. J., Aluru, J. S., Thandra, K. C., & Gajendran, M. (2020). A systematic review of the extra-hepatic manifestations of hepatitis E virus infection. *Medical Sciences*, 8(1), 9. <https://doi.org/10.3390/medsci8010009>
- Rein, D. B., Stevens, G. A., Theaker, J., Wittenborn, J. S., & Wiersma, S. T. (2012). The global burden of hepatitis E virus genotypes 1 and 2 in 2005. *Hepatology*, 55(4), 988-997. <https://doi.org/10.1002/hep.25505>
- Ren, X., Wu, P., Wang, L., Geng, M., Zeng, L., Zhang, J., et al. (2017). Changing epidemiology of hepatitis A and hepatitis E viruses in China, 1990–2014. *Emerging infectious diseases*, 23(2), 276. <https://doi.org/10.3201/eid2302.161095>
- Rivero-Juarez, A., Frias, M., Rodriguez-Cano, D., Cuenca-López, F., & Rivero, (2016). Isolation of hepatitis E virus from breast milk during acute infection. *Clinical infectious diseases*, 62(11), 1464-1464. <https://doi.org/10.1093/cid/ciw186>
- Rokni, M., Ahmadikia, K., Asghari, S., Mashaei, S., & Hassanali, F. (2020). Comparison of clinical, para-clinical and laboratory findings in survived and deceased patients with COVID-19: diagnostic role of inflammatory indications in determining the severity of illness. *BMC Infectious Diseases*, 20(1), 869. <https://doi.org/10.1186/s12879-020-05540-3>

- Rokni, M., Ghasemi, V., & Tavakoli, Z. (2020). Immune responses and pathogenesis of SARS-CoV-2 during an outbreak in Iran: Comparison with SARS and MERS. *Reviews in Medical Virology*, 30(3), e2107. <https://doi.org/10.1002/rmv.2107>
- Rokni, M., Hamblin, M. R., & Rezaei, N. (2020). Cytokines and COVID-19: Friends or foes? *Human Vaccines & Immunotherapeutics*, 16(10), 2363–2365. <https://doi.org/10.1080/21645515.2020.1799669>
- Rokni, M., Heidari Nia, M., Sarhadi, M., Mirinejad, S., Sargazi, S., Moudi, M., et al. (2022). Association of TMPRSS2 gene polymorphisms with COVID-19 severity and mortality: A case-control study with computational analyses. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 194(8), 3507–3526. <https://doi.org/10.1007/s12010-022-03885-w>
- Rokni, M., Sarhadi, M., Heidari Nia, M., Khosroshahi, M., Asghari, L., Sargazi, S., Mirinejad, S., & Saravani, R. (2022). Single nucleotide polymorphisms located in TNFA, IL1RN, IL6R, and IL6 genes are associated with COVID-19 risk and severity in an Iranian population. *Cell Biology International*, 46(7), 1109–1127. <https://doi.org/10.1002/cbin.11807>
- Samavarchi Tehrani, S., Sarfi, M., Yousefi, T., Ahmadi Ahangar, A., Gholinia, H., Mohseni Ahangar, R., et al. (2020). Comparison of the calcium-related factors in Parkinson's disease patients with healthy individuals. *Caspian journal of internal medicine*, 11(1), 28–33. <https://doi.org/10.22088/cjim.11.1.28>
- Schneider, W. M., Chevillotte, M. D., & Rice, C. M. (2014). Interferon-stimulated genes: a complex web of host defenses. *Annual review of immunology*, 32(1), 513–545. <https://doi.org/10.1146/annurev-immunol-032713-120231>
- Schwartzburg, J., Juncker, M., Reed, R., & Desai, S. (2019). Increased ISGylation in cases of TBI-exposed ALS veterans. *Journal of Neuropathology & Experimental Neurology*, 78(3), 209–218. <https://doi.org/10.1093/jnen/nly129>
- Sebag, S. C., Bastarache, J. A., & Ware, L. B. (2011). Therapeutic modulation of coagulation and fibrinolysis in acute lung injury and the acute respiratory distress syndrome. *Current Pharmaceutical Biotechnology*, 12(9), 1481–1496. <https://doi.org/10.2174/138920111798281171>
- Seifert, A., & Posern, G. (2017). Tightly controlled MRTF-A activity regulates epithelial differentiation during formation of mammary acini. *Breast Cancer Research*, 19(1), 68. <https://doi.org/10.1186/s13058-017-0860-3>
- Skendros, P., Mitsios, A., Chrysanthopoulou, A., Mastellos, D. C., Metallidis, S., Rafailidis, P., et al. (2020). Complement and tissue factor–enriched neutrophil extracellular traps are key drivers in COVID-19 immunothrombosis. *Journal of Clinical Investigation*, 130(11), 6151–6157. <https://doi.org/10.1172/JCI141374>
- Sochocka, M., Diniz, B. S., & Leszek, J. (2017). Inflammation in Alzheimer's disease. *Current Alzheimer Research*, 14(11), 1167–1178

