

KLİMUD Haftalık Literatür Özetleri

COVID-19 TEDAVİSİ VE AŞI ÇALIŞMALARI

2. BÖLÜM





Klinik Mikrobiyoloji Uzmanlık Derneği (KLİMUD)

Haftalık Literatür Özetleri

Editör

Dr. Banu Sancak

Editör Yardımcıları

Dr. Tuba Dal

Dr. Nevgün Sepin Özen

Dr. Yeşim Beşli

Dr. Osman Sezer Cirit

Görsel Tasarım

Dr. İlke Toker Önder

Dr. Ekin Kırbaş

Dr. Aylin İrem Somun

"Makale Avcıları"ndan

Pandemi sürecinde en güncel ve en faydalı içeriklerin büyük emeklerle meslektaşlarımıza ulaşmasını sağlayan editörümüz Dr. Banu Sancak'a, Dr. Osman Cirit ve editör yardımcılarımıza, görsel tasarım ekibimize, çeviri grubumuza gösterdikleri üstün gayret için çok minnettarım. "Makale avcıları"; eminim ki gelecekte KLİMUD bünyesinde, pek çok yeni bilimsel kaynak oluşturma girişimine umut verici bir ışık tutmuştur. Bu güzel bilgi deryâsına bir su damlası kadar katkı verme fırsatı bulabildiğim için kendimi çok şanslı hissettim. Sağlıkla ve iyilikle...

Dr. Mehmet Soylu

Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji AD

Yaşamı tehdit eden, yaşam kalitesini kökünden değiştiren bir pandemi sürecinden geçiyoruz. Bu sürecin başından itibaren kısa vadede işimizle ilgili mücadelemizi verirken, uzun vadede yeni yaşantımıza adapte olmaya çalışıyoruz. Bir yandan insanlar arasına mesafe girerken bir yandan iletişim ortamında farklı deneyimler yaşıyoruz. İşte tam da bu zamanda KLİMUD derneğimizin öngörüsü ve destekleriyle ve genç meslektaşlarımızın heyecanı ile bütünleşen bir çalışma sayesinde sadece bilim dalımızın önemini değil birlikteliğimizin gücünü de gördük. Kısa sürede birçok literatüre ulaşarak farklı deneyimleri paylaştık. Makale ve değerlendirme sürecinde kazanımlarımız oldu. Farklı gözlemleri birlikte değerlendirdik. Motivasyon ve birlikte yapacaklarımız konusunda bizi yüreklendiren başta KLİMUD yönetim kuruluna, hocalarımıza, editörlerimize, genç meslektaşlarımıza, emeği geçen herkese çok teşekkür ediyorum. Mikrobiyoloji camiasının bütünlüğünü her zaman koruması ve birbirlerine desteklerinin sürmesi dileğiyle...

Dr. H. Nevgün Sepin Özen

Antalya EAH, Tıbbi Mikrobiyoloji

Geriye dönüp baktığımızda halen etkisini sürdüren COVID-19 pandemi sürecinin her aşamasında Makale Avcıları'nın aydınlatıcı izlerini görmek mümkün... Karantina günlerinin endişeli bilinmezliğinde yazılı sesimiz oldu. Hızla artan yayın akışında ihtiyacımız olan güncel ve nitelikli bilgilere en can alıcı noktalarıyla ulaşmamızı sağladı. Laboratuvarın iş yoğunluğu arasında bizlere akademik uğraş fırsatı tanıyarak bir parça nefes almamıza katkı sundu. Normalleşme sürecinin karmaşasında kılavuzluk görevini üstlenmeyi ihmal etmedi ve daha birçoğu... Şimdi dinlenme zamanı...Yenilenecek daha geniş bir kapsamda, güçlü birliktelikler ile araştırma ve bilimi rehber alarak yazmaya devam edeceğimize inanıyorum... Teşekkürler Makale Avcıları...

Dr. Sevim Meşe

İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi, Viroloji ve Temel İmmünoloji BD

BCG ile Uyarılmış Bağışıklık: COVID-19'a Karşı Koruma Sağlar mı?

BCG-induced trained immunity: Can it offer protection against COVID-19?

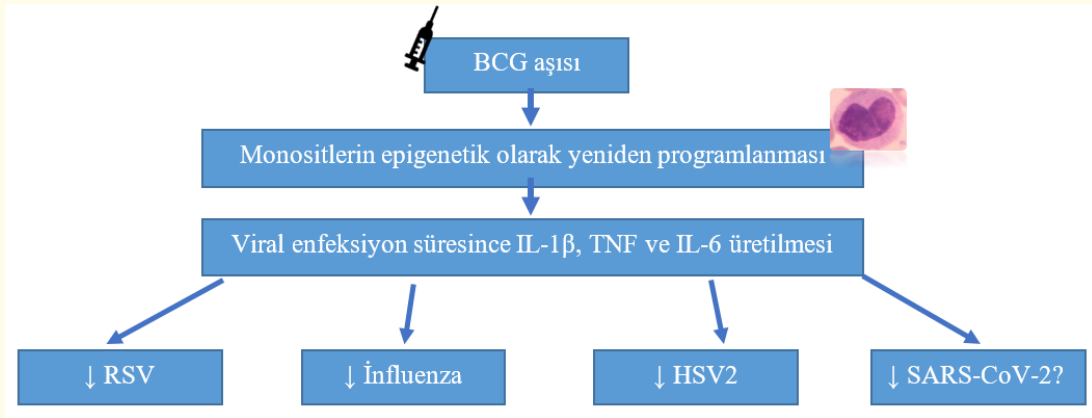
O'Neill LAJ et al. (Nat Rev Immunol 2020; 20(6):335-337; doi:10.1038/s41577-020-0337-y)

Derleyen: Dr. Büşra Betül Özmen Çapın (Marmara Üniversitesi Pendik EAH, Tıbbi Parazitoloji)



BCG aşısının koruyucu etkisi hangi enfeksiyonlar için söz konusudur?

- Bacillus Calmette-Guérin (BCG) 20. yüzyılın başında Paris Pastör Enstitüsü'nde tüberküloza karşı geliştirilmiş canlı atenüe bir aşıdır.
- Kullanıma girdiği günden bugüne tüm dünyada en çok kullanılan aşı olmuştur ve her yıl 130 milyon çocuk BCG ile aşılanmaktadır.
- 1920'lerde BCG aşısı Avrupa'da kullanılmaya başlandıktan sonra yenidoğan mortalitesi %50'ye varan oranda azalma göstermiştir. Mortalitede görülen bu azalmanın BCG aşısının yenidoğanları özellikle solunum yolu patojenleri ve neonatal sepsis etkenleri olmak üzere başka enfeksiyon etkenlerine karşı da koruma sağlamasıyla ilişkili olduğu düşünülmektedir.
- Bu hipotez, 2005 yılında Gine-Bissau'da yapılan bir çalışmada, BCG aşısının RSV enfeksiyonlarını azalttığına gösterilmesiyle güçlenmiştir.
- BCG aşısının benzer koruyucu etkisi Endonezya'dan ve Japonya'dan yapılan çalışmalarda erişkin bireyler üzerinde de gösterilmiştir. Son olarak Güney Afrika'da adölesanlarda yapılan bir çalışmada BCG aşılanması sonucunda solunum yolu enfeksiyonlarında %70 azalma olduğu bildirilmiştir (Şekil 1).

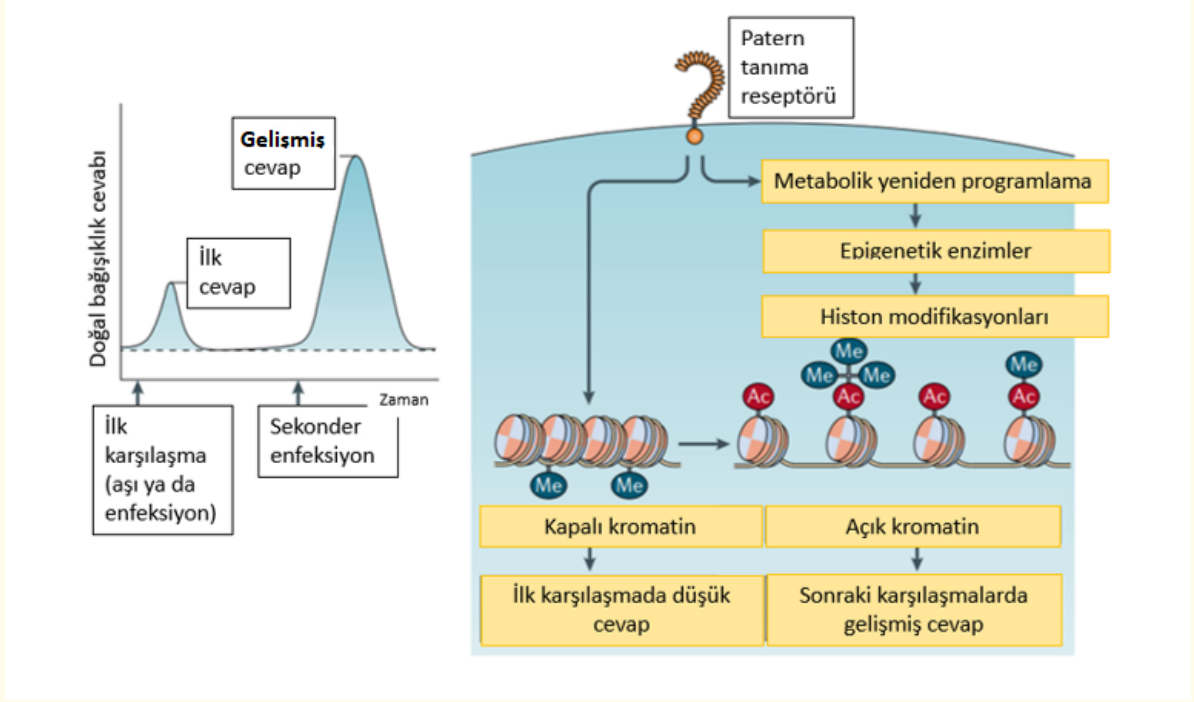


Şekil 1. BCG aşısının RSV, İnfluenza A ve HSV2 gibi çeşitli viral etkenlere karşı koruyucu olduğu saptanmıştır. SARS-CoV-2'ye karşı da böyle bir etkisinin olup olmadığı merak konusudur.

BCG aşısının çeşitli viral etkenlere karşı koruyucu olduğu hipotezinin dayandırıldığı mekanizma nedir?

- Spencer ve ark. farelerde BCG aşısının makrofaj bağımlı etki yoluyla İnfluenza A virüsü titresini azalttığını göstermiştir.
- Yenidoğan farelerde oluşturulan bir enfeksiyon modelinde BCG aşısının HSV-2 enfeksiyonuna karşı koruduğu belirlenmiştir. Mikobakterinin hücre duvarı bileşeni olan muramil dipeptid, subkütan olarak uygulandığında fareleri Vaccinia virüsüne ve HSV2 enfeksiyonlarına karşı koruduğu gösterilmiştir. Bu etki peritoneal makrofajlar aracılığıyla oluşmaktadır ve BCG'nin konak doğal bağışıklık bileşenleri üzerine güçlü etkisi olduğunu düşündürmektedir.
- Benzer şekilde, yakın zamanda sıçanlarda yapılan bir çalışma, intravenöz BCG uygulaması sonrasında çeşitli patojenler ile uyarılmanın hem splenositlerden hem de peritoneal makrofajlardan artmış sitokin salınımına yol açtığı bildirilmiştir.

- BCG ile aşılanan sağlıklı gönüllü bireylere ait monositlerin ex vivo olarak başka patojenlerle uyarılması sonucunda artmış proinflamatuvar sitokin (IL-1 β , TNF, IL-6) üretimi olduğu görülmüştür. İlginç şekilde, bu etkilere BCG ile aşılanmış bireylerin myeloid hücrelerinin transkripsiyonel, epigenetik ve metabolik olarak yeniden programlanması eşlik etmektedir.
- Epigenetik değişiklikler histonun kimyasal modifikasyonları (metilasyon ve asetilasyon) ile ortaya çıkmakta, bu da kromatine ulaşılabilirliği artırarak antimikrobiyal cevaplar ve gelişmiş hücre işlevi için önemli genlerin transkripsiyonunun daha kolay gerçekleşmesini sağlamaktadır. Buna ek olarak, metabolik yeniden programlama, epigenetik değişikliklere aracılık eden birkaç enzim sınıfı için kofaktör işlevi görerek sürecin düzenlenmesinde görevli bazı metabolitlerin seçici olarak birikmesini ya da tüketilmesini sağlamaktadır (Şekil 2).



Şekil 2. "Eğitilmiş" bağışıklık, aşı sonrası doğal bağışıklık hücrelerinde metabolik ve epigenetik düzenlemelerle farklı patojenlere karşı gelişmiş bir doğal bağışıklık cevabı sağlayarak artmış gen transkripsiyonu ve konak savunması oluşturmaktadır.

- Sağlıklı gönüllülerde yapılan bir çalışmada canlı atenüe bir aşı olan sarı humma aşısı nedeniyle oluşan viremiyi BCG aşısının azalttığı saptanmıştır. Bu cevap monositlerde epigenetik değişikliklerle ilişkilidir ve gelişmiş antiviral cevapla sonuçlanmıştır. Tüm bu bulgular birlikte değerlendirildiğinde BCG aşısının, bağışıklık sistemini uyararak birçok viral hastalığa karşı önemli derecede koruma sağladığını göstermektedir.

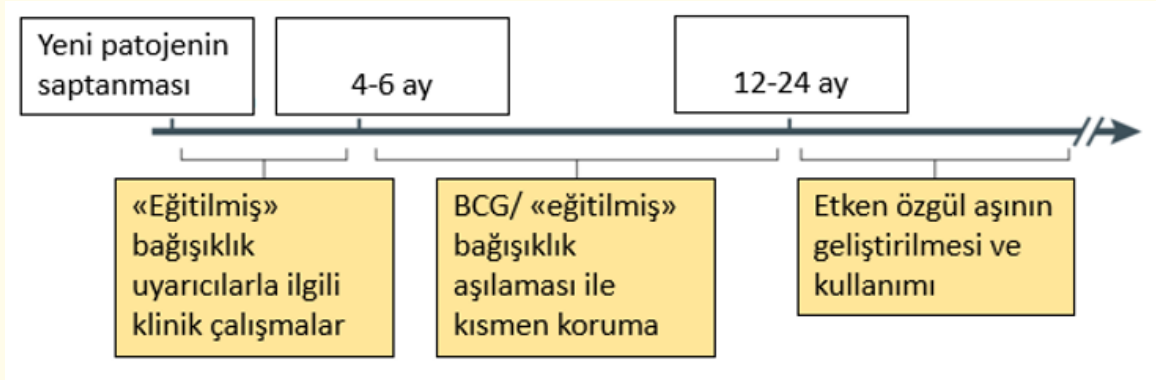
BCG aşısı COVID-19'a karşı kullanılabilir bir silah olabilir mi?

