



## SARS-CoV-2 Mikrobiyoloji ve Patogenez

### SARS-CoV-2 Microbiology and Pathogenesis

Ayşe Seza İnal<sup>1</sup>, Zehra Gül Duman<sup>2</sup>, Behice Kurtaran<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Çukurova Üniversitesi Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Adana, Turkey

<sup>2</sup>Dışkapı Yıldırım Beyazıt Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği, Ankara, Turkey

#### ABSTRACT

Coronaviruses (CoV) are zoonotic viruses that can infect many animal species in nature, including mammals and birds as well as human beings. Novel coronavirus, giving rise to COVID-19 pandemic since the beginning of 2020, has affected daily life shaking sociocultural and economic structure worldwide. CoV is an enveloped, single stranded RNA virus with positive polarity. Lung is the most effected organ in COVID-19. Spreading through respiratory droplets and direct contact, SARS-CoV-2 replicates first in the nasal cavity and pharenx, then proceed to lower respiratory tract. It has four major structural proteins: nucleocapsid protein (N), transmembrane protein (M), envelope protein (E) and spike protein (S). In order to enter a mammalian's cell, SARS-CoV-2 attaches to angiotensin converting enzyme2 (ACE2) receptor through S protein. The activity of cellular serine protease (TMMPRSS2) is also very important for this viral entry. Major target in the lungs are the type II pneumocytes. Present data shows that capillary endothelial cells in the lungs, highly expressing ACE-2 activity and sharing the same basal membrane with type II pneumocytes, are the other target cells. After the attachment of SARS-CoV-2 S protein, ACE-2 activity and surface expression diminishes. Loss of ACE-2 expression in the cellular surface may lead to an instability in the renin-angiotensin system, causing a decrease in angiotensin II metabolism and increase in *angiotensin II type 1a (AT1R)* receptor stimulation. This may result in leakage from pulmonary blood vessels and severe acute lung damage. Covid-19 pneumonia is an atypical viral pneumonia. In severe COVID-19 infection, viral immunosuppression may be due to lymphopenia, depletion of NK and CD8+ T cells and interferon suppression. After the delay of primary immune response, pro-inflammatory secondary immune response emerges with excessive secretion of cytokines *IL-6, IL-1, IP-10, IL-18, GM-CSF* and *IFN $\gamma$* , but no secretion of *type I IFN*. Continuous dissemination of virus stimulates cytokine secretion and T cell response which induces lung injury and acute respiratory distress syndrome (ARDS).

**Key words:** SARS-CoV-2, COVID-19, virology, pathogenesis.

#### ÖZET

Koronavirüsler (CoV) doğadaki memeliler ve kuşlar dâhil, birçok hayvanı ve insanları da enfekte edebilen zoonoz etkindir. Yepyeni bir koronavirüs, 2020 yılının başından itibaren yol açtığı COVID-19 pandemisi ile dünyanın hemen her yerinde sosyokültürel ve ekonomik yapıyı sarsacak derecede günlük hayata tesir etmiştir. CoV zarflı, pozitif polariteli, tek sarmallı bir RNA virüsüdür. COVID-19'un vücutta en çok etkilediği organ akciğerlerdir. Damlacık ve temas yoluyla bulaşan SARS-CoV-2, vücutta ilk olarak nazal kavite ve farekste replike olmaya başlar ve alt solunum yollarına doğru ilerler. Bütün CoV dört önemli yapısal proteine sahiptir: nükleokapsid proteini (N), transmembran proteini (M), zarf (*envelope*) proteini (E), spike protein (S). SARS-CoV-2 de, S proteini aracılığıyla memeli hücresine girmek için reseptör olarak anjiyotensin dönüştürücü enzim 2 (ACE2)'ye bağlanır, bununla birlikte hücre serin proteinaz TMPRSS2 aktivitesinin de giriş için büyük önem taşıdığı gösterilmiştir. Akciğerlerdeki ana hedef, tip II pnömositlerdir. Mevcut veriler, tip II pnömositler ile aynı bazal membranı paylaşan ve yüksek oranda ACE-2 eksprese eden kapiller endotel hücrelerinin akciğerlerdeki diğer hedef hücre olduğunu göstermektedir. SARS-CoV-2 S proteininin bağlanması ardından, ACE-2 aktivitesi ve yüzey ekspresyonu azalır. Bu nedenle hücre yüzeyinde ACE-2 ekspresyonunun kaybı, renin-anjiyotensin sisteminde bir dengesizlik yaratarak anjiyotensin II'nin metabolizasyonunun azalmasına ve *anjiyotensin II Tip 1a (AT1R)* reseptör stimülasyonuna yol açabilir. Sonuçta pulmoner kan damarlarında kaçak oluşması ve dolayısıyla şiddetli akut akciğer hasarıyla ilişkili olabilir. COVID-19 pnömonisi, atipik bir viral pnömonidir. Şiddetli COVID-19 sırasında viral immünoşüpresyonun, lenfopeni, NK ve CD8 + T hücre profilinde tükenme ve interferon şüpresyonundan kaynaklandığı kabul edilir. Primer immün yanıtın gecikmesi sonrası, *tip I IFN*'un bulunmadığı, *IL-6, IL-1, IP-10, IL-18, GM-CSF* ve *IFN $\gamma$*  gibi sitokinlerin aşırı salındığı proinflatuvar



tipte sekonder yanıt ortaya çıkar. Artarak devam eden viral saçılım, sitokin salınımını ve T hücreyi uyarır, bu durum akciğer hasarını ve ARDS'yi indükler.

**Anahtar kelimeler:** SARS-CoV-2, COVID-19, viroloji, patogenezi

## SARS-CoV-2 Mikrobiyoloji

Koronavirüsler (CoV) doğadaki memeliler ve kuşlar dâhil, birçok hayvanı ve insanları da enfekte edebilen zoonoz etkenidir. Çoğunlukla hafif solunum yolu hastalığı meydana getirmekle birlikte, gastrointestinal, hepatik ve nörolojik tutulumla bağlı çok çeşitli klinik hastalıklara neden olan, seyrek olarak ağır seyredabilen ve ölüme yol açabilen virüslerdir.

Önceleri yol açtığı hastalıklar açısından pek dikkat çekmeyen CoV, son yirmi yıl içinde, önce Severe Acute Respiratory Syndrome (SARS) ve Middle East Respiratory Syndrome (MERS) salgınlarına neden olarak insanlarda yaptıkları hastalıklar ve yüksek mortalite nedeniyle popüler hale gelmiştir. Son olarak yepyeni bir koronavirüs, 2020 yılının başından itibaren yol açtığı COVID-19 pandemisi ile dünyanın hemen her yerinde sosyokültürel ve ekonomik yapıyı sarsacak derecede günlük hayata tesir etmiştir.

## Koronavirüslerin ve COVID-19'un Tarihçesi

Koronavirüslere ilişkin kanıtlar 10.000 yıl ila 300 milyon yıl öncesine kadar uzanmaktadır. Kaydedilmiş ilk CoV enfeksiyonu, 1912'de Almanya'da bir kedide tespit edilmiştir<sup>1</sup>. 1965 yılında, Tyrell ve Bynoe soğuk algınlığı olan bir çocuğun solunum yollarından elde ettikleri virüsle gönüllülerde de soğuk algınlığı meydana getirdiklerini bildirmişlerdir. Daha sonra bu virüsün bilinen hiçbir virüse benzemediğini, ancak elektron mikroskopundaki görüntülerinin tavukların bronşit virüsüne benzerlik gösterdiğini rapor etmişlerdir<sup>2</sup>. Aynı sıralarda, Hamre ve Procknow da soğuk algınlığı enfeksiyonu olan tıp öğrencilerinin solunum sekresyonlarından bir sitopatik ajan elde etmiş ve bunu 229E olarak adlandırmışlardır. Kısa süre sonra, Tyrell ve Bynoe ile McIntosh ve arkadaşları da, benzer bir yöntemle yeni bir etken soyutladıklarını ve bu etkene "organ culture" sözcüklerinin baş harflerini kullanarak OC43 adını verdiklerini bildirdiler<sup>3</sup>. Bu yeni keşfedilen cins (genus) için elektron mikroskobu altında yüzey proteinlerinin taç benzeri yapılar oluşturmasına istinaden coronavirus adı uygun görüldü<sup>4</sup>.

Kısa sürede çok çeşitli hayvanlarda CoV tespit edildi. Sıçan, fare, tavuk, hindi, çeşitli kuş türleri, deve, diğer geniş getiriciler, beyaz balina, köpek, tavşan, domuz gibi çok çeşitli hayvan türlerinde, hatta kedi gibi evcil hayvanlarda da solunum yolu hastalıkları veya gastroenterite yol açtıkları gösterildi. İnsanlarda ise esas olarak solunum yolu ve gastrointestinal sistem belirtileriyle seyreden, çoğunlukla hafif ama seyrek olarak solunum yetmezliği ve böbrek tutulumu ile birlikte fatal enfeksiyonlara da neden olmaktadır.