- Soy, M., Keser, G., & Atagündüz, M. P. (2021). Pathogenesis and treatment of cytokine storm in COVID-19. *Turkish Journal of Biology*, 45(7), 372–389. <https://doi.org/10.3906/biy-2105-37>
- Strangfeld, A., Schäfer, M., Gianfrancesco, M. A., Lawson-Tovey, S., Liew, J. W., Ljung, L., & Machado, P. M. (2021). Factors associated with COVID-19-related death in people with rheumatic diseases: Results from the COVID-19 Global Rheumatology Alliance physician-reported registry. *Annals of the Rheumatic Diseases*, 80(7), 930–942. <https://doi.org/10.1136/annrheumdis-2020-219498>
- Su, L., Zhang, J., Gomez, H., Murugan, R., Hong, X., Xu, D., ... & Kellum, J. A. (2019). Role of vimentin in modulating immune cell apoptosis and inflammatory responses in sepsis. *Scientific Reports*, 9(1), 5747. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-42287-7>
- Sundaresan, B., Shirafkan, F., Ripperger, K., & Rattay, K. (2023). The Role of Viral Infections in the Onset of Autoimmune Diseases. *Viruses*, 15(3), 782. <https://doi.org/10.3390/v15030782>
- Suomalainen, M., & Greber, U. F. (2013). Uncoating of non-enveloped viruses. *Current opinion in virology*, 3(1), 27-33. <https://doi.org/10.1016/j.coviro.2012.12.004>
- Swieringa, F., Spronk, H. M. H., Heemskerk, J. W. M., & van der Meijden, P. E. J. (2018). Integrating platelet and coagulation activation in fibrin clot formation. *Research and Practice in Thrombosis and Haemostasis*, 2(3), 450–460. <https://doi.org/10.1002/rth2.12107>
- Taylor M. W. (2014). What Is a Virus?. *Viruses and Man: A History of Interactions*, 23–40. https://doi.org/10.1007/978-3-319-07758-1_2
- Tei, S., Kitajima, N., Takahashi, K., & Mishiro, S. (2003). Zoonotic transmission of hepatitis E virus from deer to human beings. *The Lancet*, 362(9381), 371-373. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(03\)14025-1](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(03)14025-1)
- Terpos, E., Ntanasis-Stathopoulos, I., Elalamy, I., ... Dimopoulos, M. A. (2020). Hematological findings and complications of COVID-19. *American Journal of Hematology*, 95(7), 834–847. <https://doi.org/10.1002/ajh.25829>
- Tian, D., Li, X., Li, Y., Li, J., & Li, Y. (2022). Hepatitis E virus infects brain microvascular endothelial cells, crosses the blood–brain barrier, and invades the central nervous system. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 119(18), e2201862119. <https://doi.org/10.1073/pnas.2201862119>
- Tian, J., Shi, R., Xiao, P., Liu, T., She, R., Wu, Q., et al. (2019). Hepatitis E Virus Induces Brain Injury Probably Associated With Mitochondrial Apoptosis. *Frontiers in cellular and infection microbiology*, 9, 433. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2019.00433>
- Tsai, K. N., Kuo, C. F., & Ou, J. H. J. (2018). Mechanisms of hepatitis B virus persistence. *Trends in microbiology*, 26(1), 33-42. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2017.07.006>