- BCG aşısının yapıldığı ülke ve bölgelerde daha az COVID-19 olgusu olduğu ve bu olgularda mortalite oranlarının düşük olduğu saptanmıştır.
- Bu bulgular BCG aşısının koruyucu etkisinin olabileceğini öngörse de çalışmalar doğası gereği oluşan yanlılık ("bias") nedeniyle kesin bir nedensellik ortaya koyamamaktadır. Bu biaslar (1) COVID-19 görülen bölgelerdeki demografik ve genetik yapı farklılıkları (2) bu bölgelerdeki tedavi dışı uygulama farklılıkları (karantina ya da sosyal mesafe gibi) (3) COVID-19 olgularının tanı ve bildiriminde ülkeden ülkeye oluşabilecek farklılıklar (4) ilgili bölgelerin salgın eğrisinin neresinde bulunduğu bilgisi şeklinde özetlenebilir.
- BCG aşısından yıllar sonra yaşlı insanların "eğitilmiş" monosit havuzunu taşımaya devam edip edemeyeceği bilinmemektedir. Bir varsayım da BCG aşısı yapılan ve SARS-CoV-2'ye daha az duyarlı olan çocukların, etkeni yaşlı popülasyona daha az bulaştırması olabilir, ancak bu savın ispat edilmesi gerekmektedir.

- Önemli sınırlılıklar nedeniyle, BCG aşısının COVID-19'a karşı koruyuculuk sağladığına dair yüksek kalitede kanıt sağlanması için randomize kontrollü çalışmalara ihtiyaç vardır. SARS-CoV2 pandemisinin ciddiyeti göz önünde bulundurulduğunda bu konuyla ilgili olarak kısa sürede sonuç alınabilecek, uygulanabilir ve sebep sonuç ilişkisi elde edilecek çalışmalar tasarlanarak başlatılmalıdır. COVID-19 tanısı almış hastalar ve yaşlı bireylerle sık temas eden sağlık personeli gibi enfeksiyon riskinin ya da mortalite riskinin yüksek olduğu gruplarda uygulamanın öncelikli olarak başlatılması akla uygun olacaktır.

COVID-19 komplikasyonu olan "sitokin fırtınası" dikkate alındığında BCG aşısı yarardan çok zarar verebilir mi?

- Bu derlemede doğal antimikrobiyal bağışık mekanizmaları eğitilerek güçlendirilen BCG aşıllı sağlıklı bireylerde, viral replikasyonun baskılandığı, viral yükün azaldığı, daha az semptom ve inflamasyonun geliştiği hipotezi ortaya konulmuştur. Bu hipotez, BCG aşısı pozitif bireylerde sarı humma aşısı sonrasında düşük viremi görülmesi bulgusuyla desteklenebilir. Buna karşın, yaşlı popülasyon gibi risk altında olan bireylerde enfeksiyonun başında yetersiz antiviral cevap olması, yüksek viral yüke, etkin olmayan bir sistemik inflamasyonun tetiklenmesine ve ağır hastalığa yol açabilir. Bu hastalarda sistemik inflamasyon döngüsünün kırılması faydalı olabilir.
- "Eğitilmiş" bağışıklığın COVID-19'a karşı koruyucu etkisi sadece BCG aşısı ile sınırlandırılmamalıdır: oral polio aşısının da diğer viral enfeksiyonlardan koruduğuna dair spekülasyonlar bulunmaktadır. Yeni rekombinant BCG-bazlı aşı VPM 1002'nin de benzer etkileri olabilir (Şekil 3).



Şekil 3. Salgın sürecinde etkene özgül bir aşı bulunana kadar "eğitilmiş" bağışıklık ile toplum bağışıklığının güçlendirilmesi

Th17 Bağışıklık Cevabının Koronavirüs İmmünopatolojisinde ve Aşı Geliştirilmesindeki Rolü



The potential role of Th17 immune responses in coronavirus immunopathology and vaccine-induced immune enhancement

Hotez PJ et al. (Microbes Infect 2020; 22(4):165-167; doi: 10.1016/j.micinf.2020.04.005)

Derleyen: Dr. Tutku Taşkınoğlu (Düzen Laboratuvarlar Grubu)

Th17 ve COVID-19 ilişkisi Nedir?

- Yeni bilgilere göre COVID-19 pnömoni ve akciğer ödemi patogeneğinde Th17 inflamatuvar yanıtı kritik bir role sahiptir. Buna IL-17 ve GM-CSF dahil olmak üzere önemli sitokinlerin salınması dahildir. Böylece T reg hücrelerinin baskılanması, nötrofil göçünün artırılması ve Th2 yanıtının indüklenmesi sonucunda viral immunopatogenez şiddetlenir.
- IL-17 eozinofil yapımını, akciğer göçünü ve akciğerlerde ekstrasvazyonunu indükleyebilir.
- Th17 hücreleri IL-6 etkisiyle farklılaşır. IL-6'nın SARS enfeksiyonu ile ilişkili akciğer patolojisinde önemli bir rol oynadığı gösterilmiştir. SARS virüsünün N proteininin IL-6 cevabının güçlü bir indükleyicisi olduğuna ve koronavirüs ilişkili akciğer patolojisine yol açtığına dair bulgular mevcuttur.
- Akciğerde koronavirüs varlığı IL-6 oluşumunu indükler ve bunun sonucunda eozinofili dahil olmak üzere şiddetli akciğer patolojisine yol açabilecek Th17 yanıtı uyarılır. Bu bulgular anti-IL-6 monoklonal antikollarının COVID-19'un tedavisinde değerlendirilebileceğini düşündürmektedir. Ek olarak, Th17 cevabının baskın olduğu koşullarda IL-8 yapımı da gerçekleşmektedir.

Aşırı immün yanıtın koronavirüslere aşı geliştirilmesindeki etkisi nedir?

- SARS aşılara bağlı gelişen aşırı immün yanıtın mekanizmaları hala tam olarak anlaşılamamıştır. Bazı olgularda bunun sebebi bazı viral enfeksiyonlarda görüldüğü gibi ADE ("antibody dependent enhancement") olabilir. Bazı olgularda ise eozinofilik immünopatoloji gerçekleşir.
- Aşılanmış hayvanlara canlı virüs uygulanmasından sonra karaciğer ve akciğer örneklerinde eozinofilik immünopatolojinin göstergesi olan, mononükleer hücrelerden oluşan inflamatuvar infiltratlar görülür. Akciğerde eozinofil hakimiyeti olması Th2 tip immünitenin aşırı immün yanıtı yol açtığını düşündürmüştür.

Koronavirüs aşısına bağlı meydana gelen aşırı immün yanıtın sebebi Th17 cevabı olabilir mi?

- Vaccinia ve diğer vektör aşıları deney hayvanlarının akciğer ve karaciğerinde aşırı immün yanıtı yol açmıştır. Bazı olgularda bu durum N protein ile ilişkili bulunmuştur. Bu çalışmaların hiçbirinde Th17 cevabı araştırılmamıştır. Bununla birlikte aşırı immün yanıtı yol açan IL-6 ve IL-8, Th17 ile ilişkili bulunmuştur.

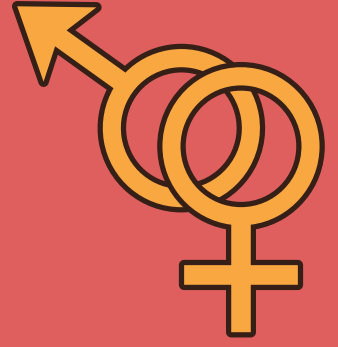
COVID-19 sırasında görülen kalp patolojisinde immün cevabın rolü olabilir mi?

- COVID-19'da görülen ciddi morbidite ve mortalitenin pulmoner yetmezlikten çok kalp fonksiyon bozukluğu ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir. Ciddi kalp yetmezliği, solunum ve diğer organ sistemi yetmezliğinin ana nedeni olabilir. Miyokardit ve kardiyomyopati kaynaklı kalp yetmezliği de IL-17 üreten T hücreleri ve IL-17'yi destekleyen sitokinlerle ilişkilendirilmiştir.



Şekil. Viral vektörlü koronavirüs aşılara bağlı eozinofilik immünopatoloji mekanizmaları

Erkek ve Kadın COVID-19 Hastalarında SARS-CoV2 IgG Antikor Seviyeleri Farklı mıdır? Bu Farkın Hastalık Şiddeti ile İlişkisi Var mıdır?



A comparison study of SARS-CoV-2 IgG antibody between male and female COVID-19 patients: A possible reason underlying different outcome between sex

Zeng F et al. (J Med Virol 2020;1-5; doi: 10.1002/jmv.25989)

Derleyen: Dr. Halil Er (Antalya EAH, Tıbbi Mikrobiyoloji)

- SARS-CoV özgül IgM ve IgG antikorları semptom başladıktan yaklaşık bir hafta sonra ortaya çıkmaktadır. SARS-CoV2 IgG antikor seviyelerinin erkek ve kadın hastalarda farklı olup olmadığı belirsizliğini korumaktadır. Bu çalışmada, hafif, orta ve şiddetli kliniği olan hastalar ile iyileşen hastalarda SARS-CoV2 IgG antikor seviyeleri, farklı cinsiyetler arasında karşılaştırılmıştır.
- Çalışmaya 127 erkek, 204 kadın olmak üzere toplam 331 hasta dahil edilmiştir. COVID-19 pozitif hastalar klinik durumlarına göre gruplara ayrılmıştır. Klinik tablosu hafif (n:22), orta (n:87), ciddi (n:22) olan hastalar ve iyileşen 200 hasta çalışmaya dahil edilmiştir. SARS-CoV2 IgG antikor tayini kemilüminesans mikropartikül immünoanaliz yöntemi ile iFlash 3000 kemilüminesans analizatöründe (YHLO Biotechnology Co., Ltd., Shenzhen, China) ticari kit kullanılarak yapılmıştır.

Klinik tablo ile cinsiyet arasında bir ilişki var mıdır?

- Klinik tablosu hafif seyreden hastaların %36,4'ü erkek, %63,6'sı kadındır. Klinik tablosu orta şiddette olan hasta grubunda erkek ve kadın hasta oranları sırasıyla %42,5 ve %57,5 olarak bulunmuştur. Klinik tablosu ciddi seyreden hasta grubunda kadın erkek oranları eşit saptanmıştır. İyileşen hasta grubunda ise erkek ve kadın hastalar sırasıyla %35,5 ve %64,5 olarak tespit edilmiştir (*Tablo*).

Klinik tablo ile antikor seviyesi arasında bir ilişki var mıdır?

- Kadın hastalarda SARS-CoV2 IgG konsantrasyonunun, hastalığın şiddeti ile doğru orantılı olarak artış gösterdiği, iyileşen hastalarda ise azaldığı saptanmıştır.
- Erkek hastalarda IgG seviyesi klinik tablosu hafif olan hastalarda en düşük, klinik tablosu ciddi olan hastalarda en yüksek olarak tespit edilmiştir. İyileşen hasta grubunda ise düşük seviyelerde belirlenmiştir (*Şekil 1A*).

Antikor seviyeleri cinsiyetler arası farklı düzeylerde mi?

- Klinik durumu ciddi hastalar hariç diğer hasta gruplarında SARS-CoV2 IgG antikor konsantrasyonu cinsiyetler arası hemen hemen aynı düzeyde bulunmuştur. Klinik tablosu ağır hasta grubunda ise erkek hastalarda kadın hastalara kıyasla SARS-CoV2 IgG antikor seviyesi daha düşük saptanmıştır (*Şekil 1A*). Ancak, dört hasta grubunda da erkek ve kadın hastalar arasında SARS-CoV2 IgG antikor konsantrasyonunda istatistiksel olarak anlamlı bir fark gösterilememiştir. Klinik tablosu ağır hasta grubunda SARS-CoV2 IgG düzeyi kadın hastaların çoğunda 100 AU/mL'den yüksekken, erkek hastalarda 100 AU/mL'nin altında tespit edilmiştir.
- Erkek ve kadın hastalarda SARS-CoV2 IgG antikorunun konsantrasyon dağılımını belirlemek için, farklı konsantrasyon aralıklarında (0-10 AU/mL, 10-100 AU/mL, 100-150 AU/mL ve 150-200 AU/mL) IgG antikor yüzdeleri analiz edilmiştir (*Şekil 1F*). SARS-CoV2 IgG konsantrasyonu 0 ila 10 AU/mL olan hastaların yüzdesi erkek ve kadın hastalarda eşit, 100-150 AU/mL olan hastaların yüzdesi ise erkek ve kadın hastalarda benzer olarak hesaplanmıştır. IgG düzeyi 10-100 AU/mL olan hastaların yüzdesi erkek hastalar içinde %63,64'e karşılık gelirken, kadın hastalar arasında %27,27 olarak saptanmıştır. 150-200 AU/mL olan hastaların yüzdesi ise erkek hastalar içinde sadece %9,09 iken kadın hastalar arasında %54,55 olarak belirlenmiştir. Bu veriler, klinik durumu ağır erkek hastalara kıyasla kadın hastaların daha yüksek düzeyde SARS-CoV2 IgG antikorunu ürettiğini göstermektedir.

- Kadın hastalarda SARS-CoV2 IgG antikor konsantrasyonunun, hastalığın başlamasından 2-4 hafta sonra erkek hastalara kıyasla daha yüksek seyrettiği ancak hastalık başlangıcından 4 hafta sonra bu farkın ortadan kalktığı gösterilmiştir (Şekil 1G).
- Klinik durumu ağır olgularda erkek hastalara kıyasla kadın hastalarda nispeten daha yüksek düzeyde SARS-CoV2 IgG antikorunu bulunmuştur.
- Yapılan önceki çalışmalarda, ölüm oranının erkek hastalarda kadın hastalara göre yüksek olduğu bildirilmiştir. Bununla birlikte, altta yatan olası nedenler bildirilmemiştir.
- Lancet dergisinde yayınlanan yeni bir araştırma, hayatta kalanlar için ilk 2-3 haftanın önemli bir dönem olduğunu göstermiştir. Bu nedenle, kadın hasta grubunda erken dönemde SARS-CoV2 IgG antikor düzeyinin daha yüksek olmasının, klinik durumun ağır seyretme olasılığının düşük olmasında ve mortalite oranının azalmasında rolü olabilir.

Tablo. Çalışmaya dahil edilen hastaların demografik ve klinik özellikleri

Disease severity status	Male (n = 127)	Female (n = 204)	Average age (M/F)
Mild (n = 22)	8 (36.4%)	14 (63.6%)	45.2/42.2
General (n = 87)	37 (42.5%)	50 (57.5%)	46.2/49.4
Severe (n = 22)	11 (50%)	11 (50%)	59.4/63.1
Recovering (n = 200)	71 (35.5%)	129 (64.5%)	49.6/50.1

Note: Data are expressed as mean and percentage. M/F means male/female.