CoV 2002 yılında yeni ortaya çıkan bir üyesi ile dünyanın gündemine oturdular. Çin'in Guangdong eyaletinde ortaya çıkan SARS tablosunun etkenine "şiddetli akut solunum sendromu koronavirüsü" anlamına gelen Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus (SARS-CoV) adı verildi<sup>5</sup>. SARS bir yıl içinde 30 ülkeye yayılarak aralarında sağlık çalışanlarının da bulunduğu 8373 kişide hastalığa, 774 kişinin ölümüne neden oldu (mortalite hızı %10). Bu salgın dünya çapında alınan seyahat ve turizm kısıtlamaları ile birlikte birçok ülkede yatırım ve ticaret anlaşmalarının bozulması sonucunda maddi zarara da yol açtı. Bu yeni CoV varyantının aktör olduğu korkunç senaryolar gerçekleşmedi ve SARS 2003 yazında ortadan kayboldu. Bundan yaklaşık 10 yıl sonra, yeni bir CoV üyesi daha korkutucu bir senaryo ile sahneye çıktı. Suudi Arabistan'da pnömone ve böbrek yetmezliği ile kaybedilen bir viral pnömone hastada etken olarak daha önce görülmemiş bir koronavirüs tespit edildiği, birkaç gün sonra Suudi Arabistan'dan dönen Katarlı bir hastanın benzer klinik tablo ile kaybedildiği bildirildi<sup>6,7</sup>. Önce bu yeni koronavirüsün tespit edildiği merkez olan Erasmus Medical Center'e atfen coronavirus-EMC adı verilen bu virüse, Orta-Doğu Solunum Sendromu koronavirüsü anlamına gelen Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus (MERS-CoV) adı verildi<sup>4</sup>. MERS-CoV'un ilk ortaya çıktığı ülke olan Suudi Arabistan'ın her yıl milyonlarca Müslüman hacıyı misafir etmesi nedeniyle korkulan pandemi ortaya çıkmadı; ancak, Aralarında Türkiye'nin de bulunduğu 27 ülkede görülen MERS olgularının sayısı 31 Mayıs 2019 itibarıyla 2442'ye ulaştı ve mortalite hızı %35 olarak hesaplandı<sup>8</sup>.

Son olarak, CoV yine Çin'den yayılan bir üyesi ile bütün insanlık kültürünü ve belki de dünyayı sosyoekonomik değişime uğratabilecek bir üyesiyle sahneye çıktı. 2019 yılının Aralık ayında Çin'in Hubei

eyaletinde, Wuhan şehrinde ağır pnömoni olgularının kümelenme gösterdiği dikkati çekti. Bunun üzerine, Çin Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezi 31 Aralık 2019'da bir açıklama yaparak, Wuhan'da faaliyet gösteren Hua'nun Deniz Ürünleri ve Hayvan Pazarı'ndan kaynaklandığı tahmin edilen bu salgının incelenmesi ve araştırılması amacıyla bölgesel çalışma başlattıklarını dünyaya duyurdu<sup>9</sup>. Kısa süre içinde hastaların bronkoalveoler lavaj sıvısından izole edilen etkenin genom dizilimi belirlendi ve daha önceden bilinmeyen bu CoV üyesine “yeni” anlamındaki “new” sözcüğünün ilk harfini kullanarak 2019-nCoV, hastalığa da koronavirus hastalığı anlamına gelen “Coronavirus Disease” sözcüklerinden alınan harfler ile 2019 yılına atfen COVID-19 adı verildi.

Kısa süre içinde hastalardan alınan örneklerden izole edilen virüsün gen diziliminin tamamı belirlenerek yayınlanmıştır<sup>10</sup>. Daha sonra, Uluslararası Virüs Taksonomi Komitesi metagenomik dizi analizi ve *real-time* polimeraz zincir reaksiyonu (RT-PZR) kullanılarak yapılan analizlere dayanarak etkenin ismini SARS-CoV-2 olarak güncellemiştir<sup>11</sup>.

## Taksonomik ve Filogenetik Olarak CoV

Nidovirales (“*nido*” Latince yuva anlamındadır) takımında yer alan Coronaviridae familyası Coronavirinae ve Torovirinae adlı iki alt familyayı ihtiva eder.<sup>3,4</sup> CoV çok sayıda memeli ve kuşlarda çok çeşitli hastalıklar yapan büyük bir virüs grubudur. Günümüzde CoV familyası içinde dört genus yer alır: *Alphacoronavirus*, *Betacoronavirus* (grup 2), *Gammacoronavirus* ve *Deltacoronavirus*. Bu gruplar daha önceki sınıflandırmaya ait gruplar içinde, sırasıyla grup 1, grup 2 (MERS-CoV ve SARS-CoV da dâhil), grup 3 ve Gamma-CoV içinde de yeni tanımlanmış kuş ve domuz virüslerini içermektedir. Bu dört genustan ikisinde yer alan altı serotip insanlarda hastalık yapar. Bunlar *Alphacoronavirus* (HCoV-229E ve HCoV-NL63) ve *Betacoronavirus* (HCoV-HKU1, HCoV-OC43, SARS-CoV, MERS-CoV, son olarak 2020 yılında bu gruba katılan SARS-CoV-2) cinsleri içinde yer alır.<sup>12</sup> Metagenomik dizi analizi ve *real-time* polimeraz zincir reaksiyonu (RT-PZR) kullanılarak yapılan analizlerle SARS-CoV, MERS-CoV ve SARS-CoV-2'nin *Betacoronavirus 2b* cinsinin *Sarbecovirus* alt cinsi içinde gruplanmıştır<sup>11,12</sup>.

Yarasalar koronavirüslerin doğal konağıdır<sup>13</sup>. SARS-CoV ve MERS-CoV'un doğal konaklarının yarasalar olduğu, SARS-CoV'un ara konağının misk kedisi, MERS-CoV'un ara konağının Arabistan Yarımadası'ndaki hecin devesi (tek hörgüçlü deve) olduğuna dair kuvvetli bulgular vardır. SARS-CoV-2 için ara konak belirlenmemiştir. SARS-CoV-2 viral genom dizilimi için sekanslama yapıldığında, SARS-CoV ile %70-80 homoloji gösterdiği, hatta “nal burunlu yarasa” türlerinde hastalık yapan koronavirüsler ile daha da yakın akraba olduğu (yarasa virüsü RaTG<sub>13</sub> ile homoloji %96,2) anlaşılmıştır<sup>9,13,14</sup>. Pangolin CoV ile de yakınlığı bulunsa da, pangolinlerin ara konak olabileceği varsayımı desteklenmemiştir, ancak yarasalardan ya doğrudan ya da halen bilinmeyen bir yolla insana bulaşmış olması muhtemel görünmektedir<sup>15,16</sup>.

## Koronavirüslerin Virolojik Özellikleri

CoV zarflı, pozitif polariteli, tek sarmallı bir RNA virüsüdür. Bu RNA yaklaşık 30 kb uzunluğu ile virüsler içinde bilinen en büyük RNA'dır ve 5' uçtan başlayarak sırasıyla, virüsün proteazları tarafından parçalandığında yapısal olmayan proteinleri oluşturacak olan büyük bir poliproteini, proteazlar olarak RNA'ya bağımlı RNA polimerazı, metiltransferazları ve bir helikazı, bunlardan sonraki genom kısmı da 4-5 yapısal proteini ve bunlarla birbirine geçen birkaç yapısal olmayan proteinle ve minör yapısal proteinleri kodlar.<sup>3</sup> SARS-CoV-2'ye ait S glikoproteini, RNA'ya bağımlı RNA polimeraz (Nsp12) ve papaine benzer polimeraz (PL-pro) ile 3C-benzeri polimeraz (3CLpro) genleri SARS-CoV'a ait genler ile aynıdır<sup>12</sup>. Ayrıca, SARS-CoV ve SARS-CoV-2 arasında önemli oranda antijenik çapraz reaktivite mevcuttur<sup>12,17</sup>.

Bütün CoV dört önemli yapısal proteine sahiptir: nükleokapsid proteini (N), transmembran proteini (M), zarf (*envelope*) proteini (E), *spike* proteini (S). (Şekil 1). İstisna olarak HCoV-OC43 ve HCoV-HKU1 beşinci bir protein olan hemagglütinin esteraz (HE) proteinine ve bu proteini kodlayan genlere de sahiptir<sup>3</sup>.

## SARS-CoV'un Virolojik Yapısı

SARS-CoV-2 viryonunun genomunu konak hücreden elde edilerek glikoprotein çıkıntılar (S proteini) ile bezenmiş olan helikal yapıda bir nükleokapsid sarar. SARS-CoV gibi SARS-CoV-2 de, S proteini aracılığıyla memeli hücrelerine girmek için reseptör olarak anjiyotensin dönüştürücü enzim 2 (ACE2)'ye bağlanır, bununla

birlikte hücrel serin proteinaz TMPRSS2 aktivitesinin de giriş için büyük önem taşıdığı gösterilmiştir.<sup>18-20</sup> SARS-CoV-2'nin S proteininin ACE2'ye bağlanmasını sağlayan reseptör bağlayıcı bölge (RBB) üzerinde yer alan aminoasitlerin değişime uğradığı, D614G (aspartik asit yerine glisin) değişimiyle ortaya çıkan polimorfizmin zaman içerisinde dünya üzerinde daha baskın hale geldiği bildirilmiştir.<sup>21</sup> Bu G614 varyantının üst solunum yollarında daha yüksek viral yük ortaya çıkardığı ve virüse adaptasyon avantajı sağlayarak bulaşıcılığını artırdığı, ancak hastalık tablosunu ağırlaştırmayacağı ileri sürülmüştür. Yine de bu varyantın klinik önemi henüz açık değildir.<sup>22</sup>

SARS-CoV viryonuna ait yapılar ve ihtiva ettiği moleküller şu şekildedir:

#### **Zarf:**

*Spike* proteinleri (S) virüsün zarfından dışarı doğru çıkıntı yaparak adını aldığı taç (*corona*) benzeri yapıyı meydana getirir. Homotrimer yapıda olduğu tahmin edilmektedir ve büyük oranda glikozillenmiştir (glikoprotein). Konak hücrenin hedef reseptörü ACE2'nin peptidaz bölgesine S1 alt birimindeki RBB ile bağlanır. S2 alt birimi ise konak hücre membranı ile füzyon sağlar. S2 alt birimi büyük ölçüde korunmuş bir yapı olduğundan antiviral tedavide hedef alınabileceği düşünülmektedir. Nötralizan antikorların hedef aldığı majör antijenler ile sitotoksik lenfositlerin başlıca hedefleri S proteini üzerinde bulunmaktadır.<sup>3</sup>