- Uchikado, H., Lin, W. L., DeLucia, M. W., & Dickson, D. W. (2006). Alzheimer disease with amygdala Lewy bodies: a distinct form of α -synucleinopathy. *Journal of Neuropathology & Experimental Neurology*, 65(7), 685-697. <https://doi.org/10.1097/01.jnen.0000225908.90052.07>
- Ussher, M. H., Taylor, A. H., & Faulkner, G. E. (2014). Exercise interventions for smoking cessation. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, (8). <https://doi.org/10.1002/14651858.CD002295.pub5>
- V'kovski, P., Kratzel, A., Steiner, S., Stalder, H., & Thiel, V. (2021). *Coronavirus biology and replication: implications for SARS-CoV-2*. *Nature Reviews Microbiology*, 19(3), 155–170. <https://doi.org/10.1038/s41579-020-00468-6>
- Varga, Z., Flammer, A. J., Steiger, P., Haberecker, M., Andermatt, R., Zinkernagel, A. S., ... & Moch, H. (2020). Endothelial cell infection and endotheliitis in COVID-19. *The Lancet*, 395(10234), 1417–1418. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30937-5](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30937-5)
- Walker, C., Deb, S., Ling, H., & Wang, Z. (2020). Assessing the elevation of cardiac biomarkers and the severity of COVID-19 infection: A meta-analysis. *Journal of Pharmacy & Pharmaceutical Sciences*, 23, 396–405. <https://doi.org/10.18433/jpps31501>
- Wang, F., Sun, X., Wang, F., Zheng, H., Jia, Z., Zhang, G., ... & Shen, L. (2021). Changing epidemiology of hepatitis A in China: evidence from three national serological surveys and the national notifiable disease reporting system. *Hepatology*, 73(4), 1251-1260. <https://doi.org/10.1002/hep.31429>
- Wang, M., & Feng, Z. (2021). Mechanisms of hepatocellular injury in hepatitis Viruses, 13(5), 861. <https://doi.org/10.3390/v13050861>
- Wang, R., Yang, B., Zhang, D. (2011). Activation of interferon signaling pathways in spinal cord astrocytes from an ALS mouse model. *Glia*, 59: 946- 958. <https://doi.org/10.1002/glia.21167>
- Wang, R.G., Kaul, M., Zhang, D. X. (2012). Interferon-stimulated gene 15 as a general marker for acute and chronic neuronal injuries. *Sheng Li Xue Bao [Acta Physiol. Sin.]*;64: 577-583.
- Wang, W. Y., Tan, M. S., Yu, J. T., & Tan, L. (2015). Role of pro-inflammatory cytokines released from microglia in Alzheimer's disease. *Annals of translational medicine*, 3(10), 136. <https://doi.org/10.3978/j.issn.2305-5839.2015.03.49>
- Wang, Y., Shi, J., Chai, K., Ying, X., & Zhou, B. (2013). The role of Snail in EMT and tumorigenesis. *Current Cancer Drug Targets*, 13(9), 963–972.
- Weckbach, L. T., Schweizer, L., Kraechan, A., Bieber, S., Ishikawa-Ankerhold, H., Hausleiter, J., & EMB Study Group. (2022). Association of complement and MAPK activation with SARS-CoV-2-associated myocardial inflammation. *JAMA Cardiology*, 7(3), 286–297. <https://doi.org/10.1001/jamacardio.2021.5133>