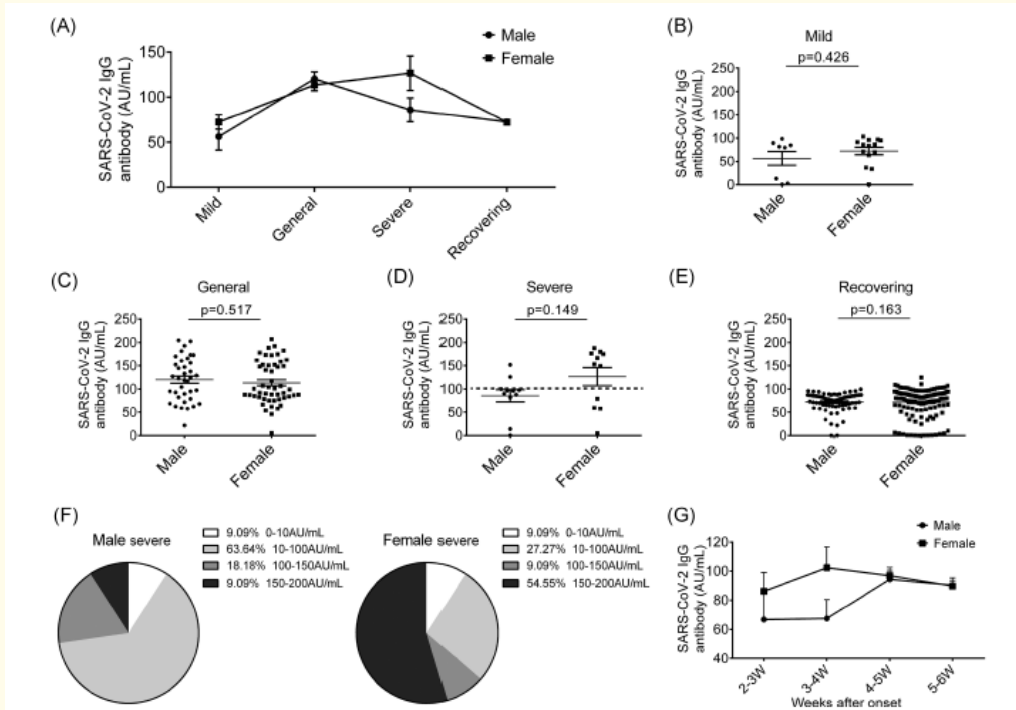


FIGURE 1 SARS-CoV-2 IgG antibody showed enrichment in high levels in severe status and strong production in the early phase in female patients. A, Average concentration of SARS-CoV-2 IgG antibody in four status of COVID-19 in male and female patients. B-E, Comparison of SARS-CoV-2 IgG antibody concentration between male and female patients in mild (B), general (C), severe (D), and recovering status patients (E). F, percentage analysis of different concentration range of IgG antibody in male (left) and female (right) patients in severe status. (G) Average concentration of the SARS-CoV-2 IgG antibody in indicate time points after disease onset. Patients were divided into four groups according to the time after disease onset. The IgG level was analyzed, respectively, in male and female patients. n (2-3W, 3-4W, 4-5W, 5-6W) = 8, 10, 49, 42 for male and 11, 15, 48, 76 for female. All data are expressed as mean \pm SEM. IgG, immunoglobulin G; SARS-CoV-2, severe acute respiratory syndrome coronavirus 2; SEM, standard error of the mean

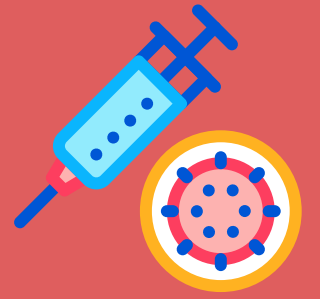
Şekil. Cinsiyet, hastalığın şiddeti ve SARS-CoV2 IgG antikor seviyeleri arasındaki ilişkilerin gösterilmesi. Ciddi klinik durumdaki hastalarda, SARS-CoV2 IgG antikor seviyeleri erkek hastalara kıyaslandığında kadın hastalarda daha yüksek saptanmıştır (Şekil 1A). Kadın hastalarda SARS-CoV2 IgG antikor konsantrasyonunun, hastalığın başlamasından 2-4 hafta sonra erkek hastalardan daha yüksek olma eğiliminde olduğu ve hastalık başlangıcından 4 hafta sonra bu farkın kaybolduğu gösterilmiştir (Şekil 1G).

SARS-CoV2 Spike Proteini: Aşı İçin En Uygun Hedef

SARS-CoV2 Spike Protein: an optimal immunological target for vaccines

Salvatori et al. (J Transl Med 2020; 18: 222; doi: 10.1186/s12967-020-02392-y)

Derleyen: Dr. Bilal Olcay Peker (İzmir Katip Çelebi Üniversitesi Atatürk EAH, Tıbbi Mikrobiyoloji)



Aşı çalışmalarındaki hedef bölgeler nelerdir? En immunojenik bölge hangisidir?

- Aşı için olası hedef bölgeler arasında SARS-CoV2'nin yüzeyinde yer alan yapısal proteinler bulunmaktadır. Bu proteinler zarfda yer alan "spike" proteini S, küçük zarf proteini E, matriks proteini M ve nükleokapsid proteini N'dir.
- SARS-CoV'nin S proteinini eksprese eden rekombinant vektörlerle yapılan bir çalışmada, SARS-CoV'a maruz bırakılan deney hayvanlarında bu proteinin yüksek düzeyde immünojenik ve koruyucu olduğu görülmüştür. Bunun aksine N, M ve E proteinlerinin nötralizan antikor yanıtında veya koruyucu bağışıklıkta önemli bir katkısının olmadığı bulunmuştur.
- SARS-CoV'nin S proteinine karşı oluşan poliklonal antikorların, SARS-CoV2'nin hücreye girişini engellediği saptanmıştır ki elde edilen bu bulgu S proteininin aşı ve immünoterapi çalışmalarında kullanılmasını desteklemektedir.

S proteinine karşı gelişen nötralizan antikor yanıtı nasıl oluşmaktadır?

- SARS-CoV2'nin S proteininde reseptör bağlanma bölgesi (RBD) tanımlanmıştır ve bu bölgenin ACE2 reseptörlerine güçlü bir şekilde bağlandığı bulunmuştur. SARS-CoV'nün RBD bölgesine özgül antikorlar, SARS-CoV2'nin RBD proteini ile çapraz reaksiyon göstermekte ve SARS-CoV RBD ile uyarılmış antiserum SARS-CoV2'yi nötralize etmektedir. Bu bulgular S proteininin RBD bölgesinin hedef olarak kullanıldığı bir aşının COVID-19'da etkili olabileceği yönünde kanıtlardır.
- Koronavirüs S glikoproteini anjiyotensin dönüştürücü enzim 2 (ACE-2) ile etkileşime girerek konakçı hücrelere girişe aracılık eder. Bu bölge hızla nötralizan antikorların ana hedefi haline gelmektedir ve terapötik ve aşı çalışmalarının odak noktasıdır.

SARS-CoV2'ye karşı geliştirilecek bir aşının nasıl bir sakıncası olabilir?

- Antikora bağlı artma ("antibody dependent enhancement", ADE) epidemiyoloji, aşı çalışmaları ve antikor temelli ilaç tedavisi için önemli bir sorundur. ADE mekanizmasıyla SARS-CoV2'nin hedef hücreye girişi virüsün standart reseptörüne bağlanması yoluyla değil antikorun Fc reseptör II aracılığıyla gerçekleşir. Dolayısıyla ADE nedeniyle immünoterapi uygulanması sonucunda klinik tablo daha kötüleşebilir mi sorusu kaygı yaratmaktadır.

Tablo. SARS-CoV2 protein S'yi hedefleyen aşı çalışmaları

Şirketler	Aşı tipleri	Mevcut geliştirme aşaması
Altimmune	Replikasyon defektli olan bir adenovirüs vektörü; SARS-CoV2 S proteinini içerir. Burun içi tek doz uygulanır.	Aşı tasarımı ve sentez aşamaları tamamlanmıştır. Klinik öncesi testlere ve üretime geçiş, Faz 1 çalışmaları Ağustos ortasında başlaması planlanmaktadır.
CanSino biologicals	S proteinini eksprese eden Adenovirüs tip 5 vektörü	Faz 1 (NCT04313127) tamamlanmıştır. Faz 2 çalışmaları başlamıştır. Çin'in ilk rekombinant aşı adayı, 500 gönüllü ile klinik çalışma başlatılmıştır.
(Sichuan) Clover Biopharmaceuticals (Chengdu, Çin) GlaxoSmithKline işbirliği ile	Patentli Trimer-Tag® teknolojisi ile üretilen rekombinant SARS-CoV2 S-protein trimer alt birimi	GlaxoSmithKline'in pandemik aşı adjuvan teknolojisi ve toll-ike reseptör 9 agonist adjuvanının (CpG 1018) sahibi Dynavax ile işbirliği. Klinik öncesi testler yapılmaktadır.
Inovio Pharmaceuticals	SARS-CoV-2 S proteinini kodlayan DNA INO-4800'ün elektroporasyonu	ABD'de denemeye başlamıştır (Faz 1 NCT04336410).
LineaRx Takis Biotech (Roma) (İtalya'da Klinik testler için aday)	S proteinini veya spesifik kısımlarını kodlayan lineer DNA'nın elektroporasyonu	S proteinine ve seçilmiş epitoplara dayanan lineer DNA aşısı, Mayıs veya Haziran başında test için hazır.
Moderna	İyonlaştırılabilir lipid, distearoil fosfatidilkolün, kolesterol ve polietilen glikol lipid kapsül içinde SARS-CoV-2 S proteinini kodlayan mRNA	Faz 1 (NCT04283461) testi devam ediyor.
Novavax	Saponin bazlı (Matrix-M) adjuvanlı SARS-CoV 2 S proteini içeren nanoparçacık	Şu anda hayvan modellerinde değerlendiriliyor, Haziran 2020'de Faz 1 çalışmalarına başlaması bekleniyor.
Queensland Üniversitesi (Brisbane, Avustralya)	Polipeptit yapı tarafından önbirleşme yapısına kilitlemiş olan SARS-CoV2S proteininin rekombinant alt ünitesi (moleküler kenetlenme)	Klinik öncesi testlerde; Dynavax Technologies Corp. şirketinin GlaxoSmithKline ve Seqirus GmbH işbirliğinde



Pasif İmmunoterapi

Konvalesan Serum Tedavisi

- İyileşmiş hastaların serumlarından elde edilen yüksek titrelerdeki nötralizan antikorların enfekte kişilere transfüzyonu virüsün inaktivasyonunda rol oynayabilir. Öte yandan bu antikorların nötralizan aktivitesi henüz anlaşılammıştır. Antikorların yarı ömürlerinin uzun olmadığı bu nedenden dolayı yeni iyileşmiş hastaların uygun donörler olduğu gösterilmiştir. Ayrıca antikor titrelerinin hastadan hastaya değişkenlik gösterdiği ve ileri yaştaki hastaların gençlere göre daha yüksek titrelerde antikor oluşturdukları görülmüştür.

Monoklonal Antikorlar (mAb'lar)

- Çok sayıda mAb, virüsün S glikoproteininin reseptör bağlayıcı alanını (RBD) hedef alır ve virüsün konak hücreye girişini engeller. SARS-CoV1 için kullanılan mAb'ların, SARS-CoV2 için de çapraz reaksiyon verebileceği belirtilmiş, SARS-CoV1 S proteinini hedef alan mAb 1A9'un SARS-CoV2 ile de etkileşime geçtiği bildirilmiştir.
- Tocilizumab** IL-6'ya karşı geliştirilen bir monoklonal antikordur. COVID-19 olgularında IL-6'nın anlamlı şekilde yüksek olduğu düşünüldüğünde, COVID-19 hastalarında bu antikor denenmiş ve klinik seyir açısından olumlu sonuçlar (düzelmış CRP, artmış akciğer fonksiyonu vb) alınmıştır.
- Bevacizumab**, ARDS'de görev alan mediatörlerden VEGF'e karşı geliştirilmiş bir monoklonal antikordur ve COVID-19 için faz 2-3 klinik çalışmalar aşamasındadır.

Kinaz İnhibitörleri

- Baricitinib** adlı Janus kinaz (JAK) inhibitörü, virüsün konak hücreye girişini ve inflamasyonu engelleyebilir. Siklin G-ilişkili kinaz (GAK) ve AP2-ilişkili protein kinaz-1 (AAK1) endositoz regülatörleridir ve baricitinib bu regülatörleri bozarak virüsün hücreye girişini inhibe edebilir.
- Fedratinib** ve **ruxolitinib** gibi diğer JAK inhibitörleri de COVID-19 olgularında inflamasyonu baskılayabilmeleri açısından adaylardır. Ancak JAK inhibitörlerinin güvenliği ve etkinliği konusunda daha çok çalışmaya ihtiyaç vardır.

Mezenkimal Stromal Hücreler

- Sitokin fırtınasının baskılanabilmesi için kortikosteroidlerin kullanımı, bağışıklık sisteminin baskılanmasına ve virüs eliminasyonunun gecikmesine neden olur. Mezenkimal stromal hücreler (MSC) ise immün yanıtı düzenleyici ve antiinflamatuvar özellikleri olan hücrelerdir. MSC ve MSC ekstrasellüler veziküllerinin (EV) infüzyonunun viral pnömoni olgularında akciğer inflamasyonunu baskılayarak faydalı olabileceği kanıtlanmıştır. Akciğerlere geçebilen EV, MSC'lerin bağışıklık düzenleyici ve antiinflamatuvar özelliklerini içermektedirler. Bunlar, ayrıca, akciğerlere bağışıklık hücrelerinin infiltrasyonunu engelleyerek alveolar hasarın azaltılmasına katkıda bulunurlar.
- İlerlemiş COVID-19 olgularında allojenik umbilikal kord MSC (UC-MSC) hücrelerinin adaptif transferinin inflamasyonu baskılayabileceği ve semptomları azaltabileceği iddia edilmiştir. Hücre terapisini takip eden dördüncü günde hastaların mekanik ventilatörden çıkarıldığı görülmüştür. Bu tedavi ayrıca, T hücre sayılarını arttırmakta, bağışıklık sistemini güçlendirmektedir. ACE içermeyen MSC hücrelerinin 7 vakada uygulanmasından 2 gün sonrasında herhangi bir yan etki gözlenmemiş ancak klinik olarak gelişme kaydedilmiştir. Sitokin salın inflamatuvar hücrelerde azalma görülmüş, regülatuar dendritik hücrelerde artış olmuş (CD14+CD11c+CD11bmid), IL-10 düzeyleri artmış ve TNF-α düzeyleri azalmıştır.

Nano-Tıp

- LIF (Lösemi inhibitör faktör) respiratuvar sistemi koruyan ve viral enfeksiyonlar sırasında akciğer homeostazını destekleyen önemli bir sitokindir. Şu ana kadar LIF'in SARS-CoV-2'deki rolü konusunda herhangi bir çalışma yoktur, öte yandan RSV ile ilgili olan çalışmalarda LIF'in yüksek düzeyde ekspresyonunun pnömoni olgularında akciğerlerin iyileşmesinde etkili olduğu gösterilmiştir.
- LIF nanopartiküllerinin (LIF-NP) bağışıklığı düzenleyici etkisi vardır ve hayvan modellerinde ARDS olgularında self toleransın artmış olduğu gözlenmiştir. Solunabilir NP'ler, sitokin fırtınasının engellenmesinde ve akciğer dokusunun tamirinde yeni bir strateji olabilir. Peptidle sarılmış altın nanopartiküllerinin, akut akciğer hasarı oluşturulmuş farelerde, makrofaj fenotipini M1'den M2'ye dönüştürerek ve antiinflamatuvar sitokin salınımını tetikleyerek (IL-10) akciğer inflamasyonunu azalttığı gözlenmiştir.