Membran (M) proteini virüsün proteinlerinin birleştirilmesinde önemli rol oynar. N-terminal bölgesi zarf yüzeyinin dışına doğru çıkıntı yapar, zarfı üç kez kat eder, C-terminal bölgesi ise zarf içinde kalacak şekilde uzanır.<sup>3</sup>

Zarf (E) proteini glikoprotein yapısındadır. C-terminal bölgesini zarfın içinde bırakarak ya membranın üzerine doğru kıvrılır ya da membranı kat ederek N terminal ucu içeriye doğru uzanarak zarfa tutunur. E proteininin görevi kesin bilinmemekle birlikte, virüs parçalarının toplanarak doğru şekilde montajı ve virüsün salınması için M ve N proteinleri gibi gerekli olduğu tahmin edilmektedir.<sup>3</sup>

#### **Kapsid:**

Nükleokapsid (N) proteini nükleokapsidi oluşturmak üzere RNA genomu ile bağlantı yapar ve genomu sabitleyerek korur. Viral RNA sentezinin düzenlenmesinde görev alır ve virüsün tomurcuklanması sırasında M proteini ile birlikte çalışır. Sitotoksik T lenfositler N proteininin bazı kısımlarını tanıyabilmektedir.<sup>3,23</sup>

#### **Genom:**

Hücre içine girdikten sonra viral genom açığa çıkar ve bu genom kalıp olarak kullanılarak mRNA görevi yürüterek virüse ait poliproteinlerin translasyonunu sağlar. Genom birbiri içine yuvalanmış 3' uçları ortak, 5' uçları kendine özgü olan bir mRNA takımıdır. Önce, özgün 5' uçlarından başlamak üzere translasyon meydana gelir. Diğer RNA virüslerinde translasyon esnasında mutasyon çok yaygındır ve her replikasyon döngüsünde  $2 \times 10^{-6}$  kez olurken, CoV genomunca kodlanan 3'-5' endonükleaz enzimi bu mutasyonların düzeltilmesinde görev üstlenir ve replikasyonun aslına uygun şekilde sürdürülmesini sağlar (*proofreading*). CoV genetik rekombinasyon yeteneğine de sahiptir, yani, iki virüs bir hücreyi aynı zamanda enfekte ederse genlerinin rekombinasyonu mümkündür.<sup>3</sup>

CoV viryonlarına ait proteinler enfekte hücrelerin sitoplazmasında Golgi ve endoplazmik retikulum membranında saptanmış olup, birleşme ve montaj (*assembly*) sonrasında tomurcuklanarak sitoplazmadaki veziküllerin içine birikir, daha sonra E proteininin yardımı ile veziküller içindeki viryonlar ekzositoz ile hücre dışına salınır. Her bir viryon ACE2 reseptörü ile karşılaştığında replikasyon döngüsü baştan başlar.<sup>3</sup>

#### **Yapısal Olmayan Proteinler:**

SARS-CoV-2'ye ait yapısal olmayan proteinlerinin (nsp) çoğunun işlevi bilinmemekle birlikte, bazı nsp'lerin görevi halen anlaşılamamıştır. Toplam 16 adet nsp saptanmış olup, IFN sinyalinin inhibe edilmesi, hücrel protein dengesinin bozularak hücrenin dayanma yeteneğinin kırılması, hücrel mRNA'nın degradasyonu, viral proteinlerin kesilerek birleşmeye hazırlanması, RNA bağımlı RNA polimeraz işlevi, endonükleaz aktivitesi, hata düzeltme (*proofreading*), RNA helikaz, 5'-trifosfataz ve N-7-metiltransferaz aktivitesi gibi görevler üstlenirler.

## SARS-CoV-2'nin Dış Etkilere Direnci

CoV zarflı olduklarından dış ortama ve dezenfektanlara duyarlıdırlar.<sup>23</sup> Bununla birlikte, SARS-CoV-2'nin dış yüzeylerde kalma süresi tam olarak bilinmemektedir. Dezenfektanlar ve alkol (%62-71 konsantrasyonda) ile SARS-CoV-2 bir dakikadan daha kısa sürede inaktive olmaktadır. Deneysel olarak güneş ışığının 15-20 dakikada, şiddetli ultraviyole-B ışığının daha kısa sürede SARS-CoV-2'yi inaktive ettiği gösterilmiştir.<sup>24</sup> Ancak yüzeylerde sebat edebilmesinde ve bulaşma kapasitesinde diğer CoV için olduğu gibi, muhtemelen ortam sıcaklığının, nisbi nem ve inokulum miktarının da rolü vardır<sup>25</sup>.

## SARS-CoV-2 Hücre Kültürü

SARS-CoV-2 hakkında bilimsel araştırmalar için Vero CCI-81, Vero E6, HUH 7.0, 293T, A549, EFKB3, BHK-21, LLC-PK1, MRC-5, MyDauLu/47.1, NIH/3T3, RhiLu/1.1, Vero memeli hücreleri, Calu-3, Aco-2, MDBK ve MDCKII hücre hatlarının kullanıldığı çalışmalar mevcuttur<sup>26</sup>. Bu hücrelerin geliştirilmesi için Dulbecco's Minimum Essential Medium veya Dulbecco's Modified Eagle sıvı kültür ortamlarının kullanıldığı ve 37°C bildirilmiştir.

## SARS-CoV-2 Patogenezi

“Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus” (SARS-CoV-2), ilk kez Aralık 2019'da Çin'in Hubei eyaletinin Wuhan şehrinde bildirilen kümelenmiş pnömoni vakalarında izole edilmiş ve yol açtığı klinik tablo yeni koronavirüs hastalığı 2019 (COVID-19) olarak isimlendirilmiştir. Virüs esasen solunum yollarını hedef alır ve ateş, kuru öksürük, halsizlik ve nefes darlığı gibi semptomlara yol açar. Klinik tablo hastaların büyük bir kısmında asemptomatik ya da hafif şiddette seyreder. Yüzde 10 ile 20 aralığında bir hasta grubunda ağır hastalık tablosu gelişir ve hastane servisi veya yoğun bakım ünitesinde izlem gerekir. Kötü prognoz için risk faktörleri arasında; ileri yaş, erkek cinsiyet, obezite, hipertansiyon, kardiyovasküler hastalık, diyabet ve solunum sistemi hastalığı gibi komorbiditeler bulunur<sup>27</sup>.

Virüs ve konak arasındaki etkileşim, hastalığın patogeneziinde önemli rol oynar. Pandeminin devam etmesi ile birlikte hastalığa karşı etkin tedavi ve aşının bulunabilmesi için virüs yaşam döngüsü, hücre tropizmi ve konak immün cevabı konularında daha fazla bilgiye ihtiyaç vardır. Güncel literatür bilgileri ışığında SARS-CoV-2'nin virolojik özellikleri ile immünpatogenezi gözden geçirilmiştir.

## Viroloji

SARS-CoV-2, *Coronaviridae* ailesi arasında sınıflandırılan tek sarmallı pozitif polariteli bir RNA virüsüdür ve betacoronavirus alt cinsi içinde yer alır. Yaklaşık 30 kb büyüklüğünde büyük bir genoma sahiptir ve SARS-CoV ile % 80, MERS-CoV ile % 50 ve yarasalarda görülen diğer koronavirüslerle büyük oranda benzerlik gösterir. Genomunun ilk üçte iki kısmı yapısal olmayan 16 proteini, son üçte bir kısmı dört yapısal proteini kodlar. Yapısal proteinler spike (S), zarf (E), hücre membranı (M) ve nükleokapsitten (N) oluşur. M proteini viral şeklin sağlanmasında, S proteini konak hücreye bağlanmada, E proteini viral partikül oluşturulmasında ve hücreden ayrılmasında, N proteini genom bütünlüğünün sağlanmasında rol alır<sup>28,29</sup>.

## SARS-CoV-2 Yaşam Döngüsü

SARS-CoV-2'nin yüzeyinde bulunan spike (S) proteini, hücrelere girişte SARS-CoV'e benzer şekilde reseptör olarak anjiyotensin dönüştürücü enzim-2 (ACE-2)'ye bağlanır. Bağlanma afinitesi, SARS-CoV'e göre 10 ile 20 kat daha güçlüdür; bu virüsün patojenitesinde önemli rol oynar. Virüse ait S proteini S1 ve S2 olmak üzere iki alt birimden oluşur. S1 alt birimi reseptör bağlanma bölgesi (RBP) ile ACE-2'ye bağlanırken, S2 alt birimi konakçı hücrelerine ait bir *transmembran proteaz serin 2 (TMPRSS2)* ya da diğer bir proteaz olan *furin* tarafından parçalanarak virüsün membrana füzyonunu sağlar. Alternatif olarak, S proteinin *katapsin L* tarafından parçalandığı endositoz yoluyla giriş de mevcuttur. Baskın olan giriş yolu hücre tipine özeldir ve seçilen proteazların mevcudiyetine bağlıdır<sup>30-31</sup>. Son zamanlarda *CD147* aracılığıyla yeni bir giriş yolu öne sürülmüştür, sonuçlar tartışmalı olduğundan daha fazla araştırmaya ihtiyaç duyulmaktadır<sup>32</sup>.

Hücreye giriş sonrasında viral genom sitoplazmaya salınır ve pozitif RNA genomundan doğrudan replikaz-transkriptaz kompleksi oluşur. Koronavirüslerde bu kompleks, yalnızca viral RNA sentezinden sorumludur ve bu yolla bağışıklık sistemi yanıtından kaçış sağlar. Genom RNA replikasyonu ile yapısal ve yardımcı

proteinlerin üretimi sonrasında M, S ve E proteinleri endoplazmik retikulum zarına eklenir. Endoplazmik retikulum-golgi ara bölmesi (ERGIC)'ne nükleokapsidin de ulaşmasıyla olgun virion oluşur ve ekzositozla salınım gerçekleşir<sup>33-34</sup>.