- Weinbaum, C., Lyerla, R., Margolis, H. S., & US Department of Health and Human Services. (2003). Prevention and control of infections with hepatitis viruses in correctional settings. *Morbidity & Mortality Weekly Report*, 14; 52 (10): 205.
- Williams, T. P. E., Kasorndorkbua, C., Halbur, P. G., Haqshenas, G., Guenette, D. K., Toth, T. E., & Meng, X. J. (2001). Evidence of extrahepatic sites of replication of the hepatitis E virus in a swine model. *Journal of clinical microbiology*, 39(9), 3040-3046. <https://doi.org/10.1128/jcm.39.9.3040-3046.2001>
- Williamson, E. J., Walker, A. J., Bhaskaran, K., Bacon, S., Bates, C., Morton, C. E., et al. (2020). Factors associated with COVID-19-related death using OpenSAFELY. *Nature*, 584(7821), 430–436. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2521-4>
- Wißing, M. H., Brüggemann, Y., Steinmann, E., & Todt, D. (2021). Virus–host cell interplay during hepatitis E virus infection. *Trends in microbiology*, 29(4), 309-319. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2020.07.002>
- Wood, L. M., Sankar, S., Reed, R. E., Haas, A.L., Liu, L. F., McKinnon, P., Desai, S.D. (2011). A novel role for ATM in regulating proteasome-mediated protein degradation through suppression of the ISG15 conjugation pathway. *PLoS ONE*, 6(1): e16422. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0016422>
- World Health Organization. (2022, June 24). *Hepatitis E*. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/hepatitis-e>
- Wu, J., Xiang, Z., Zhu, C., Yao, Y., Bortolanza, M., Cao, H., & Li, L. (2021). Extrahepatic manifestations related to hepatitis E virus infection and their triggering mechanisms. *Journal of Infection*, 83(3), 298-305. <https://doi.org/10.1016/j.jinf.2021.07.021>
- Yang, G., Wang, L. Z., Zhang, R., Zhang, X. Y., Yu, Y., Ma, H. R., & He, X. G. (2023). Study on the Correlation between Blood Urea Nitrogen, Creatinine Level, Proteinuria and Parkinson's Disease. *Neurology India*, 71(6), 1217–1221. <https://doi.org/10.4103/0028-3886.391388>
- Yang, J., Liao, X., Yin, W., Wang, B., Yue, J., Bai, L., ... & Kang, Y. (2021). Elevated cardiac biomarkers may be effective prognostic predictors for patients with COVID-19: A multicenter, observational study. *The American journal of emergency medicine*, 39, 34-41. <https://doi.org/10.1016/j.ajem.2020.10.013>
- Yılmaz, E., Yılmaz, D., & Cacan, E. (2024). Severe and post-COVID-19 are associated with high expression of vimentin and reduced expression of N-cadherin. *Scientific Reports*, 14(1), 29256. <https://doi.org/10.1038/s41598-024-72192-7>
- Yin, X., Ambardekar, C., Lu, Y., & Feng, Z. (2016). Distinct entry mechanisms for nonenveloped and quasi-enveloped hepatitis E viruses. *Journal of virology*, 90(8), 4232-4242. <https://doi.org/10.1128/jvi.02804-15>
- Yue, J., & López, J. M. (2020). Understanding MAPK signaling pathways in apoptosis. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(7), 2346. <https://doi.org/10.3390/ijms21072346>