Tuzak Biyomoleküller

- Virüsün ACE2 reseptörlerine bağlanması nedeniyle çözünebilir ACE2 formlarının kullanımının potansiyel bir terapötik yaklaşım olabileceği belirtilmektedir. ACE2 enjeksiyonu, virüsü yarışmalı olarak nötralize edebilmekte ve akciğer hasarında azalmaya yol açabilmektedir. İnsan rekombinant çözünebilir ACE2 (hrsACE2) virüsün konak hücreye girişini engelleyerek, doz bağımlı olarak viral yükü azaltmaktadır. Öte yandan, hrsACE2'nin hastalığın erken döneminde etkili olduğu bildirilmiştir. hrsACE2'nin tam bir inhibitör etkisi olmaması, virüsün ikinci bir reseptör veya transmembran proteaz serin 2 (TMPRSS2) gibi bir kofaktörde mi etkili sorusunu akla getirmektedir. Nitekim TMPRSS2 inhibitörü COVID-19 olgularında klinik uygulama için onaylanmıştır.

Antiviral İlaçlar

- Viral yükün azaltılmasında **remdesivir** etkili olabilir. İlacın etkinliği tartışmalıdır çünkü yapılan randomize, çift kör, plasebo kontrollü ve çok merkezli çalışmada herhangi bir anlamlı klinik etki gözlenmemiştir.
- **Klorokin**, SARS-CoV'da pH bağımlı olarak viral replikasyonu azaltmakta ve ayrıca bağışıklık düzenleyici etkileri bulunmaktadır. **Hidroksiklorokin**in COVID-19 hastalarında da klinik düzelmeye faydalı olduğu bildirilmiştir. Yüksek doz klorokin difosfat ve azitromisin veya oseltamivir kombinasyonunun yüksek ölüm oranları ve kardiyak yan etkilere neden olduğu bildirilmiştir.
- **Lopinavir** ve **ritonavir** gibi proteaz inhibitörlerinin SARS-CoV2 vakalarında viral yükte anlamlı düzeyde azalmaya yol açtığı belirtilmiş ancak HIV proteaz inhibitörlerinin hedeflerinin aspartik proteaz ailesinden olması koronavirüslerin hedef proteazlarının ise sistein proteaz ailesinden olması nedeniyle, ilaçların etkinlikleri tartışmalıdır.
- **Favipiravir** yeni bir RNA bağımlı RNA polimeraz inhibitörüdür. COVID-19 olguları üzerine olan klinik bir çalışmada favipiravirin, lopinavir/ritonavire göre çok daha potent etkiye sahip olduğu gözlenmiştir.

BCG Aşısı

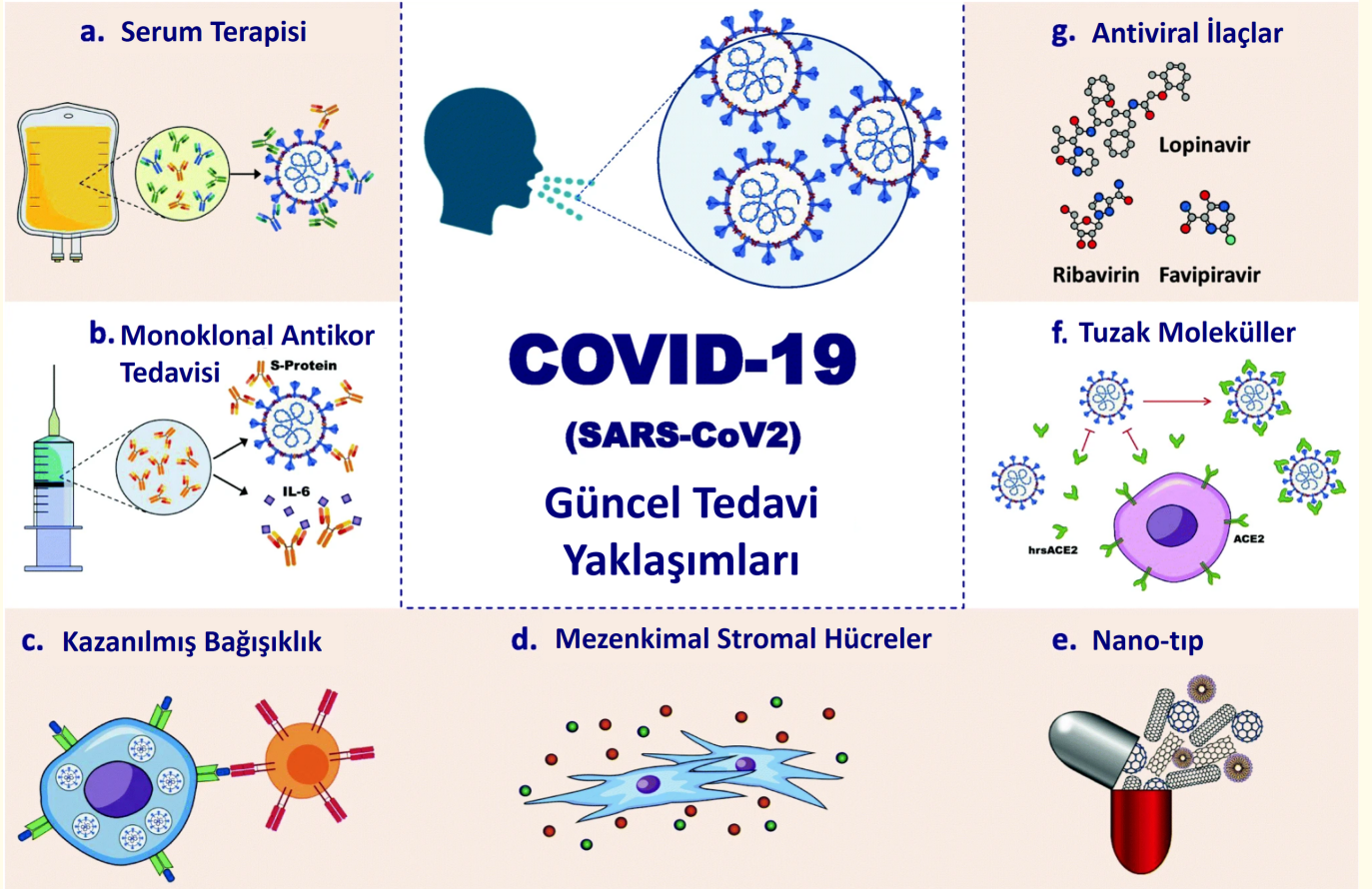
- BCG ve viral antijenlerin benzer moleküler yapıya sahip olması nedeniyle, aşılama sonrası B ve T hücrelerinin her iki patojen tipini de tanıyabileceği düşünülmektedir. Ancak DSÖ, SARS-CoV2 koruyuculuğu olduğuna dair doğrudan kanıt olmadığından, COVID-19'dan korunmak için BCG aşısını önermemektedir.

Kortikosteroidler

- Kortikosteroidlerin ARDS tedavisinde yeri olduğu kanıtlanmıştır. Ancak steroidlerin COVID-19 için kullanımı antiviral cevapta oluşabilecek olumsuzluklar nedeniyle tartışmalıdır. Öte yandan sistemik hiperinflamasyonu olan ciddi COVID-19 vakalarında mortaliteyi azalttıkları gözlenmiştir. Kortikosteroidlerin hastaya göre, formülasyona, doza ve yarı ömre göre klinik seyri etkileyebileceği düşünülmektedir.

Sonuç

- Bu yeni hastalık için net bir tedavi protokolü yoktur ama antiviral ilaçların klinik seyirde etkili olduğu düşünülmektedir.
- Lenfositopeninin eşlik ettiği şiddetli inflamasyon ve ARDS'nin takip ettiği sitokin fırtınası halen çözülememiş sorunlardır.
- İmmün sistemin düzenlenmesinin ve inflamasyonunun kontrolünün ana unsurlar olduğu düşünülmektedir.



Özet Şekil. COVID-19'un klinik komplikasyonlarının tedavisi için yeni tedavi stratejileri.

- (a) Aşılanmış bireylerin serumu kullanılarak pasif immünoterapi.
- (b) Monoklonal antikörler, virüs partiküllerini doğrudan hedefleyebilir. Ayrıca mAb'lar, inflamasyonun ilerlemesinde önemli sitokinleri, örneğin IL-6'yı ortadan kaldırmak için kullanılabilir.
- (c) Adaptif immünoterapideki efektör hücreler, enfekte olmuş hücreleri spesifik olarak hedeflemek ve anti-viral immün tepkileri güçlendirmek için kullanılabilir.
- (d) Mezenkimal stromal hücreler, şiddetli immün yanıtın immünomodülasyonunda anahtar oyuncularlardır. Bu hücrelerin parakrin etkisi, immün cevabı azaltabilir.
- (e) Farklı tıbbi uygulamalarda ilaç dağılımı için nano yapıların kullanılması.
- (f) Çözünür formdaki rekombinant ACE2 reseptör proteini, viral partiküllere bağlanır.
- (g) Antiviral ilaçlar viral proliferasyonu engelleyebilir.

İlaçların Yeniden Yapılandırılması ve COVID-19

Drug repurposing and COVID-19

Abhijeet Pandeya et al. (Life Sciences 256 (2020) 117883; doi: 10.1016/j.lfs.2020.117883)

Derleyen: Dr. Irmak Güzel (Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji AD)



İlacı yeniden yapılandırma, bir bileşiğin / ilacın orijinal kullanımından farklı bir hastalıkta kullanım için yeniden geliştirilmesi – yeni endikasyon alma işlemidir. İlacın yeni endikasyon çalışmalarında temel ilke, ortak bir moleküler yolun birçok hastalıktan sorumlu olmasıdır.

İlaçların yeniden yapılandırılmasının avantajları nelerdir?

- Onaylanmış/ rafa kaldırılmış veya durdurulan ilaçların formülasyonu, dozu, toksisitesi, farmakolojisi ve klinik deneme verileri hakkında bir dizi ayrıntılı bilgiye önceden sahip olunur.
- Çoğunda güvenlik değerlendirmesinin ve pre-klinik testlerin yapılmış olması, farklı formülasyon geliştirmek için zaman kaybedilmemesi ilaç gelişimi için gereken sürenin kısalmasını sağlar.
- İlacın pre-klinik ve insan modellerinde güvenli olduğu önceden tespit edildiğinden, başarısızlık şansı da daha azdır.
- Yapılandırma süreci için gereken yatırım, yeni bir ilaç gelişimine kıyasla Faz-1 çalışmalarının atlanması nedeniyle daha düşüktür.

SARS-CoV2 için yapılandırılacak potansiyel adaylar nelerdir?

Antimalariyal Ajanlar

- **Klorokin**: Antisıtma ilacı ve immün modülatör olarak kullanılan klorokin (CQ), son zamanlarda olası geniş spektrumlu bir antiviral ilaç olarak tanımlanmıştır. CQ'nun virüs/hücre füzyonu için gerekli olan endozomal pH'ı yükselterek ve SARS-CoV hücre reseptörleriyle etkileşerek enfeksiyonunu önlediği bildirilmiştir. Şimdiye kadar raporlar klorokin fosfatın, pnömoninin kötüleşmesini sınırlandırarak, virüs transformasyonunu negatif yönde etkileyerek ve hastalık süresini azaltarak tedavinin yönetiminde tercih edilen bir ilaç olduğunu göstermiştir.
- **Hidroksiklorokin (HCQ)**: Antiviral aktivite gösteren bir moleküldür. ACE-2 glikozilasyonu ile etkileşime girerek konakçı hücrelerdeki ACE-2 ile "S" proteini arasındaki bağlanma kapasitesini azaltır. Ayrıca lizozomların ve endozomların pH'sını yükselterek, konakçı hücre ile virüs füzyon mekanizmasını ve replikasyonunu önler. Ayrıca, DNA / RNA'nın TLR'ler ve cGAS nükleik asit detektörü ile etkileşimini bozar ve dolayısıyla proenflamatuar genlerin ekspresyonu tetiklenemez.
- CQ ve HCQ sadece replikasyonu ve invazyonu önleyerek COVID-19'un gelişimini hafifletmez, aynı zamanda T hücrenin uyarılmasını engelleyerek sitokin fırtınası riskini azaltır (Şekil 2).

Antiviral Ajanlar

- **Lopinavir (LPV)** ve **ritonavir (RTV)**: SARS ve MERS'de 3-kimotripsin benzeri proteazı baskıladığı gösterilmiştir. SARS hastalarında daha iyi klinik sonuçlar elde edilmiştir. COVID-19 da ise 3-kimotripsin ve papain benzeri proteazları etkili bir şekilde bloke edebileceği tartışmalıdır. Farklı çalışmalarda, LPV ve RTV'nin birlikte ve diğer ilaçlarla (interferon, kortikosteroid) birlikte kullanımlarının tedaviye yarar sağladığı gösterilmiştir.
- **Remdesivir (RDV)**: Ebola virüsü kaynaklı hemorajik ateş için Faz-II denemelerinde aktivitesi değerlendirilmiştir. In vivo ve in vitro verileri RDV'nin *filoviridae*, *paramyxoviridae* ve *coronaviridae* (MERS CoV, SARS-CoV-2) olmak üzere birçok virüs ailesine karşı etkin olduğunu göstermektedir. RDV'nin ön ilacı (GS-443902), viral RNA'ya bağımlı RNA polimerazı inhibe eder. Viral replikasyonu azaltarak viral yükü azalttığı bilinen bir antiviraldir.