## Tropizm

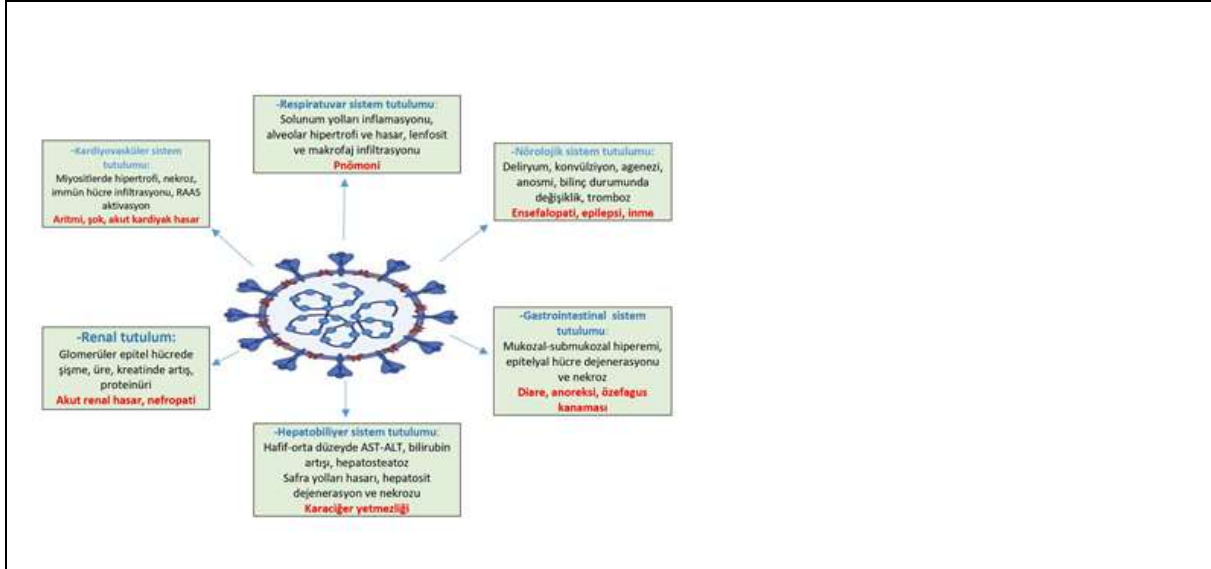
ACE-2, anjiyotensin I'in anjiyotensin II'ye dönüşümünden sorumlu bir karboksipeptidazdır. Vücutta burun, akciğer, ileum, kalp, göz, karaciğer, mesane, böbrek, pankreas, beyin, prostat, testis ve plasentada eksprese edilir<sup>35</sup>. SARS-CoV-2 S proteininin bağlanmasıyla ACE-2 aktivitesi ve yüzey ekspresyonu azalır. Bu nedenle hücre yüzeyinde ACE-2 ekspresyonunun kaybı, renin-anjiyotensin sisteminde bir dengesizlik yaratarak anjiyotensin II'nin metabolizasyonunun azalmasına ve *anjiyotensin II Tip 1a (AT1R)* reseptör stimülasyonuna yol açabilir. Sonuçta pulmoner kan damarlarında kaçak oluşması ve dolayısıyla şiddetli akut akciğer hasarıyla ilişkili olabilir. Aspirasyon pnömonisine bağlı akut akciğer hasarı gelişen farelerde, rekombinant SARS-CoV S proteininin enjeksiyonunun akciğer yetmezliğini artırdığı gösterilmiştir. SARS-CoV-2 S proteininin benzer etkileri olduğu düşünülmektedir<sup>36</sup>. ACE-2'ye SARS-CoV bağlanmasının, aynı zamanda bir *tümör nekroz faktör alfa (TNF- $\alpha$ )* dönüştürücü enzim olarak da bilinen *ADAM17* tarafından ACE-2'nin çözünür bir forma dönüştürülerek atılımını artırabileceği gösterilmiştir. *TNF- $\alpha$*  gibi inflamatuvar sitokinler, ACE-2 atılımını artırabilir<sup>37</sup>. Ayrıca, *AT1R*'nin *nükleer faktör kappa B (NF- $\kappa$ B)* ve *ADAM17*'nin up-regülasyonuna ve bunun da hücre zarında bağlı formdaki TNF- $\alpha$ 'yı serbest formdaki TNF- $\alpha$ 'ye dönüştürebileceği bilinmektedir. Dolayısıyla burada ACE-2 kaybının *AT1R* sinyal yolağının aşırı uyarılmasına ve ardından *NF- $\kappa$ B* ve *ADAM17*'nin up-regülasyonuna yol açarak ACE-2 atılımının yol açtığı kısır bir döngü oluşabilir<sup>38</sup>. *TMPRSS2* ayrıca ACE-2'nin işlenmesine de katılabilir. Çözünür formdaki ACE-2, biyolojik olarak aktif kalır ve S protein bağlanması için rekabet eder. Ayrıca, ACE-2'nin SARS-CoV'ye bağlandıktan sonra endositoza uğradığı bildirilmiştir<sup>39</sup>. *In vitro* olarak ACE-2'nin interferon (IFN) ile uyarılan bir geni olduğu bildirilmiş; bu durum ise hücrel inflamatuvar yanıtın dolaylı olarak SARS-CoV-2 enfeksiyonunu artırabileceğini düşündürmüştür<sup>40</sup>.

SARS-CoV enfeksiyonunda farklı reseptörlerin aracılık ettiği bildirilmiştir. *DC-SIGN* ve *L-SIGN*, ACE-2'den bağımsız olarak SARS-CoV'ün hücreye girişi için alternatif reseptörlerdir. Bir yüzey transmembran glikoproteini olan *CD147*, SARS-CoV, Human immün yetmezlik virüs-1 (HIV-1) veya Kızamık virüsü ile enfeksiyonu artırabildiğinden hücreye giriş için ortak bir reseptörü temsil edebilir. Chen ve arkadaşları *Cyclophilin A*'ya bağlı SARS-CoV N proteininin *CD147* ile etkileşime girebileceğini göstermiştir<sup>41</sup>. N proteini, matriks metallopeptidazların ekspresyonunda rol oynar ve *integrin*, *monokarboksilat taşıyıcı proteinler*, *siklofilinler* veya *caveolin-1* gibi çeşitli proteinlerle etkileşime girebilir. *Cyclophilin A* -*CD147* etkileşimi, inflamatuvar tepkilerin düzenlenmesinde ve çeşitli inflamatuvar aracılı hastalıkların patogenezinde yer almıştır. Bununla birlikte, *Cyclophilin* inhibitörü *Alisporivir in vitro* SARS-CoV-2'yi inhibe edebilmesine rağmen, bugüne kadar *CD147*'nin doğrudan SARS-CoV-2 bağlanma reseptörü olduğuna dair hiçbir kanıt yoktur<sup>42</sup>.

Yapısal bir protein olan *vimentin*, viral giriş sırasında SARS-CoV S proteini ile etkileşime girebildiği için bir ko-reseptör görevi görebilir. Ek olarak, koku epitelinde eksprese edilen *hücrel reseptör nöropilin-1 (NRP1)*'in SARS-CoV-2 enfeksiyonunu kolaylaştırdığı gösterilmiştir. S proteini ile *NRP1* arasındaki etkileşim, virüsün koku alma sistemi yoluyla sinir sistemine girmesini sağlayabilir<sup>43</sup>. Virüsün ana hedef hücre ve organları Şekil 1'te gösterilmiştir.

## Patofizyoloji

COVID-19'un vücutta en çok etkilediği organ akciğerlerdir. Damlacık ve temas yoluyla bulaşan SARS-CoV-2, vücutta ilk olarak nazal kavite ve farenkste replike olmaya başlar ve alt solunum yollarına doğru ilerler. Akciğerlerdeki ana hedef, tip II pnömositlerdir. Mevcut veriler, tip II pnömositler ile aynı bazal membranı paylaşan ve yüksek oranda ACE-2 eksprese eden kapiller endotel hücrelerinin akciğerlerdeki diğer hedef hücre olduğunu göstermektedir. COVID-19 pnömonisi, atipik bir viral pnömonidir. Histopatolojik bulgular non-spesifik olmasına karşın önemlidir. Akciğerlerde COVID-19 ile ilişkili patolojik değişiklikler; genellikle bilateral ödem, protein veya fibrinden zengin alveolar eksüda ve tip II pnömositlerin yaygın reaktif hiperplazisi ile yaygın alveoler hasarı içerir<sup>44-45</sup>.



Şekil 1. SARS-CoV-2 enfeksiyonunda etkilenen/tutulan sistem ve organlar.

\* Yang, Y.; Shen, C.; Li, J.; Yuan, J.; Yang, M.; Wang, F.; et al. Exuberant elevation of IP-10, MCP-3 and IL-1ra during SARS-CoV-2 infection is associated with disease severity and fatal outcome. Infect. Dis. 2020.