- Zafrullah, M., Ozdener, M. H., Panda, S. K., & Jameel, S. (1997). The ORF3 protein of hepatitis E virus is a phosphoprotein that associates with the cytoskeleton. *Journal of virology*, 71(12), 9045-9053. <https://doi.org/10.1128/jvi.71.12.9045-9053.1997>
- Zhao, H. (2018). The epidemiology of hepatitis B virus infection in China. *Journal of Viral Hepatitis*, 25(12), 1624-1624. <https://doi.org/10.1111/jvh.13004>
- Zhao, X., Li, M., Haihambo, N., Wang, X., Wang, B., Sun, M., & Han, C. (2023). Periodic characteristics of hepatitis virus infections from 2013 to 2020 and their association with meteorological factors in Guangdong, China: Surveillance Study. *JMIR Public Health and Surveillance*, 9(1), e45199. <https://doi.org/10.2196/45199>
- Zheng, M., Jiang, Y. P., Chen, W., Liu, X., Gao, S. Y., Feng, H., ... Liang, X. H. (2015). Snail and Slug collaborate on EMT and tumor metastasis through miR-101-mediated EZH2 axis in oral tongue squamous cell carcinoma. *Oncotarget*, 6(9), 6794–6810. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.3180>
- Zhou, P., Yang, X. L., Wang, X. G., et al. (2020). A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. *Nature*, 579(7798), 270–273. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2012-7>
- Zhou, X., Huang, F., Xu, L., Lin, Z., de Vrij, F. M., Ayo-Martin, A. C., et al. (2017). Hepatitis E virus infects neurons and brains. *The Journal of infectious diseases*, 215(8), 1197-1206. <https://doi.org/10.1093/infdis/jix079>
- Zymliński, R., Biegus, J., Sokolski, M., Siwołowski, P., Nawrocka-Millward, S., Todd, J., et al. (2018). Increased blood lactate is prevalent and identifies poor prognosis in patients with acute heart failure without overt peripheral hypoperfusion. *European Journal of Heart Failure*, 20(6), 1011–1018. <https://doi.org/10.1002/ehf.1156>

8. ÖZGEÇMİŞ

,

9. EKLER



T.C.
YOZGAT VALİLİĞİ
İl Sağlık Müdürlüğü



Sayı : E-92198657-772.02
Konu : Çalışma İzni

Sayın: Dilek YILMAZ

İlgi : 15.03.2022 tarihli ve E92198657-000-136 sayılı yazısı.

İlgi tarihli ve sayılı dilekçenize istinaden; Yozgat Şehir Hastanesi'nde yapmayı planladığınız "SARS- COV-2 Enfeksiyonunun MAP2K4 Gen İfadesine Etkisi ve Buna Bağlı Olarak Epitelyal Mezenkimal Geçişteki Rolünün İncelenmesi" konulu yapılacak olan bilimsel çalışmanızı tarihleri Nisan 2022- Nisan 2023 arasında yapmanız kaydıyla, yapılacak çalışmanın sağlık tesisinde hizmeti aksatmayacak şekilde yürütülmesi, araştırmaya katılımlarının gönüllülük esasına göre yapılması, kişisel verilere ve özel hayatın korunmasına özen gösterilmesi, katılacak kişilerin rızalarının alınması, yapılacak çalışmanın sonucunun Bakanlığımız bilgisi dışında ilan edilmemesi, pandemi tedbirlerine özellikle hassasiyet gösterilmesi kaydıyla Müdürlüğümüz tarafından Yozgat Şehir Hastanesi'nde yapılması uygun görülmüş olup, Bilimsel Araştırma Talepleri Değerlendirme Formu ve Makam Olurumuz yazımız ekinde gönderilmiştir.

Bilgilerinize sunulur

Dr. Fatih ŞAHİN
İl Sağlık Müdürü

EKLER:

- Makam Oluru
- Komisyon Kararı

Bu belge, güvenli elektronik imza ile imzalanmıştır.
Belge Doğrulama Kodu: 7d05e8ca-115c-4ba0-96b3-24d033f14696 Belge Doğrulama Adresi: <https://www.turkiye.gov.tr/saglik-bakanligi-cbys>
Telefon: 3542175075/112/120 Faks No:
e-Posta: pinar.durgut@saglik.gov.tr Bilgi için: Pınar DURGUT
SÜREKLİ İŞÇİ
Telefon No: (0 354) 217 50 70