- **Ribavirin (RBV):** HCV için onaylanmış bir antiviral purin nükleosid analogudur. Hepatit B, SSV, MERS-CoV, SARS-CoV2'ye karşı etkiye sahip geniş spektrumlu bir antiviral ilaçtır. Viral mRNA polimerazın sentezini inhibe ederek viral yükü azaltır. Ayrıca viral protein sentezini engeller ve viral genom replikasyon sürecini durdurur. Humoral yanıtı uyaran ve virüse karşı bağışıklığı arttıran sitokinlerin üretimini teşvik ederek immünomodülatör bir etkiye sahiptir. RBV'nin, viral replikasyonda mutasyona yol açmasıyla sonuçlanan "mRNA capping" inhibisyonu, SARS-CoV2'yi tedavi etmek için potansiyel bir tedavi yaklaşımı olarak görülmesinin ana nedenidir. Monoterapi olarak kullanıldığında RBV, SARS ve MERS'e karşı direnç gösterir ve bu nedenle lopinavir, klorokin analogları ve IF- α gibi diğer antiviral ilaçlarla kombinasyon halinde verilir.
- **Arbidol (ARB)** veya **Umifenovir**, Çin ve Rusya'da solunum yolu viral enfeksiyonlarının ve influenza'nın profilaksi tedavisi için onaylanmış bir antiviral ilaçtır. SARS-CoV2 virüsüne karşı etkinliği gösterilmiştir ve COVID-19 profilaksisinde etkinliği araştırılmaktadır. Füzyon ve hücrel tanımada yer alan viral glikoprotein aromatik kalıntıları ile etkileşimi sonucunda antiviral etki gösterir. Yapılan bir araştırma, ARB'nin in vitro 10-30 μ M olmak üzere düşük konsantrasyonda SARS-CoV2 enfeksiyonunu etkili bir şekilde inhibe ettiğini ortaya koymuştur.
- **Favipiravir (FPV):** İnflenzada viral RNA'ya bağımlı RNA polimerazı inhibe ederek replikasyon sürecini inhibe eder. Bir RNA virüsü olan SARS-CoV2 üzerinde de olası antiviral aktiviteye sahip olabileceği için çalışmalar yapılmaktadır.
- **Darunavir (DRV):** HIV-1'e karşı ikinci nesil bir proteaz inhibitörüdür. DRV'nin in vitro SARS-CoV2 enfeksiyonunu da önlediği açıklanmıştır. DRV'nin in vitro olarak 300 μ M konsantrasyonda viral replikasyonu inhibe ettiği ve inhibisyon etkinliği tedavi edilmeyen gruba göre 280 kat yüksek olduğu gösterilmiştir.
- **Oseltamivir:** İnfluenza A ve B tedavisinde kullanılan, viral nöraminidazı engelleyerek viral partiküllerin konakçı hücrelerden salınmasını önleyen bir ilaçtır.
- **İnterferonlar (INF)**, viral replikasyonu durdurmak için, monoterapi olarak uygulandığında, daha yüksek serum konsantrasyonuna gereksinim duyarken, SARS ve MERS tedavisinde ribavirin ile kombinasyonu sinerjistik etki ile daha düşük dozlarda inhibitör etki göstermiştir. INF'lerin alt tipleri arasında INF β 1b ve INF β 1a, SARS-CoV ve MERSCoV'un en güçlü inhibitörleridir. Koronavirüs enfeksiyonunda, INF β akciğerlerdeki koruyucu rolü nedeniyle önemli bir rol oynar. Akciğerlerin endotel hücrelerinde CD73'ü düzenleyerek akciğerlerin endotel bariyer fonksiyonunu korur ve antiinflamatuvar adenosin salgılanmasına neden olur. Bu çalışmalar INF'nin COVID-19'un profilaktik tedavisinde kullanılabileceğini göstermiştir.

Antibiyotikler

- **Azitromisin (AZ):** Antibakteriyel aktivitesinin yanı sıra antiviral etkisi de gösterilmiştir. Lizozomdan viral saçılmayı engeller ve lizozom ve endozomal veziküller içinde birikerek endositozu bloke eder ve böylece viral genetik materyalin çoğalmasını sınırlar. Antiviral aktivitesi, virüsün replikasyonunu azaltan IF aracılı antiviral yanıtı indüklemeye yeteneğiyle de ilişkilidir. SARS-CoV2 S proteini ve ACE-2 proteini arasındaki etkileşimi bozarak virüs girişini engeller.
- **Tetrasiklin:** SARS-CoV2'ye karşı üç olası mekanizma ile hareket eder. Koronavirüsler, replikasyon, canlı kalma, hücreden hücreye adezyon ve infiltrasyon için çinkoya bağlı matriks metalloproteinaz (MMP) kompleksine ihtiyaç duyar. Tetrasiklinler, MMP kompleksinde bulunan çinko bileşiklerinin şelasyonunu yaparak COVID-19 enfeksiyonunun şiddetini azaltmaya yardımcı olur. NF κ B yollağının inhibisyonuyla sitokinlerin ve diğer inflamatuvar ajanların seviyelerini azaltır. Dokuya yüksek nüfuz etme kabiliyeti ve lipofilik özelliğinden dolayı akciğerlerde viral DNA replikasyonunu inhibe eder.
- **Teikoplanin:** Viral RNA salınımını inhibe ederek ve böylece virüs-hücre döngüsünü önleyerek koronavirüse karşı etki eder.

Bağışıklık Sistemi Baskılayıcıları

- **Sirolimus:** Sitokinlerin transkripsiyonel aktivasyonunu seçici olarak bloke ederek T-lenfosit proliferasyonunu/aktivasyonunu ve sitokin üretimini inhibe eder. Antiviral aktiviteye de sahiptir. Sirolimus, immünoşüpresif bir kompleks oluşturmak için hücrede immünofiline bağlanır ve mTOR kinazı inhibe eder, bu da viral replikasyonda önemli bir rol oynadığı söylenen mTORC1 protein kompleksinin oluşumunu durdurur. Çalışmalarda MERS-CoV enfeksiyonunda sirolimusun mTOR sinyal yolunu başarılı bir şekilde inhibe ettiğinin gösterilmesi COVID-19'un tedavisinde de kullanım için uygun bir aday olduğunu düşündürmektedir.

- **Barisitinib:** JAK reseptörlerine seçici ve geri dönüşümlü olarak bağlanarak etki gösteren bir janus kinaz (JAK) inhibitörüdür. Ayrıca protein kinaz 1 ile ilişkili proteinlere (AAK1) bağlanarak viral partiküllerin oluşumunu ve virüsün hücre içine geçişini önler. COVID-19 hastalarında görülen hiperinflamasyon tablosunda, Barisitinib gibi JAK inhibitörlerinin kullanımı inflamasyonu azaltmaya yardımcı olur.
- **Siklosporin:** Kalsinörin inhibitörü olarak işlev görür. Hücrelerdeki siklofilin reseptörüne bağlanır ve bir siklosporin-siklofilin kompleksi oluşturur. Bu kompleks kalsiyum bağımlı IL2 üretim yolunu bloke ederek IL-2 gen transkripsiyonunu baskılar, böylece inflamatuvar yanıtı azaltır. COVID-19'da, SARS-CoV2 virüsünün RNA'ya bağımlı RNA polimeraz ve peptidil-prolil izomeraz aktivitesini bloke eder. Düşük sitozolik pH'da korona virüsü ACE-2'ye bağlanarak hücreye girer. Siklosporin sitozolik pH'ı normal seviyelerde tutarak virüsün girişini engelleyerek viral yükün azaltılmasına da yardımcı olur.

Monoklonal Antikorlar (MAb)

- **Tocilizumab (TCZ),** sitokin salınım sendromu, dev hücre artrit ve romatoid artrit gibi otoimmün ve enflamatuvar durumları tedavi etmek için kullanılan ilk insan rekombinant MAb'dir. TCZ, membrana bağlı IL-6 reseptörlerine bağlanarak IL-6'nın etkisini önler. Böylece proenflamatuvar aktivitenin azalmasına yol açar. Ayrıca antikor üretimine ve IL-6 ile T-hücre proliferasyonunun indüklenmesine engel olur. COVID-19 hastalığının klinik seyri sırasında görülen, sitokin fırtınası ve hiperinflamasyon önlenmiş olur.

Anti-Helmint İlaçlar

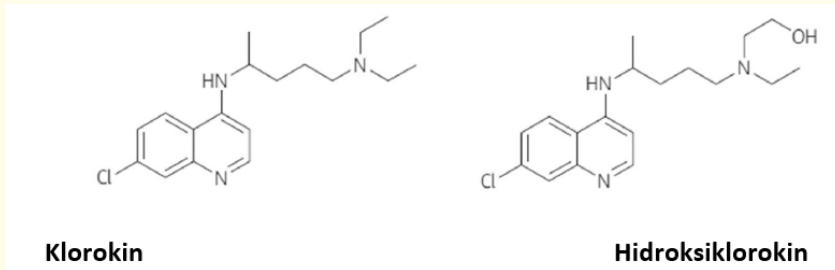
- **Ivermektin:** Anti-viral aktivitesi ilk olarak nükleer taşıma reseptörü importin α / β (IMP) ile integras molekülü arasındaki etkileşimi bloke etme özelliği ile keşfedilmiştir. Birçok virüsün viral replikasyonunu engellediği de bilinmektedir.

Anjiyotensin Dönüştürücü Enzim İnhibitörleri (ACE-2 inhibitörleri)

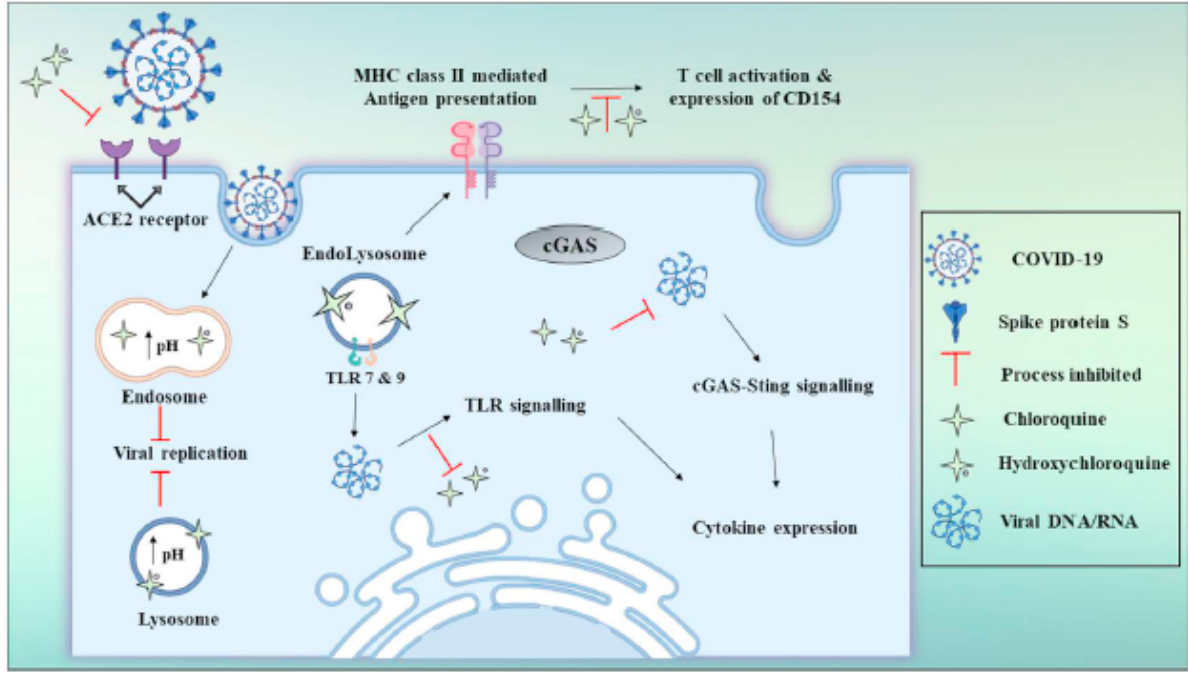
- ACE-2 inhibitörleri (kaptopril, ramipril) hipertansiyon tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır. ACE-2 reseptörleri oral mukozanın epitel hücrelerinde yüksek düzeyde eksprese edilir ve ayrıca akciğer makrofajları ve bağırsak gibi immün reaktif hücrelerde de bulunurlar. SARS-CoV ve SARS-CoV2 için ACE-2 reseptörleri, virüsün konakçı hücreye girişini sağlar. Bu nedenle SARS-CoV2'nin hücreye girişinin engellenmesi, COVID-19'u tedavi etmek için potansiyel bir terapötik strateji olarak kabul edilmiştir.

İmmün Plazma Tedavisi

- FDA, COVID-19 sonrası iyileşen uygun donörlerden elde edilen, içinde fazla miktarda antikor bulunan immün (konvelesan) plazmanın (CP) tedavide kullanılabileceğini bildirmiştir. COVID-19 hastalarında CP'yi reçete etmeden önce klinik çalışmalarla güvenliğini ve etkinliğini değerlendirmenin gerekliliğini belirterek, kılavuzlar yayınlamıştır.
- CP bileşimi karmaşıktır; inorganik tuzların, organik bileşiklerin, suyun ve 1000'den fazla proteinin bir karışımını içerir. Ana bileşenleri Şekil 3A'da gösterilmiştir. Antiviral etki gösterebilecek nötralizan antikorlara (NAbs) ek olarak IgG ve IgM dahil ek koruyucu antikorlar bulunur. Humoral bağışıklık esas olarak S proteinini hedefler (Şekil 3B). CP'nin antiinflamatuvar etkisi, otoantikorlar ve aşırı aktif immün sisteminin düzenlenmesiyle gerçekleşir. Ek olarak, bazı antikorlar kompleman kaskadını (C3a ve C5a) önler ve immünkompleks oluşumunu sınırlar (Şekil 3C). Pilot çalışma bulguları, CP tedavisinin ciddi COVID-19 enfeksiyonları için güvenli ve etkili bir terapötik alternatif olabileceğini göstermektedir.

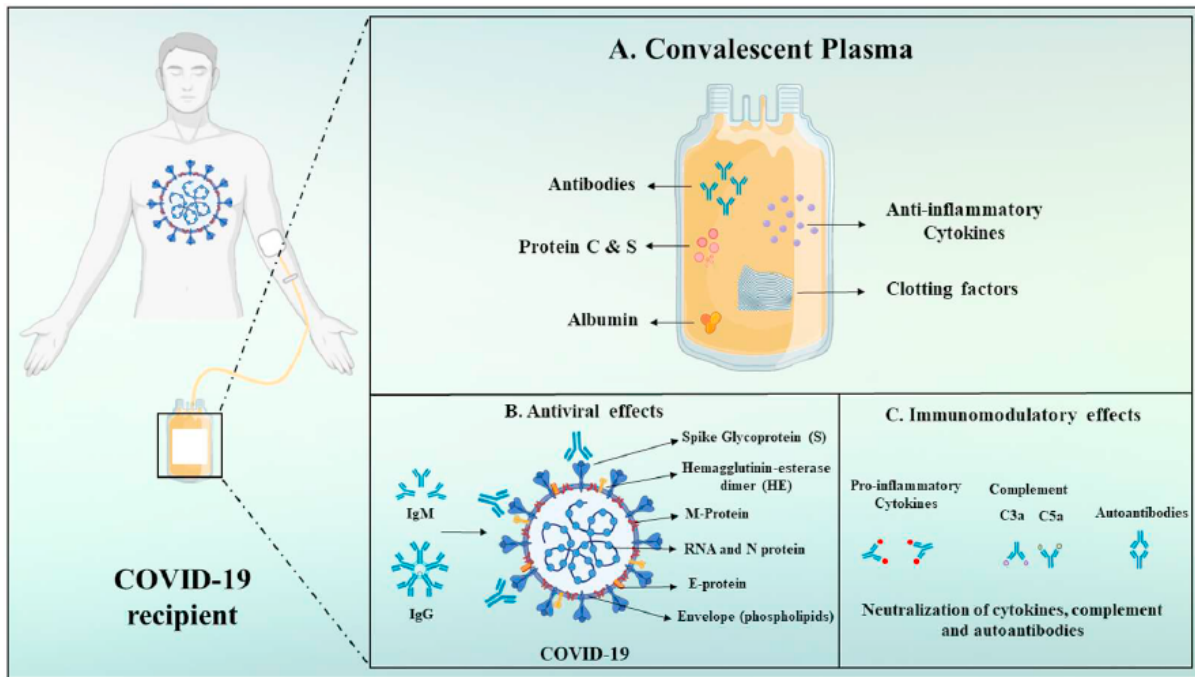


Şekil 1. Klorokin ve hidroksiklorokin kimyasal bileşimi



Şekil 2. Klorokin ve hidrosiklorokin antiviral mekanizmalarının şematik gösterimi

36 hastadan oluşan bir grup üzerinde, HCQ'nun etkisini araştıran non-randomize bir çalışmada; HCQ uygulanmasından 6 gün sonra, nazofaringeal sürüntülerde kontrole göre viral pozitiflikte önemli bir azalma olduğu belirlenmiştir. Ayrıca HCQ'ya eklenen AZM'nin virüsü ortadan kaldırmada önemli ölçüde daha etkili olduğu da gösterilmiştir.