## İmmünopatogenez

### 1. Hücresel İmmünite

#### 1.1 Doğal İmmün Yanıt

Fagositler hücreler, patojenler tarafından eksprese edilen moleküllerin (*PAMP*), yüzeylerinde bulunan reseptörler tarafından (*PRR*) tanınması sonrası aktive olurlar. Endozomal reseptörler olan *Toll Like Reseptör (TLR) 3*, *TLR7*, *sitozolik retinoik asitle indüklenebilir gen 1* ve *melanom diferansiyasyonu ilişkili protein 5*'in SARS CoV ve MERS CoV'u tanıdığı gösterilmiştir. Bunun sonucunda, *NF- $\kappa$ B* ve *interferon düzenleyici transkripsiyon faktör (IRF3)* yolları aracılığıyla *tip I IFN* ve diğer proinflamatuvar sitokinler sentez edilir. SARS-CoV-2 immün sistemden kaçarak, *tip I IFN* yanıtında gecikmeye ve dolayısıyla daha yüksek viral yük ve daha şiddetli immün yanıtı yol açar<sup>46</sup>. İmmünopatogenezin anahtar bileşenlerinden biri, dokularda makrofaj ve nötrofil birikimidir. Primer immün yanıtta sorumlu olan monosit/makrofaj ve dendritik hücreler (DC) *tip I IFN* üretiminin esas sorumluları olmasına rağmen, bugüne kadar yapılan çalışmalar hastalığın ilk aşamalarında sitokin sekresyonunun minimum düzeyde kaldığını göstermiştir.

En güçlü antijen sunan hücreler olan dendritik hücreler, doğal ve kazanılmış immünitenin başlatılmasında öncü rol oynar. Bu nedenle, immün yanıtta kaçan virüslerin doğrudan hedefidirler. Dendritik hücrelerin koronavirüslere duyarlılığı üzerine yapılan çalışmalar, SARS-CoV'a karşı güçlü *IFN* uyarımının olmadığı, düşük düzey bir yanıt geliştiğini göstermiştir. Yüzeyinde ACE-2 bulunan dendritik hücrelerin SARS-CoV-2 tarafından enfekte edilip edilmediklerine ilişkin sorular halen devam etmektedir<sup>47</sup>. COVID-19 hastalarında, kandaki DC yüzdesi hastalığın şiddeti ile değişmemiş, ancak şiddetli hastalık geçiren kişilerde hafif hastalığa geçirenlere kıyasla *CD86* ekspresyonunda bir azalma görülmüştür. DC alt kümelerinde farklılık geliştiği, CD1c(+) DC'lerin hastalık şiddeti ile azaldığı ve akut solunum sıkıntısı sendromunda (ARDS) akciğerde toplandığı görülmüştür<sup>48</sup>.

Monositler ve makrofajlar, solunum yollarının önemli doğal immün yanıt elemanlarıdır. Akciğer enfeksiyonunda, alveolar makrofajlar *tip I IFN* üretimini başlatırlar. Alveolar makrofajlar ACE-2'yi düşük düzeyde eksprese ederler. SARS-CoV-2, SARS-CoV aracılı patogenezin temel bir özelliği olarak makrofajları doğrudan enfekte edebilir<sup>49</sup>. SARS-CoV ve MERS-CoV hücresel yanıtı ile ilgili çalışmalar, hastalığın başlangıç aşamasında görülen gecikmiş sitokin yanıtından ve ilerleyen aşamalarda yüksek düzey proinflamatuvar sitokin, düşük düzey *IFN* yanıtından makrofajların sorumlu olduğunu göstermiştir. Bununla

birlikte, viral enfeksiyonun ilk aşamalarındaki *IFN* yanıtı, antiviral immünite için anahtar basamaktır. Sekonder hızlı sitokin salımı ile akciğerde toplanan proinflamatuar hücrelerin doku hasarından sorumlu olduğu varsayılmaktadır<sup>50</sup>. COVID-19 sırasında klasik monositlerde (CD14 + ve CD16 - ) azalma, intermedie (CD14 + ve CD16 - ) ve klasik olmayan (CD14 - ve CD16 - ) monositlerde artış gözlenmiştir<sup>49</sup>. SARS-CoV enfeksiyonunun bir fare modelinde, gecikmiş *tip I IFN* salınımı, inflamatuvar makrofajların birikmesi yoluyla fataliteyi artırmış, makrofajların tükenmesi viral yükte artışa yol açmaksızın fatalite üzerinde koruyucu bir etkiye yol açmıştır. COVID-19 ile enfekte hastaların bronkoalveolar lavajında, ağır hastalarda makrofajlar ve nötrofiller artmıştır. Ek olarak, makrofajlar ağır şiddette hastalarda M1 benzeri bir gen ekspresyon modeline sahipken, orta şiddette hastalarda M2 benzeri bir makrofaj profiline sahip olduğu görülmüştür<sup>51</sup>. *Tip I IFN*, mikroçevrelere bağlı olarak makrofaj polarizasyonunu indükleyebilir<sup>49</sup>. Şiddetli COVID-19 tablosunda, M1 makrofajlar proinflamatuar sitokin profiline sahiptir ve sitokinlerle ilişkili olarak klinik bulguların şiddetinde anahtar role sahip olmaları muhtemeldir.

Nötrofiller, serbest oksijen radikalleri, sitokinler, proteaz ve nötrofil hücre dışı tuzakları (*NETs*) üreterek patojenik inflamasyonun gelişiminde merkezi rol alır. *NET*'ler, enfeksiyonu kontrol altına almak için temel özelliklerden birisidir, ancak bazı patojenik etkileri tarif edilmiştir. Önceki koronavirüs enfeksiyonlarında, nötrofil hastalık kontrolünden çok hastalığı ağırlaştırıcı başlıca aktör olarak görünmektedir<sup>52</sup>. Koronavirüs enfeksiyonu sırasında nötrofil tüketen bir hayvan modeli, PMNL'in etkili bir antiviral cevabın yanısıra akciğer hasarını indüklediğini göstermiştir. Nötrofil sayısındaki artış, hastalığın şiddeti ile ilişkilendirilmiştir. Tek hücreli RNA sekansına dayalı periferik kan mononükleer hücre profili, ciddi vakalarda bildirilen nötrofil genişlemesi ile tutarlı bir progenitor profili ifade eden artmış nötrofil alt popülasyonunu göstermiştir. COVID-19 sırasında *NET*'ler üzerinde yapılan yeni bir çalışma, *hücresiz DNA*, *miyeloperoksidaz DNA* ve *sitrüline histon H3*'ün serum seviyesinin arttığını göstermiştir. Entübasyon uygulanan ve uygulanmayanlar karşılaştırıldığında mekanik ventile olan hastalarda bu oranlar artmıştır. Histolojik düzeyde nötrofil infiltrasyonu otopsi örneklerinde doğrulanmıştır<sup>53</sup>.

Kompleman sistemi, bakteriyel, viral ve fungal enfeksiyonlara karşı immün yanıtta önemli rol oynar. Fagositozu kolaylaştırır ve akut inflamatuvar cevaba aracılık ederler. Koronavirüs enfeksiyonu sırasında akut akciğer hasarına katılırlar. Bir MERS-CoV enfeksiyonu fare modelinde bir *anti-C5a antikorunun* kullanılması, viral yükte artış olmaksızın solunum semptomlarında iyileşme sağlamıştır. SARS-CoV-2 ile enfekte beş kritik hastadan alınan pulmoner ve kutanöz biyopsiler ile otopsi örneklerinin histolojisinin incelendiği yakın zamanlı bir çalışma, *C5b-9*, *C4d* ve *Mannan bağlayıcı leklin serin proteaz 2 (MASP2)* depozitlerinin bulunduğu kompleman aracılı mikrotrombotik hastalığı göstermiştir<sup>54</sup>.

CD8 + T lenfositleri ile Natural Killer (NK) hücreleri, enfekte olmuş hücreleri öldürerek viral replikasyonu baskırlar. Spesifik NK hücre eksikliği bulunan hayvan modellerinde oluşturulan SARS-CoV enfeksiyonunda, hastalık şiddeti artmamıştır<sup>55</sup>. COVID-19 sırasındaki klinik çalışmalar, şiddetli hastalıkta NK hücre sayısında muhtemel viral yayılıma bağlı olarak azalma olduğunu, bu bulgunun hafif hastalıkta görülmediğini göstermiştir. NK hücre sayısının dinamik profili, kritik hastalarda ölen ve hayatta kalan gruplar arasında farklılık göstermemiştir. NK hücre sayısının düzelmesine kadar geçen süre, klinik iyileşmeye paralel bulunmuştur. Bununla birlikte, SARS-CoV'e bağlı ciddi hastalık tablosu, *NKG2a*'nın artmış membran ekspresyonu ve *CD107a* +, *IFN $\gamma$*  +, *interlökin (IL) 2* + ve *TNF-a* + NK hücrelerinde düşüş ile ilişkilendirilmiştir. Wilk ve arkadaşları, NK *CD56* + hücrelerinin tüm COVID-19 hastalarında azaldığını ve ARDS hastalarında NK *CD56* - hücrelerinin azaldığını göstermiştir<sup>56</sup>.