Şekil 3. İmmün plazma bileşenlerinin şematik gösterimi ve etki mekanizmaları

SARS-CoV2 Tedavisinde Proteozom İnhibitörlerinin Yeri



Proteasome Inhibitors as a Possible Therapy for SARS-CoV2

Longhitano L et al. (Int J Mol Sci 2020;21(10):3622; doi: 10.3390/ijms21103622)

Derleyen: Dr. Mehmet Soylu (Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji AD)

Ubikuitin-proteozom sistemi (UPS) hücre sel dengenin sağlanması için önemlidir ve viral replikasyon süreçlerinin önemli bir faktörüdür. *MG132*, *epoxsomisin* ve *bortezomib* gibi çeşitli proteozom inhibitörleri ökaryotik hücreye virüs girişini azaltabilmekte, koronavirüsler için gerekli olan çeşitli proteinlerin ve RNA'nın sentezini engelleyebilmektedir. Buna ek olarak UPS inhibitörlerinin çeşitli inflamatuvar durumlarında sitokin fırtınasını azaltabilme özelliğinden SARS-CoV2 enfeksiyonunda yararlanılabilir. Böylece bu moleküllerin viral replikasyonu inhibe edici ve aşırı immün yanıt oluşmasını engelleyici etkilerinden fayda görülebilir. Bu derlemede UPS'nin koronavirüsler (CoVs) üzerindeki etkisi farklı yönleriyle değerlendirilmiştir.

Ubikuitin-Proteozom sisteminin (UPS) viral enfeksiyonlar ile ilişkisi nedir?

- Bazı çalışmalar koronavirüsün hücreye giriş ve replikasyon basamaklarının inhibisyonunda ubikuitin-proteozom sisteminin oynadığı role dikkat çekmektedir.
- Antiviral proteinlerin destabilizasyonunda, virüsler kendi de-ubikuitinasyon proteinlerinin (DUB) ekspresyonu yoluyla "ubikuitinasyon" sürecini yöneterek proviral veya viral proteinlerin oluşumunu sağlayabilmektedirler. Bu olay SARS-CoV'da tanımlanmıştır. Diğer taraftan pek çok virüsün replikasyonu fonksiyonel UPS etkinliğine bağlıdır.
- Çeşitli çalışmalarda viral enfeksiyonların protein-ubikuitin konjugatlarının birikimine yol açtığı gösterilmiştir. Bu da ubikuitin-proteozom ilişkili viral replikasyonda ya da protein yıkımında, artmış ubikuitinasyon işleminin önemli olduğunu düşündürmektedir.
- Proteozom aktivitesinin inhibisyonu sonucunda proteinlerin birikmesi, protein sentezinin engellenmesine, endoplazmik retikülümde stres oluşmasına ve hücre ölümüne sebep olmaktadır. Bu da viral replikasyonun inhibisyonuna yol açmaktadır.

Mevcut proteozom inhibitörleri nelerdir?

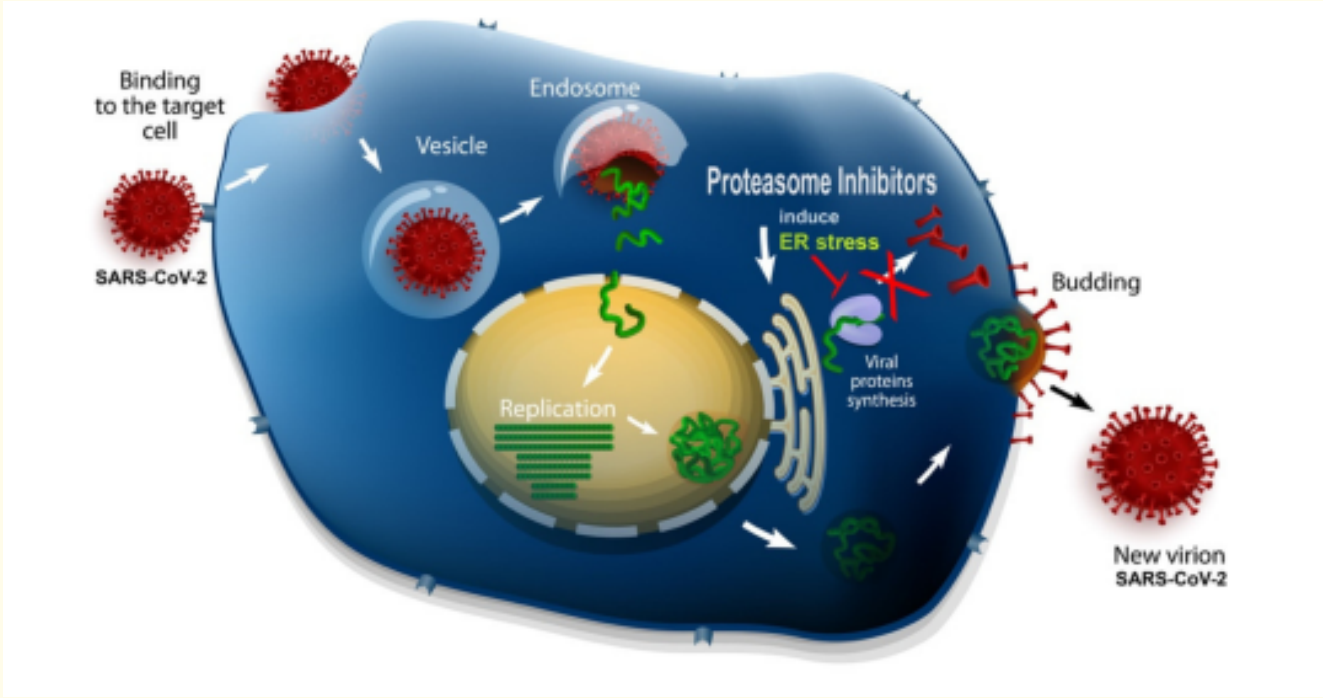
- En iyi bilinen proteozom inhibitörü Bortezomib (Velcade), 2008 yılında onaylanmıştır ve multipl myelom tedavisinde birinci sırada yer alan bir ilaçtır.
- Diğer inhibitörler arasında MG132, Lactacistin, Carfilzomib ve İxazomib yer alır. Bunlar 20S ve 19S subünitlerini hedef almaktadır.
- İlaçların farklı amaçla kullanımı için yapılan hesaplama ("Computational Drug Repurposing") çalışmaları Carfilzomib'in COVID-19 tedavisi için iyi bir aday olduğunu göstermiştir.

Ubikuitin-proteozom sisteminin (UPS) inhibe edilmesi inflamatuvar yanıtı nasıl etkilemektedir?

- Ubikuitin-proteozom sisteminin inhibe edilmesinin inflamatuvar yanıtı azaltmada etkili olduğu gösterilmiştir. Yapılan bir çalışmada UPS inhibisyonunun solunum sistemi düz kasları üzerindeki anti-inflamatuvar etkisi araştırılmıştır. Özel olarak MG132 ile muamele edilen hücrelerde; IL-6 ve sICAM, IP-10, MCP-1, MIF, RANTES gibi diğer sitokinlerin düzeylerinde azalma görülürken inflamatuvar yanıtı arttıran serin/treonin protein kinaz (MAPK)'ın negatif regülatörü olan MKP-1 düzeylerinde artış saptanmıştır.
- Serin/treonin protein kinaz (MAPK)'ın aktivasyonu fibrotik ve inflamatuvar proteinlerin çoğalmasından göçüne ve sentezine kadar çok çeşitli hücre sel fonksiyonlarda önemli bir role sahiptir. Bu sebeple, MAPK inhibisyonu inflamasyonun düzeltilmesi açısından uygun bir strateji olarak görülmüştür.

Ubikuitin-proteozom sisteminin (UPS) inhibisyonu viral replikasyonu nasıl etkilemektedir?

- Koronavirüslere etkisi ile ilgili yapılmış az sayıda çalışma olmasına rağmen proteozomal inhibitörlerin virüs replikasyonunu inhibe edebileceği, bunu da protein sentezi blokajı, endoplasmik retikulumdaki stresin artırılması ve UPS yolağının aktive edilmesi ile mümkün olabileceği hipotezi ortaya konulmuştur.
- Kısıtlı sayıdaki araştırmalarda bortezomib'in etkisinin düşük olduğu saptanmakla birlikte proteozom yolağının geri dönüşümsüz inhibitörü olan carfilzomib gibi güçlü inhibitörler de günümüzde mevcuttur. Yapılan bir çalışmada carfilzomib'in COVID-19'a karşı kullanılabilir en uygun proteozom inhibitörü olduğu sonucu elde edilmiştir.



Şekil: Proteazom inhibitörlerinin olası etki mekanizmalarının şematik gösterimi

COVID-19 Patogenezinde Rol Oynayan İnflamazom ve Piroptoz Tedavide Hedef Olabilir mi?



Inflammasomes and Pyroptosis as Therapeutic Targets for COVID-19

Yap JKY et al. (J Immunol published online June 3, 2020, j2000513; doi: 10.4049/jimmunol.2000513)

Derleyen: Dr. Tutku Taşkınoğlu (Düzen Laboratuvarlar Grubu)

- SARS-CoV2 bir RNA virüsüdür. Dolayısıyla patojen ilişkili moleküler kalıpları ("pathogen-associated molecular patterns";PAMP) endozomda bulunan TLR3, TLR7 ve TLR8 reseptörleri ile sitoplazmada yer alan RIG-1 ("retinoic acid-inducible gene") benzeri reseptörler olmak üzere RNA algılayan reseptörler tarafından tanınır.

SARS-CoV2'nin inflamazom ve piroptozu yol açtığını gösteren bulgular nedir?

- SARS-CoV2'nin inflamazom ve piroptozu aktive ettiğine dair bulgulardan birisi klinik seyri ağır olan hastalarda gözlenen LDH yüksekliğidir. LDH, hücre membranının parçalanması sonucunda hücre dışına salınan sitozolde bulunan bir enzimdir. LDH salınımı, piroptoz takibinde kullanılmaktadır.
- İnflamazom aktivasyonu sonucu COVID-19 hastalarında sitokin salınımı gerçekleşir. Bu hastaların serumlarında yüksek düzeyde IL-1 β ve IL-1RA ("interleukin-1 receptor antagonist") saptanır.

Viral hastalıklarda immün yanıt nasıl oluşur?

- NOD-benzeri ("nucleotide-binding oligomerization domain") reseptörlerin aktivasyonuna yol açan patojenler veya alarminler moleküler düzeyde inflamazom oluşumuna ve kaspaz-1 aktivasyonuna neden olur. Kaspaz-1'in aktivasyonu sonucunda özellikle IL-1 β ve IL-18 olmak üzere proinflatuar sitokinlerin salınması gerçekleşir.
- En iyi tanımlanmış inflamazom NLRP3-inflamazomudur ("NOD-like receptor (NLR) family pyrin domain-containing 3"). NLRP3-inflamazomları virüsle ilişkili hastalıklarda ve antiviral cevapta önemli bir role sahiptir.

SARS-CoV2'ye benzeyen SARS-CoV'a karşı immün yanıt nasıl meydana gelmektedir?

- SARS-CoV2'nin NLRP3-inflamazomu aktive edip etmediği bilinmemektedir. Ancak SARS-CoV'da NLRP3'ü aktive eden en az üç protein ifade edilmiştir: zarf(E), ORF3a ve ORF8b.
- Golgi kompleksinin zarında yerleşen E proteini bir iyon kanalı (viroporin) olarak işlev görür ve sitozole Ca²⁺ kaçağına yol açar. Golgi kompleksi ve plazma membranında yerleşim gösteren ORF3a K⁺ kanalı olarak rol oynar.
- NLRP3 sitozolde bulunan yüksek düzey Ca²⁺'a duyarlı, yüksek K⁺ konsantrasyonu ile inhibe olduğu için SARS-CoV'nin viroporin aktivitesi muhtemelen inflamazom aktivitesini indüklemektedir. Hücre içi iyon dengesinin bozulması sonucunda mitokondriyal hasar ve reaktif oksijen üretimini (ROS) indüklenir ki bu da NLRP3 aktivasyonuna yol açar.
- SARS-CoV viroporin aktivitesinden bağımsız olarak da inflamazomları aktive edebilir. E ve ORF3a proteinleri NF- κ B sinyalizasyonunu stimüle ederek IL-1 β , IL-18 ve IL-8 dahil olmak üzere inflammatuar sitokinlerin ve kemokinlerin transkripsiyonuna yol açar ve NLRP3 ekspresyonunu stimüle eder.
- ORF3a ayrıca NLRP3 inflamazomunu aktive eder.
- ORF8b, NLRP3'ün lösinden zengin tekrarlayan domainleri ile doğrudan etkileşime girerek NLRP3'ü aktive eder.

SARS-CoV2 ile SARS-CoV ile olan benzerlikleri nedeniyle inflamazom yanıtı oluşturabilir mi?

- SARS-CoV2, genetik yapı olarak SARS-CoV ile ~%79 benzerlik gösterir ve E proteini %94,7 korunmuştur. Bu nedenlerden dolayı SARS-CoV2'nin NLRP3-inflamazomu benzer şekilde aktive edebileceği düşünülmüştür. Ancak SARS-CoV2 ile SARS-CoV ORF8'i arasında dikkat çekici bir fark olduğu ve NLRP3 aktivasyonunu sağlayan ORF8b'de bulunan bölgenin olmadığı gösterilmiştir.

- Bu iki virüsün ORF3a için %72 amino asit dizisi benzerken ORF3b'de sadece %32 oranında benzerlik bulunmaktadır.
- SARS-CoV2'de ORF3a ve ORF8'lerin NLRP3 ile etkileşiminin olup olmadığının belirlenmesi veya bu proteinlerin iyon kanalı olarak fonksiyon görerek indirekt yoldan inflamazom aktivasyonu yapıp yapmadıklarının gösterilmesi önemli katkı sağlayacaktır.

SARS-CoV2'in immün patogeneğinde rol oynadığı düşünülen başka yollar, proteinler var mı?

- SARS-CoV2 gibi viral enfeksiyonlara karşı meydana gelen immün yanıtta NLRP3 ve inflamazomlar dışında diğer NLR'ler de yer alır. Bu NLR'ler arasında NOD1 ve NOD2 yer almaktadır. Bunlar lökosit ve epitel hücrelerinde eksprese edilirler ve NODozomlar olarak adlandırılan multiprotein kompleksleri oluştururlar. NODozomlar NF-κB sinyalizasyonunu ve tip I IFN üretimini yönetirler.
- NLR'nin bir başka alt grubu olan NLRX1, NLRP12 ve NLRC3 ("NLR family CARD domain containing 3") inflamasyonun negatif düzenleyicileri olarak işlev görürler. Bunlar NF-κB sinyalizasyonunu, tipl IFN cevabını ve ROS üretimini düzenleyerek inflamasyonu azaltırlar.
- SARS-CoV2'nin ORF9c proteini NLRX1 dahil olmak üzere konak immün yanıtının negatif regülatörlerini aktive ederek mitokondriyal antiviral sinyalizasyon proteinini (MAVS) engeller ve böylece NF-κB aracılı sitokin yapımını inhibe eder.
- İnflamazom aktivasyonu piroptozu tetikler. Piroptoz gasdermin D-aracılı membran rüptürü ve sitozolik içeriklerin spontan hücre dışına salınımı ile karakterize programlanmış hücre ölümüdür.
- İnflamazom aktivasyonu sonucunda kaspaz-1, kaspaz-4, kaspaz-5 ve kaspaz-11 gasdermin-D'yi aktive eder. Gasdermin-D hücre membranında porlar oluşturur. Bu porlar hem IL-1β ve IL-18'in salgılanmasını kolaylaştırır hem de Na⁺ ve su moleküllerinin içeri alınımını sağlayarak hücrenin şişmesine ve bunu takiben patlamasına neden olur.
- Virüsleri fagosite etmiş makrofajların piropitozu sonucunda viral partiküller, sitokinler, kemokinler, LDH, ATP ve ROS dahil olmak üzere alarminler ortama salınır. Piropitoz viral antijenlerin ve RNA'nın dolaşıma karışması immünkomplekslerin oluşmasına ve böbrek gibi hedef organlarda birikmesine yol açarak iddi bir inflamatuvar yanıtı yol açar.
- SARS-CoV2 ile indüklenen inflamazom aktivasyonu ve alveolar makrofajlarda piropitozis, ARDS ve ateş olmak üzere pnömoni semptomlarını büyük ölçüde şiddetlendirebilir.

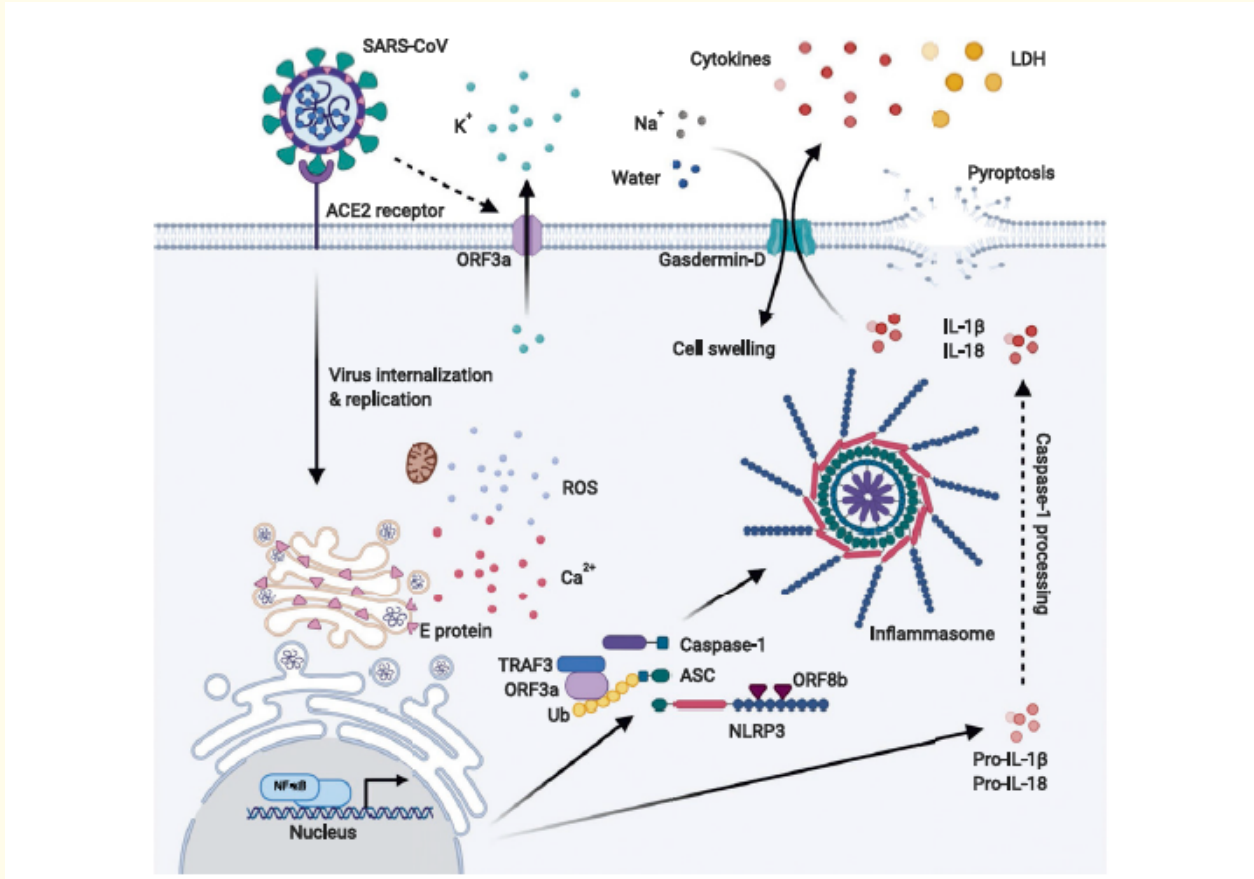
SARS-CoV2 immün patogeneğinde rol oynadığı düşünülen NLRP3 aktivasyonu bizi nasıl yönlendirir?

- COVID-19 hastalarında lökositoz ve piroptoz etkileri bir arada sitokin fırtınasına yol açabilir. Özellikle klinik tablosu ağır hastalarda alveoler makrofajlarda NLRP3 aktivasyonu ve alveoler epitel hücrelerinde HMGB1 ("MAPK kinase 6-mediated high-mobility group box 1") proteini ekspresyonu akciğer inflamasyonunun artışına yol açar. Dolayısıyla ventilatör gerektiren hastaların tedavisinde NLRP3 inhibitörlerinin kullanımı akciğer doku hasarının azaltılmasına yardımcı olabilir.

COVID-19 tedavisi için üzerinde çalışılan inflamazom düzenleyiciler nelerdir?

- Tranilast, NLRP3'e inhibitör etkili triptofan analogudur. Tranilast alerjik ve atipik bronşiyal astım gibi inflamatuvar hastalıklar, dermatit, alerjik konjonktivit, keloidlerin tedavisinde kullanılmakta olan bir ilaçtır. Tranilast, terapötik etkileri ve minimal yan etkileri göz önüne alındığında özellikle komorbiditesi olan COVID-19 hastaları için ilgi çekici bir ilaçtır.
- Alkol bağımlılığı tedavisinde kullanılan bir ilaç olan disülfiram; piropitoz ve gasdermin D'ye bağımlı sitokin salımı için güçlü bir inhibitördür. İnflamazom aktivasyonunu etkilemeden gasdermin-D'nin por oluşumunu inhibe eder.
- IL-1β dahil olmak üzere inflamazom kaynaklı sitokinleri engellemek amacıyla Anakinra kullanımı faz 3 klinik çalışmalarında test edilmektedir.
- Doğal ve sentetik kökenli olmak üzere farklı NLRP3 inhibitörleri vardır. Bu bileşikler, NLRP3'ün yapısal proteinlere ya da ASC ve kaspaz-1 gibi içeriğinde yer alan bileşiklere etki ederek direkt ya da indirekt yoldan NLRP3'ü inhibe ederler.
- NLRP3 çekirdek proteini ile doğrudan veya ASC ve kaspaz-1 üzerinden dolaylı olarak engelleyebilir. Örneğin, doğal polifenolik flavonoid silimarin ve bitki seskiterpen lakton partenolid, NF-κB yolağını inhibe ederek NLRP3 aktivasyonunu ve inflamatuvar sitokinlerin transkripsiyonu engeller.

- Birçok bitkide bulunan doğal bir antioksidatif flavonoid olan quercetin, NLRP3 dahil olmak üzere birçok inflamazom inhibitörüdür.
- NSAID (nonsteroid anti inflammatuar)'ler gibi klinik olarak onaylanmış ilaçlar da NLRP3'ü seçici olarak inhibe ederler ve kullanılabilirler. Flufenamik asit ve mefanamik asit gibi NSAID'lerin plazma membranında Cl taşınmasını düzenleyen anyon kanalları yoluyla NLRP3 inflamasyonunu geri dönüşümsüz olarak inhibe ettiği gösterilmiştir. NSAID'ler proinflammatuar sitokinlerin salınımını da engeller.
- **Tip I ve Tip III IFN'ler** hem IL-1 β hem de inflamazom bileşenlerinin transkripsiyonunu baskırlar. Tipli IFN'ler in vitro deneylerde SARS-CoV enfeksiyonuna karşı etkili bulunmuştur.



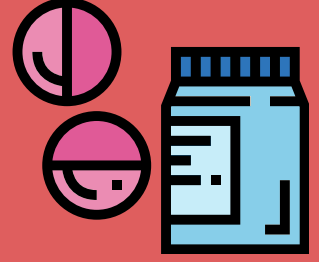
Şekil. SARS-CoV ile aktive olan NLRP3 inflamazomu

COVID-19 Hastaları Erken Antiviral Tedaviden Fayda Görür mü?

COVID-19 patients benefit from early antiviral treatment: a comparative, retrospective study

Yu T et al. (J Med Virol 2020;1-9; doi: 10.1002/jmv.26129)

Derleyen: Dr. Yeşim Beşli (VKV Amerikan Hastanesi, İstanbul)



- Çalışmada antiviral tedavinin başlanma zamanının ve uygulama süresinin COVID-19 tanısı almış hastaların kliniğine etkisi araştırılmıştır. Bu amaçla, Çin'in Wuhan Union Hastanesinde antiviral ilaçlarla tedavi edilen hafif ila orta şiddette kliniği olan 129 tanısı doğrulanmış COVID-19 hastasının tıbbi kayıtları değerlendirilmiştir.
- Hastalar antiviral tedaviyi erken ve geç dönemde alan olmak üzere iki gruba ayrılmıştır. Hastaların demografik verileri, laboratuvar test sonuçları, viral klirens süreleri, akciğer bilgisayarlı tomografi (BT) taramaları vb. özellikleri iki grup arasında karşılaştırılmıştır.

Hastalarda izlenen tedavi stratejilerinin sonuçları nelerdir?

- Tüm hastalara antiviral tedavi uygulanmıştır. Tedavide izlenen stratejiler Tablo'da özetlenmiştir.
- Erken ve geç antiviral tedavi uygulanan hastalar arasında sadece glukokortikoid tedavisi alanlarda (%28,79'a karşı %14,29) anlamlı fark gözlenmiştir (Tablo).
- Tek değişkenli analizde ise, glukokortikoid tedavi ile viral klirens süresi arasında düşük derecede negatif korelasyon saptanmıştır.

Antiviral tedavilerin SARS-CoV2 viral klirens süresi üzerindeki etkileri nasıldır?

- Viral klirens süresi erken antiviral tedavi gören hastalarda, geç antiviral tedavi uygulanan hastalara kıyasla daha kısa olarak saptanmıştır (Erken antiviral tedavi virüs klirensini ortalama 7 gün kısaltmıştır) (Tablo).

Antiviral tedavi süresi erken tedavi edilen hasta grubunda 21 gün olarak saptanırken geç tedavi edilen hasta grubunda 17 gün olarak bulunmuştur.

Tablo. COVID-19'lu hastaların tedavileri ve sonuçları

	Sayı (%) veya medyan (IQR)			p değeri*
	Toplam (n=129)	Erken Tedavi (n=66)	Geç Tedavi (n=63)	
Tedavi, sayı (%)				
Antiviral tedavi	129 (%100,00)	66 (%100,00)	63 (%100,00)	
Arbitol	126 (%97,67)	64 (%96,97)	62 (%98,41)	0,5867
Interferon	31 (%24,03)	20 (%30,30)	11 (%17,46)	0,0879
Oseltamivir	11 (%8,53)	5 (%7,58)	6 (%9,52)	0,6921
Ribavirin	18 (%13,95)	12 (%18,18)	6 (%9,52)	0,1560
Ganciclovir	1 (%0,78)	0	1 (%1,59)	0,3042
Antibiyotik tedavisi	105 (%81,40)	56 (%84,85)	49 (%77,78)	0,3023
Antifungal tedavi	3 (%2,33)	2 (%3,03)	1 (%1,59)	0,5867
Oksijen tedavisi	95 (%73,64)	53 (%80,30)	42 (%66,67)	0,0789
Glukokortikoidler	28 (%21,71)	19 (%28,79)	9 (%14,29)	0,0458
İmmünoterapi	8 (%6,20)	4 (%6,06)	4 (%6,35)	0,9458
Sonuçlar, medyan (IQR)				
Hastalığın başlangıcından SARS-Cov-2 RNA tespitine kadar geçen süre, gün	10 (3-16)	7 (3-13)	12 (9-17)	0,000
Hastalığın başlangıcından antiviral tedavi başlanana kadar geçen süre, gün	6 (3-12)	3 (1-4)	12 (9-16)	0,000
Hastalık sırasında antiviral tedavi süresi, gün	19 (15-24)	21 (17,25-26)	17 (14-24)	0,013
Hastalığın başlangıcından SARS-Cov-2 RNA negatifleşene kadar geçen süre, gün	25 (19-32)	22 (17-29,75)	29 (23-36)	0,000

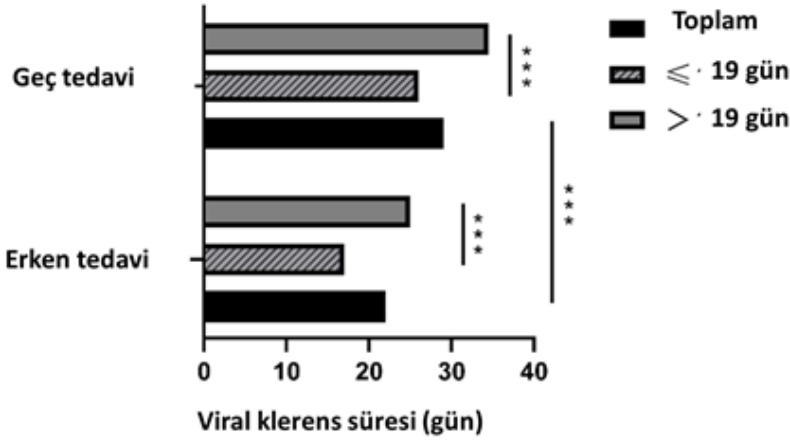
*: p değerleri erken tedavi ve geç tedavi hastaları arasındaki farklılıkları gösterir. p <0.05 istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Erken antiviral tedavi uygulanan olgularda hastalığın seyri nasıldır?