## 1.2 Kazanılmış İmmün Yanıt

Kazanılmış bağışıklık, sitotoksik CD8 + lenfosit ile enfekte olmuş hücrelerin tanınmasında ve öldürülmesinde ve CD4 + lenfosit ile humoral antijene özgü bir yanıt oluşumunda önemli rol oynar. COVID-19 sırasında lenfopeni sıklıkla görülür. Toplam lenfosit, CD4 + T hücre, CD8 + T hücre, NK hücre ve B hücre sayısında azalma görülür. Lenfosit seviyesi, hafif hastalığa kıyasla şiddetli hastalıkta daha düşük gözlenmiştir. Ayrıca CD8 + T hücre sayısındaki azalma ve CD4/CD8 oranında artış hastalık şiddeti ile ilişkili bulunmuştur. Klinik iyileşmede, lenfosit sayılarında düzelleme görülür<sup>57</sup>. COVID-19'da lenfositler aktive ancak disfonksiyoneldirler. İyileşen 128 hastanın incelendiği bir çalışmada, CD8 + T hücre yanıtı, CD4 + T hücre yanıtından daha sık gözlenmiştir. Zhou ve arkadaşları, CD4 + ve CD8 + T hücrelerindeki *CD69*,

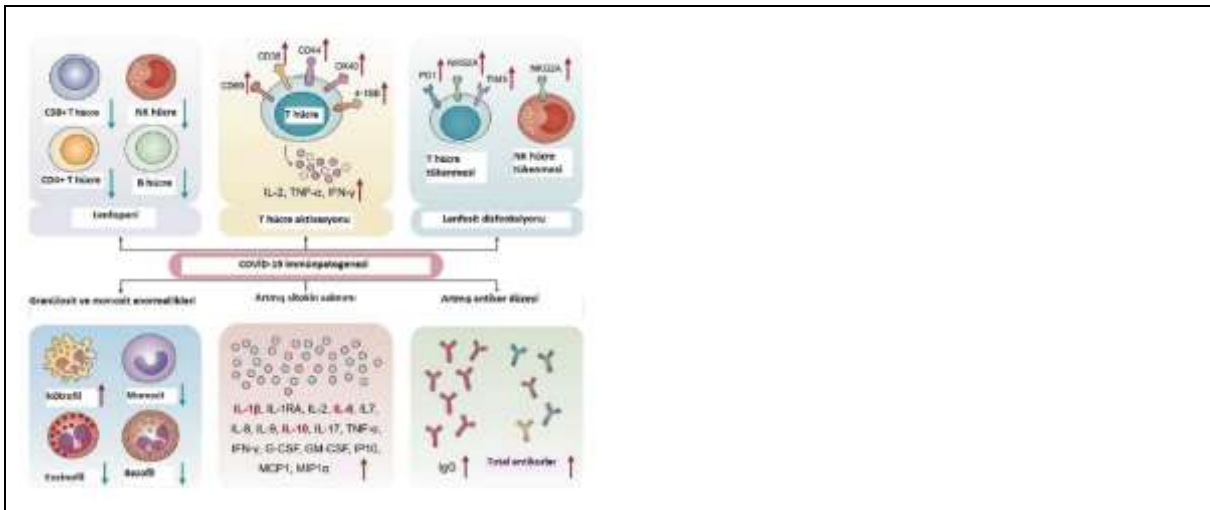


*CD38* ve *CD44* yüzey reseptörlerinin, COVID-19 hastalarında sağlıklı kontrollere kıyasla yüksek oranda eksprese edildiğini bildirmiştir. Klonal genişleme ve immün yanıtın uyarılmasında anahtar moleküller olan *OX40* ve *41BB*'nin ekspresyonu, özellikle ağır COVID-19 hastalarında T hücre aktivasyonuna işaret ederek önemli ölçüde artmıştır. COVID-19 hastalarında T hücreleri yorgunluk gösterir. Bu nedenle, yüksek yorgunluk seviyesi ve T hücrelerinin fonksiyonel çeşitliliğinin azalması, COVID-19 hastalarında ciddi progresyonu öngörebilir<sup>58</sup>.

SARS enfeksiyonunda, viral yapısal proteinler olan E, S, M ve N'nin antijen spesifik T hücre yanıtını uyardığı gösterilmiştir. Ortaya çıkan veriler, insanlar arasında yaygın olarak dolaşan koronavirüslere (HCoV-OC43, HCoV-229E, HCoV-NL63 ve HCoV-HKU1) özgü hafıza CD4 + T hücrelerinin, SARS-CoV-2 epitopları ile çapraz reaksiyona girebileceğine işaret etmektedir. Mateus ve arkadaşları, SARS-CoV-2 genomu boyunca 142 T hücre epitopunu haritalandırmış ve virüse teması bulunmayan kişilerde hafıza CD4 + T hücrelerinin varlığını göstermiştir. Koronavirüslere karşı önceden var olan hafıza CD4 + T hücre repertuarı, SARS-CoV-2 ile çapraz reaksiyona yol açabilir ve COVID-19 prognozunda görülen farklılıklara katkıda bulunabilir. Nötralizan antikor gelişimi, hastalık seyrinde ve re-enfeksiyon gelişiminin önlenmesinde çok önemlidir. Koronavirüs S proteinine karşı gelişen antikorlar, koruyucu nötralizan antikorlardır, ancak nötralizan olmayan antikorların diğer viral proteinlere bağlanabildiği tanımlanmıştır<sup>59</sup>.

COVID-19'da ağır vakalarda, plazmablast oranının artmasıyla güçlü bir IgG yanıtı bildirilmiştir. Hastaların < % 40'ında hastalığın 7. gününde antikor tespit edilmiş ve bu oranın 15. günde % 100'e yükseldiği gösterilmiştir. COVID-19'lu hastalarda, özellikle şiddetli vakalarda B hücresi aktivasyon ve proliferasyonunun kötü prognozla ilişkili olduğunu gösterilmiştir. Bununla birlikte, ciddi vakalarda SARS-CoV-2'ye özgü antikor titrelerinde hızlı bir düşüş gösterilmiştir<sup>58</sup>. Antikor yanıt kinetiğinin; hastalık şiddeti, anti-N, anti-S antikorların antijen spesifitesi, çevresel sitokin farklılığı veya majör lenfopeni ile değişkenlik gösterdiği belirtilmiştir. Hümmoral immünitenin uzunluğunda, uzun ömürlü plazma hücresi ve hafıza B hücre yanıtı ve devamlılığı önem arzeder<sup>60</sup>.

Antikor bağımlı güçlendirme (ADE), viral enfeksiyonlarda önceden var olan sub-nötralizan antikorların virüs girişini ve replikasyonunu arttırdığı bir fenomendir ve Ebola ve Dang virüsleri dahil olmak üzere çeşitli virüsler için gözlemlenmiştir. MERS-CoV S proteininin reseptör bağlanma alanını hedefleyen nötralizan monoklonal antikorun Fc kısmı aracılığıyla hücrelere virüs girişini arttırdığı gösterilmiştir. Bu, antikor üretimindeki artış ile COVID-19'daki kötü prognoz arasındaki ilişkiyi destekler. Bununla birlikte, ADE aracılı inflamatuvar yanıt ve önceden var olan antikorların COVID-19'da hastalığın ilerlemesi ve ciddiyeti ile ilişkisi daha fazla araştırma gerektirir<sup>58</sup>. Şekil 2'de SARS-CoV-2 enfeksiyonunda immünopatogenez özetlenmiştir.



**Şekil 2. SARS-CoV-2 immünopatogenezini.**

\*Jamwal, Sumit et al. "An updated insight into the molecular pathogenesis, secondary complications and potential therapeutics of COVID-19 pandemic." Life sciences vol. 257 (2020): 118105. doi:10.1016/j.lfs.2020.118105

## 2. Moleküler İmmün Yanıt

Ağır COVID-19 hastalarında düşük düzeyde *tip I IFN* salınımının olduğu, gecikmiş bir doğal immün yanıt, sonradan alevlenen proinflamatuvar sitokin yanıtı ile ilişkilendirilmiştir. Zamanında verilen sitokin yanıtı, nötrofillerin hızlı bir şekilde toplanması, viral klirens ve minimum immün doku hasarı ile kazanılmış immüniteye geçiş için gereklidir. Ağır vakalarda, klinik tablo şiddetli pnömoni, ARDS, viral sepsis, multipl organ disfonksiyon sendromu (MODS)'u içerir. Sepsis ve MODS gelişiminde iki aşama tanımlanmıştır. Birinci aşama; sistemik sitokin salınımı, nötrofil kaynaklı reaktif oksijen ürünleri (ROS), sitotoksik lenfositler ve endotelial hasarın yol açtığı sistemik inflamatuvar cevaptan oluşur. Daha sonraki aşama, inflamasyonun organlarda artarak devam etmesi sonucu parankimal hasar gelişimidir<sup>61</sup>.

Pulmoner yetmezlik, MODS sırasında akut akciğer hasarı veya ARDS olarak görülür. Patogenezde sitokinler, inflamatuvar yanıtı başlatılmasını ve artırılmasını sağlarlar. Bu sitokinlerin bazıları *IL-1*, *IL-6*, *IL-8*, *IL-10* ve *TNF- $\alpha$* 'dır. Nötrofillerin sitokin etkisiyle inflamasyon alanına gelmesi ve aktivasyonu, epitelyal akciğer hasarını başlatan ana mekanizmadır<sup>61</sup>. SARS-CoV-2 sırasında gelişen sitokin artışıyla ilgili yapılan çalışmalar, hafif ve orta vakalarda sağlıklı kontrol grubuna kıyasla daha yüksek *IL-1 $\beta$* , *IL-1RA*, *IL-2RA*, *IL-6*, *IL-7*, *IL-8*, *IL-9*, *IL-10*, *FGF*, *GCSF*, *GMCSF*, *IFN $\gamma$* , *interferon inducible protein 10 (IP 10)*, *monosit kemotaktik protein 1 (MCP-1)*, *makrofaj inflamasyon protein-1a (MIP-1a)*, *MIP-1b*, *TNF- $\alpha$*  ve *vasküler endotelial growth faktör (VEGF)* ekspresyonu olduğu ve adaptif, kontrollü bir immün yanıt geliştiğini göstermiştir. Ciddi COVID-19'da, orta şiddetteki vakalara kıyasla *IL-2*, *IL-7*, *IL-17*, *IL-10*, *MCP-1*, *MIP-1a* ve *TNF- $\alpha$*  artışıyla beraber sitokinlerin indüklediği immünpatolojik bir mekanizma gözlenmiştir. *TNF- $\alpha$* , *IL-1*, *IL-8* ve *IL-6*'nın şiddetli vakalarda şiddetli olmayan gruba kıyasla daha fazla arttığı gözlenmiştir<sup>62</sup>. *TNF- $\alpha$* 'nın, SARS-CoV enfeksiyonunda ACE-2 atılımını arttırdığı ve akciğer hasarına katkıda bulunduğu gösterilmiştir. SARS-CoV'a benzer şekilde COVID-19'da, piroptoz tetiklenebilir ve fazla miktarda *IL-1 $\beta$*  üretimi ile kontrolsüz sitokin salınımına yol açar. Şiddetli vakalarda artan *IL-6/IFN $\gamma$*  oranı, immünpatolojik sitokin yanıtının bir göstergesidir. İmmüntromboz, şiddetli COVID-19'da görülen diğer önemli patolojik süreçtir. Viral ARDS patofizyolojisinde ve sepsiste immüntromboz gelişiminde NETosis, sitokin, ROS ve proteaz salınımı ile nötrofil aktivasyonu önemli rol oynar<sup>52</sup>.