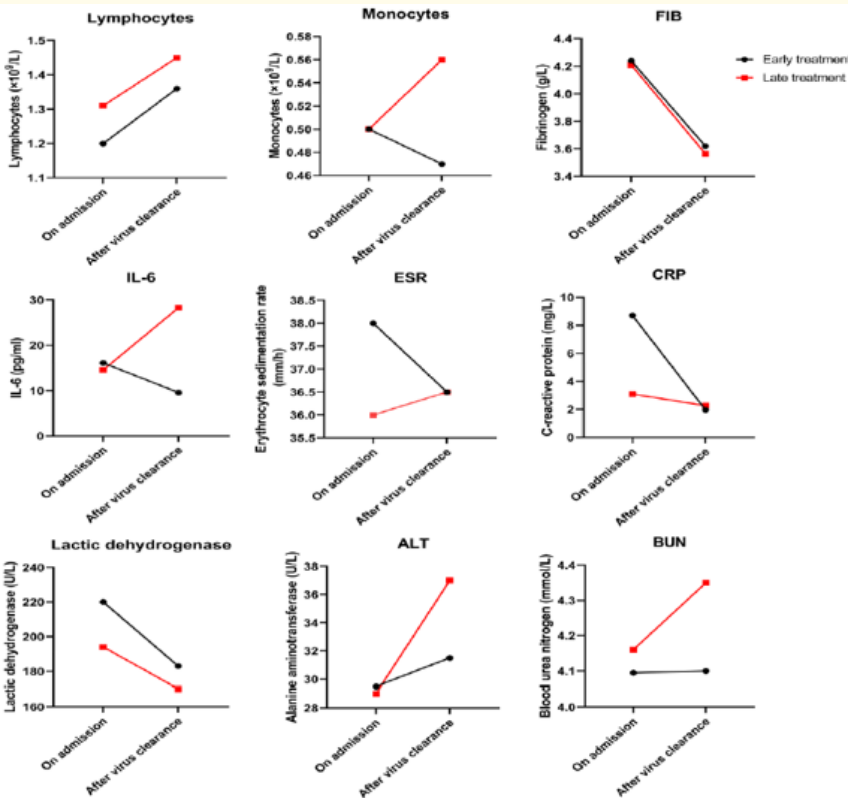
- Viral klerensten sonra, tüm hastalarda mutlak lenfosit sayıları artmıştır.
- Monosit sayısı, geç tedavi alanlarda artmaya devam ederken erken antiviral tedavi gören hastalarda azalmıştır.
- Erken ve geç antiviral tedavi alan gruplarda serumdaki inflamatuvar belirteçlerin düzeyleri arasında belirgin fark saptanmıştır. C-reaktif protein (CRP), eritrosit sedimentasyon hızı (ESR) ve IL-6 seviyesi erken antiviral tedavi gören hastalarda düşük tespit edilmiştir.
- Geç tedavi edilen hastalarda alanin aminotransferaz (ALT), aspartat aminotransferaz (AST) ve kan üre azotu (BUN) seviyeleri daha yüksek bulunmuştur. Bu durum geç tedavi edilen hastalarda olası karaciğer ve böbrek zedelenmesine bağlı olabilir.
- BT görüntülerinde her iki grupta da akciğer enfeksiyonunun etkili bir şekilde gerilediği saptanmıştır (Şekil 2).

Makalede göze çarpan veriler:

- Erken (6 günden önce) ve kısa süreli antiviral ilaç viral klerens süresini etkili bir şekilde azaltabilir ve hastanın prognozunu iyileştirebilir.



Şekil 1. COVID-19 hastalarında erken ve geç tedavi uygulanan gruplar arasındaki viral klerens süresindeki farklılıklar *** P < 0.001

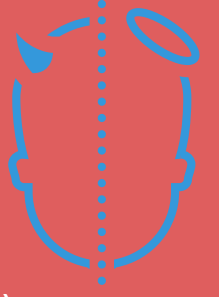


Şekil 2. Farklı antiviral tedavi stratejileri altında COVID-19 hastalarında laboratuvar bulgularının analizi.

Siyah ve kırmızı çizgiler sırasıyla erken ve geç antiviral tedavi grubunu temsil eder.

FIB, fibrinojen; IL-6, interlökin-6; ESR, eritrosit sedimentasyon hızı; CRP, C-reaktif protein; ALT, alanin aminotransferaz; BUN, kan üre azotu.

COVID-19'lu Hastalarda Anjiyotensin Dönüştürücü Enzim İnhibitörleri ve Anjiyotensin Reseptör Blokörleri: Dost mu Düşman mı?



Angiotensin-Converting Enzyme Inhibitors and Angiotensin Receptor Blockers in Patients With Coronavirus Disease 2019: Friend or Foe?

Shyh GI et al. (Cardiol Rev Jul 2020, 28(4):213-216,vol 28-4; doi: 10.1097/CRD.0000000000000319)

Derleyen: Dr. İlke Toker Önder (Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji AD)

- COVID-19 enfeksiyonunda cevaplanmamış sorulardan birisi COVID-19 hastalarında renin-anjiyotensin-aldosteron sisteminin (RAAS) etkisidir.
- Salgının ilk aylarında, enfeksiyona duyarlılık ve enfeksiyonun ciddiyeti ile hastanın kardiyovasküler durumu (hipertansiyon ve diyabetes mellitus gibi) arasında pozitif ilişki olduğu gözlemlenmiştir. Buna dayanarak, **RAAS blokörlerinin** [ACE inhibitörleri ve anjiyotensin reseptör blokörleri (ARB)] HT ve DM'da olduğu gibi kardiyovasküler hastalıkta kullanılmasının bu bireyleri enfeksiyona daha duyarlı hale getirdiği ve daha hızlı kötüleşmeye yol açtığı hipotezi öne sürülmüştür. Bununla birlikte, literatürde RAAS yolunun inhibisyonunun COVID-19'da hem solunum hem de kardiyak koruma sağlayabileceğini, akut solunum sıkıntısı sendromunu (ARDS) hafifletebileceğini öne süren veriler mevcuttur.
- Makalede COVID-19 ve RAAS yolu arasındaki varsayılan ilişki ışığında iki karşıt görüş tartışılarak COVID-19'lu hastalarda ACE inhibitörleri ve ARB'lerin kullanımı veya kesilmesi açısından klinik bakış açısı incelenmiştir.

Bakış açısı 1: ACE inhibitörleri ve ARB'ler, SARS-CoV2'nin hedeflenen hücelere kesintisiz girişine yol açan, böylece COVID-19'un seyrini şiddetlendiren ACE2 ekspresyonunu artırır

- Dolaşım hacminin azaldığı durumda, böbrekte bulunan jukstaglomerüler aparatın renin salınımı uyarılarak homeostaz korunmaya çalışılır. Renin, anjiyotensinojeni anjiyotensin I'e dönüştürür ve ACE, AT1'i AT1I'ye hidrolize ederek aldosteron üretimini başlatır. Böylece homeostazı yeniden sağlamak için sodyum tutulması, su reabsorpsiyonu, hücre çoğalması ve vazokonstriksiyon aracılığıyla dolaşım hacmi artırılır. RAAS kaskadının aktivasyonu, genel homeostazı koruyarak vazokonstriksiyonu dengelemek için ACE2'ye bağımlı karşıt bir yolağı da tetikler (*Şekil*).
- ACE2 membrana bağlı bir enzimdir ve kalp, böbrekler, gastrointestinal sistem ve akciğer alveoler epitel hücreleri dahil olmak üzere birçok hayati organda eksprese edilir. COVID-19 durumunda, SARS-CoV2 için giriş noktası görevi görür.
- Hayvan modellerinde ve insan çalışmalarında, ACE inhibitörleri ve ARB'lerin dokulardaki mRNA ekspresyonunu veya protein seviyelerini artırarak ACE2 ekspresyonunu artırdığı gösterilmiştir.
- ACE inhibitörleri ve ARB kullanımının, RAAS yoluna etkiyle, sırasıyla AT I ve AT II'nin birikmesine yol açtığı, bunların yıkılıp homeostazı yeniden sağlamak için de ACE2-bağımlı yolağı aktive ettiği düşünülmektedir (*Şekil*).
- SARS-CoV ve SARS-CoV2'yi içeren prelinik çalışmalarda ACE2'nin ekspresyon miktarının enfektivite derecesi ile doğrudan ilişkili bulunmuştur. SARS-CoV2 ACE2'ye SARS-CoV'a kıyasla 10-20 kat fazla afiniteyle bağlanır. Bu nedenle, klinisyenler ACE2 inhibitörleri ve ARB'ler yoluyla ACE2 aktivitesinin artırılmasının SARS-CoV2'nin enfektivitesini güçlendirebileceğini ve COVID-19 hastalarının klinik sonuçlarını şiddetlendirebileceğini öne sürmüşlerdir.

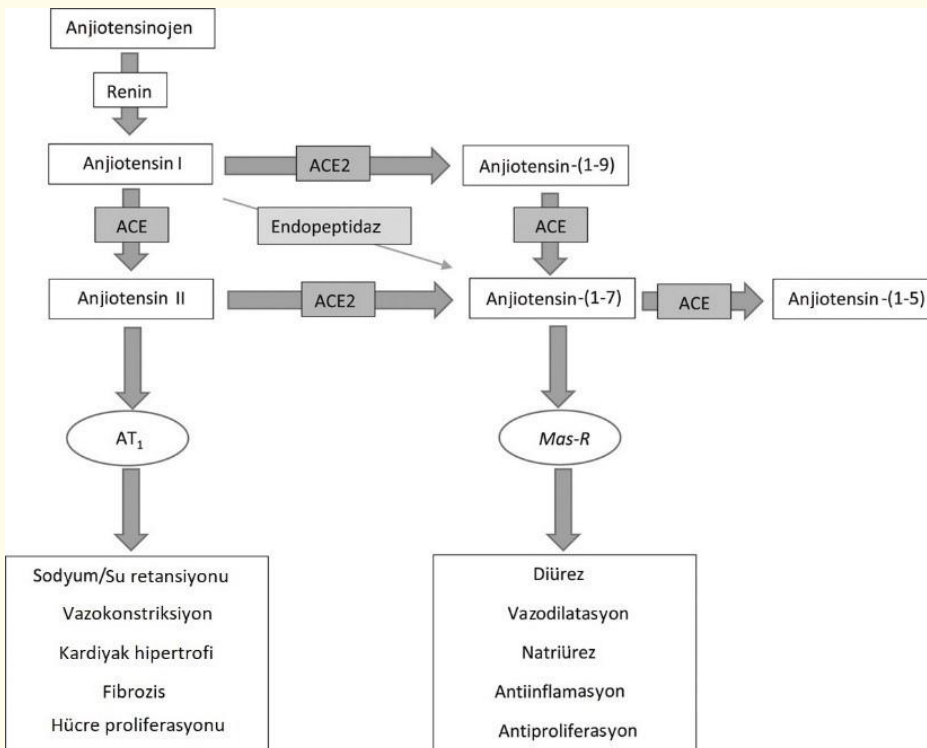
Bakış açısı 2. ACE inhibitörleri ve ARB'ler, COVID-19 ile enfekte kişilerde vazodilatör ve antiinflamatuvar etkilere neden olan anjiyotensin- (1-7)'yi artırır

- ACE2-bağımlı RAAS kaskadında, ACE2, AT I'yi AT(1-9)'a; AT II'yi AT(1-7)'ye hidrolize eder. Ayrıca AT1, endopeptidazların etkisi ile AT(1-7)'ye; AT(1-7) de ACE tarafından AT(1-5)'e dönüştürülebilir (*Şekil*).

- ACE inhibitörleri tarafından RAAS blokajı sonucu biriken AT I, endopeptidazların etkisiyle AT (1-7)'ye dönüştürülür ve ACE tarafından AT(1-5)'e yıkımının olmamasıyla daha da fazla AT (1-7) birikir. ARB'lerin RAAS blokajı sonucu da ACE2 ekspresyonunun artmasıyla AT II birikir ve yine AT(1-7) artar. AT(1-7) kan hacmini artırmak için vazokonstriksiyon yapan AT II'nin aksine vazodilatasyon, antiinflamasyon, natriürez ve apoptozu sağlar. Bunların yanı sıra, ACE2-bağımlı RAAS blokajının kalp koruyucu etki gösterdiği bilinmektedir.
- Miyokard infarktı sonrası uzun dönem AT(1-7) infüzyonu ile kardiyak disfonksiyonun geri döndüğü ve epitel tamiri hayvanlarda gözlenmiştir. Ağırlıklı olarak kalp ve böbrekte proksimal tübül içinde yüksek oranda eksprese edilen ACE2, kardiyak korumaya ek olarak böbrek fonksiyonunun korunması ile ilişkilendirilmiştir. Hayvan çalışmalarında, glomerüloskleroz, diyabetik nefropati ve diyabetik retinopati gibi diyabetle ilişkili komplikasyonların ilerlemesini geciktirmiştir. Birkaç çalışma da ACE2'nin oksijenizasyonunu koruyarak ARDS'yi azaltabildiği gösterilmiştir. ACE2 geni bulunmayan farelerde sepsis durumunda ciddi akut akciğer yetmezliği olduğu bulunmuştur. Bu nedenle, klinisyenler ACE2, AT (1-7) ve mas üzerinden ACE2-bağımlı yolun kardiyovasküler koruma sağlayarak, nefrotik sendromda proteinüriyi düzelter ve ARDS'de akut akciğer hasarını azaltan bir etki göstereceğini öne sürmüşlerdir.

Gözlemsel çalışmalardan ve hayvan modellerinden elde edilen çelişkili verilere rağmen makul bir açıklama getirilebilir mi?

- ACE inhibitörlerinin ve ARB'lerin COVID-19 enfeksiyonunu şiddetlendirip şiddetlendirmedeği konusu belirsizliğini korumaktadır.
- ACE inhibitörleri ve ARB'lerin kullanımı sonrasında ACE2 ekspresyonunda görülen artışın, viral girişi kolaylaştırmasıyla ve COVID-19 prognozunda kötüleşmeyle bağdaştırmak mantıklıdır.
- Klinisyenler, ACE2-bağımlı yan ürün AT(1-7) keşfedildiğinden beri böbrek ve kalp koruyucu etkisi nedeniyle sıklıkla ACE inhibitörleri ve ARB'leri reçete etmişlerdir. 11 Mart tarihinde Lancet'teki, COVID-19'lu hastalarda ACE inhibitörlerinin ve ARB'lerin potansiyel etkilerini belirten editoryal yazıyı takiben, 17 Mart'ta Amerikan Kalp Derneği, Amerika Kalp Yetmezliği Derneği ve Amerikan Kardiyoloji Koleji ortak bir bildiri yayınlamış, ACE inhibitörlerinin ve ARB'lerin, kalp yetmezliği, hipertansiyon veya iskemik kalp hastalığı gibi faydalı olduğu bilinen endikasyonlarda kullanımının sürdürülmesini önermiştir. Hipertansiyonu olan 1128 COVID-19 hastasını içeren büyük bir retrospektif çok merkezli çalışma mortaliteyi azalttığını göstermiştir.
- Randomize kontrollü insan deneyleri ACE inhibitörleri ve ARB'lerin yarar veya zararlarını kanıtlayana kadar, hastanın RAAS ajanlarını eklemeyen veya çıkarmadan önceki hemodinamik durumunun ve kliniğin dikkatle değerlendirildiği standart klinik yaklaşım uygulanmalıdır.



Şekil. ACE2 yolağı olan RAAS. ACE, anjiyotensin dönüştürücü enzim; AT₁, anjiyotensin II tip 1 reseptörü; Mas-R, Mas reseptörü.