Ailevi hemofagositik lenfohistiyositoz (HLH), altta yatan bir otoimmün hastalığı komplike eden sekonder HLH olarak makrofaj aktivasyon sendromu (MAS), MODS ile birlikte şiddetli sepsiste ortaya çıkan sepsis benzeri MAS, "sitokin fırtınası sendromunun" üyeleridir. Şiddetli COVID-19'un bazı özellikleri HLH veya MAS'dan farklıdır. Makrofajlar tarafından hipersitokin salınımı, nötrofillerin kemotaksisi ve aktivasyonu ile oluşan immün disregülasyon, ARDS ile daha çok akciğerde sınırlı görünmektedir<sup>63</sup>.

Şiddetli COVID-19 sırasında viral immünosüpresyonun, lenfopeni, NK ve CD8 + T hücre profilinde tükenme ve interferon süpresyonundan kaynaklandığı kabul edilir. Primer immün yanıtın gecikmesi sonrası, *tip I IFN*'un bulunmadığı, *IL-6*, *IL-1*, *IP-10*, *IL-18*, *GM-CSF* ve *IFN $\gamma$*  gibi sitokinlerin aşırı salındığı proinflamatuvar tipte sekonder yanıt ortaya çıkar. Artarak devam eden viral saçılım, sitokin salınımını ve T hücresi yanıtını uyarır, bu durum akciğer hasarını ve ARDS'yi indükler<sup>63</sup>.

## İmmün Sistemden Kaçış

Koronavirüsler, immün sistemden, özellikle doğal immün yanıtın kaçmak için iyi gelişmiş silahlara sahiptir. Moleküler immün kaçış mekanizması, SARS-CoV-2 için henüz doğrulanmamıştır, ancak önceki SARS ve MERS deneyimleri, bazı potansiyel immün kaçış yollarına işaret etmektedir. Virüsün tanınmasını engellemek için yaygın olan bir mekanizma, PRR tanınmasına karşı koruma sağlayan çift vezikül oluşumudur. Virion yapısında görev alan yapısal proteinler arasında bulunan SARS N proteininin, konak immün reseptörlerinin RNA'yı tanınmasına müdahale ettiği düşünülmektedir. SARS-CoV ve MERS-CoV *protein M*, *TNFR ilişkili faktör 3* ve *TANK bağlayan kinaz (TRAF3-TBK)* kompleksini bozmak için *TRAF3* ile etkileşime girer. MERS-CoV yapısal olmayan proteinlerinden; *4a (NSP4a)*, *4b (NSP4b)* ve *papain benzeri proteazın (PL-pro)* immün kaçış fonksiyonuna sahip olduğu ifade edilir. *NSP4a*, *protein activator of protein kinase R (PACT)* ile etkileşime girerek dsRNA tanınmasını önler ve *protein kinaz R*'yi inhibe eder. *NSP4b*, *OASRNase L* yolunu antagonize ederek *RNase L* aktivasyonunu sınırlar ve *TBK1*'e bağlanır. Ayrıca *NSP15*, *RNA sensör* aktivasyonunu, ancak bilinmeyen yoldan sınırlar. *PL-pro proteaz*, *ISG15* etkisini inhibe etmek için de-ubikitinasyonu kullanır. Ek olarak, SARS-CoV ve MERS-CoV'daki *NSP 1*, konak hücre mRNA'sını parçalar.

Diğer potansiyel mekanizmalar, antijen sunan hücrelerde majör doku uygunluk kompleksi (MHC) ekspresyonunun azaltılması, viral mutasyon, immün hücre tükenmesi, Th2 hücre profiline kayma veya immün ayrıcalıklı sahada yer almaz<sup>64</sup>.

## Kaynaklar

1. Tanrıverdi ES, Yakupoğulları Y, Otlu B. COVID-19 etkeninin özellikleri. Çiçek C., editör. Mikrobiyoloji ve COVID-19. 1. Baskı. Ankara: Türkiye Klinikleri. ;2020;7-14.
2. Tyrell D, Bynoe M. Cultivation of a novel type of common cold virus in organ cultures. *BrMed J*. 1965;1:1467-1470.
3. Perlman S, McIntosh K. Coronaviruses, Including Severe Acute Respiratory Syndrome (SARS) and Middle East Respiratory Syndrome (MERS). In Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases, 9.th ed. (Eds: Bennett JE, Dolin R, Blaser MJ): 2072-2080. Philadelphia, Elsevier. 2020.
4. İnal S. Middle East Respiratory Syndrome-Coronavirus (MERS-CoV) Enfeksiyonu: Ortadoğu Solunum Yetmezliği Sendromu-Koronavirüs Enfeksiyonu. *Okmeydanı Tıp Dergisi*. 2016;32(Ek Sayı):37-45.
5. Chan PKS, Chan MCW. Tracing the SARS-coronavirus. *J Thorac Dis*. 2013;5:118-121.
6. Zaki AM, van Boheemen S, Bestebroer TM, Osterhaus AD, Fouchier RA. Isolation of a novel coronavirus from a man with pneumonia in Saudi Arabia. *N Engl J Med*. 2012;367:1814-1820.
7. Wise J. Patient with new strain of coronavirus is treated in intensive care at London Hospital. *BMJ*. 201;345:e6455.
8. Donnelly CA, Malik MR, Elkholy A, Cauchemez S, Van Kerkhove MD. Worldwide reduction in MERS cases and deaths since 2016. *Emerg Infect Dis* 2019;25:1758-1760.
9. Zhu N, Zhang D, Wang W, et al. A novel coronavirus from patients with pneumonia in China, 2019. *N Engl J Med*. 2020;382:727-733.
10. Lu R, Zhao X, Li J, Niu P, Yang B, Wu H, et al. Genomic characterization and epidemiology of 2019 novel coronavirus: implications for virus origins and receptor binding. *Lancet*. 2020;395(10224):565-74.
11. Coronaviridae Study Group of the International Committee on Taxonomy of Viruses. The species Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus: classifying 2019-nCoV and naming it SARS-CoV-2. *Nat Microbiol* 2020;5:536-44.
12. Zhou P, Yang X-L, Wang X-G, et al. A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. *Nature* 2020;579:270-273.
13. Tang X, Wu, C, Li X, Song Y, Yao X, Wu X et al. On the origin and continuing evolution of SARS-CoV-2. *Natl Sci Rev* 2020.
14. Tan W, Zhao X, Ma X, Wang W, Niu P, Xu W et al. A novel coronavirus genome identified in a cluster of pneumonia cases-Wuhan, China 2019-2020. *China CDC Weekl*. 2020;2(4):61-2.
15. Lam TT-Y, Shum MH-H, Zhu H-C, Tong YG, Ni X-B, Liao YS. Identifying SARS-CoV-2 related coronaviruses in Malayan pangolins. *Nature*. 583(7815):282-285.
16. Perlman S. Another decade, another coronavirus. *N Engl J Med*. 2020;382:760-1.
17. Tian X, Li C, Huang A, Xia S, Lu S, Shi Z. Potent binding of 2019 novel coronavirus spike protein by a SARS coronavirus specific human monoclonal antibody. *Emerg Microbes Infect*. 2020;9(1):383-385.
18. Yan R, Zhang Y, Li Y, Xia L, Guo Y, Zhou Q. Structural basis for the recognition of SARS-CoV-2 by full-length human ACE2. *Science*. 2020;367:1444-8.
19. Bao L, Deng W, Huang B, Gao H, Liu J, Ren L et al. The pathogenicity of SARS-CoV-2 in hACE2 transgenic mice. *Nature*. 2020;583:830-3.
20. Hoffmann M, Kleine-Weber H, Schroeder S, Krüger N, Herrler T, Erichsen S. SARS-CoV-2 cell entry depends on ACE2 and TMPRSS2 and is blocked by a clinically proven protease inhibitor. *Cell*. 2020;181:271-80.
21. Korber B, Fischer WM, Gnanakaran S, Yoon H, Theiler J, Abfalterer W et al. Tracking changes in SARS-CoV-2 Spike: Evidence that D614 increases infectivity of the COVID-19 virus. *Cell*. 2020;182:812-27.
22. Plante JA, Liu Y, Liu J, Xia H, Johnson BA, Lokugamage KG, et al. Spike mutation D614G alters SARS-CoV-2 fitness. *Nature* 2020 Oct 26. Epubahead of print.
23. Kampf G, Todt D, Pfaender S, Steinmann E. Persistence of coronaviruses on inanimate surfaces and their inactivation with biocidal agents. *J HospInfect*. 2020;104:246-251.
24. Van Doremalen N, Bushmaker T, Morris DH, Holbrook MG, Gamble A, Williamson BN et al. Aerosol and surface stability of SARS-CoV-2 as compared with SARS-CoV-1. *N Engl J Med*. 2020;382:1564-7.
25. Harmooshi NN, Shirbandi K, Rahim F. Environmental concern regarding the effect of humidity and temperature on 2019-nCoV survival: fact or fiction. *Environ Sci Pollut Res Int*. 2020;27:36027-36.
26. Özkul A. SARS-CoV-2 hücre kültürü. Çiçek C., editör. Mikrobiyoloji ve COVID-19. 1. Baskı. Ankara: Türkiye Klinikleri. 2020;30-2.
27. Bilgiç Z, Güner R. COVID-19: Patogenez, bulaşma yolları ve risk faktörleri. Aktaş F, editör. COVID-19: Pandemi Dersleri. 1. Baskı. Ankara: Türkiye Klinikleri. 2020;14-24.
28. Mousavizadeh, L.; Ghasemi, S. Genotype and phenotype of COVID-19: Their roles in pathogenesis. *J. Microbiol. Immunol. Infect*. 2020.
29. Lu, R.; Zhao, X.; Li, J.; Niu, P.; Yang, B.; Wu, H.; et al. Genomic characterisation and epidemiology of 2019 novel coronavirus: Implications for virus origins and receptor binding. *Lancet*. 2020;395:565–574.
30. Walls, A.C.; Park, Y.-J.; Tortorici, M.A.; Wall, A.; McGuire, A.T.; Velesler, D. Structure, Function, and Antigenicity of the SARS-CoV-2 Spike Glycoprotein. *Cell*. 2020;181:281–292.
31. Ho\_mann, M.; Kleine-Weber, H.; Schroeder, S.; Krüger, N.; Herrler, T.; Erichsen, S.; et al. SARS-CoV-2 Cell Entry Depends on ACE2 and TMPRSS2 and Is Blocked by a Clinically Proven Protease Inhibitor. *Cell*. 2020;181:271–280.

32. Wang, K.; Chen, W.; Zhou, Y.-S.; Lian, J.-Q.; Zhang, Z.; Du, P.; et al. SARS-CoV-2 invades host cells via a novel route: CD147-spike protein. *Microbiology* 2020
33. Masters, P.S. *The Molecular Biology of Coronaviruses*. In *Advances in Virus Research*; Elsevier: Amsterdam, The Netherlands., 2006; Volume 66, pp. 193–292.
34. Ogando, N.S, Dalebout, T.J, Zevenhoven-Dobbe, J.C., Limpens, R.W, van der Meer, Y. Caly, L. et al. SARS-coronavirus-2 replication in Vero E6 cells: Replication kinetics, rapid adaptation and cytopathology. *Microbiology* 2020.
35. Sungnak, W, Huang N., Bécavin C, Berg M, Queen R, Litvinukova M. et al. SARS-CoV-2 entry factors are highly expressed in nasal epithelial cells together with innate immune genes. *Nat. Med.* 2020, 26, 681–687.
36. Kuba K, Imai Y, Rao S, Gao H; Guo F, Guan B et al. A crucial role of angiotensin converting enzyme 2 (ACE2) in SARS coronavirus-induced lung injury. *Nat. Med.* 2005;11:875–879.
37. Lambert, D.W, Yarski, M., Warner, F.J, Thornhill, P, Parkin, E.T, Smith, A.I et al. Tumor Necrosis Factor- $\alpha$  Convertase (ADAM17) Mediates Regulated Ectodomain Shedding of the Severe-acute Respiratory Syndrome-Coronavirus (SARS-CoV) Receptor, Angiotensin-converting Enzyme-2 (ACE2). *J. Biol. Chem.* 2005;280:30113–30119.
38. Heurich, A., Hofmann-Winkler, H. Gierer, S. Liepold, T. Jahn, O. Pöhlmann, S. TMPRSS2 and ADAM17 Cleave ACE2 Differentially and Only Proteolysis by TMPRSS2 Augments Entry Driven by the Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus Spike Protein. *J. Virol.* 2014;88:1293–1307
39. Wang, S, Guo, F, Liu, K, Wang, H, Rao, S, Yang, P et al. Endocytosis of the receptor-binding domain of SARS-CoV spike protein together with virus receptor ACE2. *Virus Res.* 2008;136:8–15.
40. Ziegler, C.G.K., Allon, S.J, Nyquist, S.K, Mbanjo, I.M, Miao, V.N, Tzouanas, C.N et al. SARS-CoV-2 receptor ACE2 is an interferon-stimulated gene in human airway epithelial cells and is detected in specific cell subsets across tissues. *Cell* 2020.
41. Chen, Z.; Mi, L.; Xu, J.; Yu, J.; Wang, X.; Jiang, J. et al. Function of HAB18G/CD147 in Invasion of Host Cells by Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus. *J. Infect. Dis.* 2005;191:755–760.
42. Shilts, J.; Wright, G.J. No evidence for basigin/CD147 as a direct SARS-CoV-2 spike binding receptor. *bioRxiv* 2020.
43. Cantuti-Castelvetri, L. Ojha, R. Pedro, L.D. Djannatian, M., Franz, J., Kuivanen, S. et al. Neuropilin-1 facilitates SARS-CoV-2 cell entry and provides a possible pathway into the central nervous system. *bioRxiv* 2020.
44. Wu F, Zhao S, Yu B, et al. A new coronavirus associated with human respiratory disease in China. *Nature.* 2020;579:265-269.
45. Xu Z, Shi L, Wang Y, et al. Pathological findings of COVID-19 associated with acute respiratory distress syndrome. *Lancet Respir Med.* 2020;8:420-422.
46. Prompetchara, E.; Chutitorn, K.; Tanapat, T. Immune responses in COVID-19 and potential vaccines: Lessons learned from SARS and MERS epidemic. *Asian Pac. J. Allergy Immunol.* 2020.
47. Yuki, K., Fujigaki, M., Koutsogiannaki, S. COVID-19 pathophysiology: A review. *Clin. Immunol.* 2020;215:108427.
48. Sanchez-Cerrillo, I.; Landete, P. Aldave, B. Sanchez-Alonso, S. Sanchez-Azofra, A. Marcos-Jimenez, A. et al. Differential Redistribution of Activated Monocyte and Dendritic Cell Subsets to the Lung Associates with Severity of COVID-19. *MedRxiv* 2020.
49. Jafarzadeh, A.; Chauhan, P.; Saha, B.; Jafarzadeh, S.; Nemat, M. Contribution of monocytes and macrophages to the local tissue inflammation and cytokine storm in COVID 19: Lessons from SARS and MERS, and potential therapeutic interventions. *Life Sci.* 2020;257:118102.
50. Yuki, K., Fujigaki, M., Koutsogiannaki, S. COVID-19 pathophysiology: A review. *Clin. Immunol.* 2020;215:108427.
51. Liao, M., Liu, Y., Yuan, J., Wen, Y., Xu, G., Zhao, J. et al. Single-cell landscape of bronchoalveolar immune cells in patients with COVID-19. *Nat. Med.* 2020.
52. Twaddell, S.H., Baines, K.J., Grainge, C., Gibson, P.G. The Emerging Role of Neutrophil Extracellular Traps in Respiratory Disease. *CHEST.* 2019;156:774–782.
53. Barnes, B.J., Adrover, J.M., Baxter-Stoltzfus, A., Borczuk, A. Cools-Lartigue, J. Crawford, J.M. et al. Targeting potential drivers of COVID-19: Neutrophil extracellular traps. *J. Exp. Med.* 2020;217.
54. Gralinski, L.E., Sheahan, T.P., Morrison, T.E., Menachery, V.D., Jensen, K., Leist, S.R. et al. Complement Activation Contributes to Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus Pathogenesis. *mBio.* 2018;9:e01753-18
55. Li, C.K.; Xu, X. Host Immune Responses to SARS Coronavirus in Humans. In *Molecular Biology of the SARS-Coronavirus*; Lal, S.K., Ed.; Springer: Berlin/Heidelberg, Germany. 2010;259–278.
56. Wilk, A.J., Rustagi, A., Zhao, N.Q., Roque, J., Martínez-Colón, G.J., McKechnie, J.L., et al. A single-cell atlas of the peripheral immune response in patients with severe COVID19. *Nat. Med.* 2020;26:1070–1076.
57. Wang, F., Nie, J., Wang, H., Zhao, Q., Xiong, Y., Deng, L., et al. Characteristics of Peripheral Lymphocyte Subset Alteration in COVID-19 Pneumonia. *J. Infect. Dis.* 2020.
58. Yang L, Liu S, Liu J, Zhang Z, Wan X, Huang B, et al. COVID-19: immunopathogenesis and Immunotherapeutics. *Signal Transduct Target Ther.* 2020;5(1):128.
59. Mateus, J., Grifoni, A., Tarke, A., Sidney, J., Ramirez, S.I., Dan, J.M. et al. Selective and cross-reactive SARS-CoV-2 T cell epitopes in unexposed humans. *Science* 2020.
60. Crotty, S.; Ahmed, R. Immunological memory in humans. *Semin. Immunol.* 2004;16:197–203.
61. Wang, H.; Ma, S. The cytokine storm and factors determining the sequence and severity of organ dysfunction in multiple organ dysfunction syndrome. *Am. J. Emerg. Med.* 2008;26:711–715.
62. Yang, Y., Shen, C., Li, J., Yuan, J., Yang, M., Wang, F. et al. Exuberant elevation of IP-10, MCP-3 and IL-1ra during SARS-CoV-2 infection is associated with disease severity and fatal outcome. *Infect. Dis.* 2020.
63. Ichikawa, A., Kuba, K., Morita, M., Chida, S., Tezuka, H., Hara, H., et al. CXCL10-CXCR3 Enhances the Development of Neutrophil-mediated Fulminant Lung Injury of Viral and Nonviral Origin. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2013;187:65–77.

64. Kindler, E., Thiel, V., Weber, F. Chapter Seven—Interaction of SARS and MERS Coronaviruses with the Antiviral Interferon Response. In *Advances in Virus Research*; Ziebuhr, J., Ed.; Academic Press: Cambridge, MA, USA, 2016;96:219–243.

**Correspondence Address / Yazışma Adresi**

Behice Kurtaran

Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi

Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji

Anabilim Dalı, Adana, Turkey

e- mail: behicekurtaran@gmail.com

**Geliş tarihi/ Received:** 29.10.2020

**Kabul tarihi/Accepted:** 12.11.2020