

KLİMUD Haftalık Literatür Özetleri

COVID-19 TEDAVİSİ VE AŞI ÇALIŞMALARI

1. 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

Sunumlarımın başında “Bu savaşı mikroorganizmalar kazanacak...” diye başlayan bir cümle kurarken dinleyicilerin hiçbirinin yakın zamanda böylesine bir durumla karşı kaşıya kalacaklarını akıllarından geçirdiğini sanmıyorum. Geldiğimiz noktada çoğu zaman sahne arkasındaki görevlerinin farkına varılmayan Tıbbi Mikrobiyoloji Uzmanları bugün hiç çekinmedem tüm insanlığa yardım etmek için elinden geleni yapıyor. Okuyacağınız bu özetler ülkemizde bu uzmanlık dalının tüm neferlerini bir araya getirmek için vargücüyle çalışan derneğimiz “KLİMUD” ve üyelerinin hiçbir karşılık beklemeden, güncel bilimsel literatüre ulaşımı kolaylaştırmak için sarfettiği çabanın son ürünü. Ben de bu vesileyle bu sürecin içinde yer almaktan, KLİMUD’un bir üyesi ve Tıbbi Mikrobiyoloji Uzmanı olmaktan hissettiğim gururu tüm okuyucularla paylaşmaktan mutluluk duyuyor, keyifli okumalar diliyorum.

Dr. Cihan Yeşiloğlu
Abdi İbrahim İlaç, Medikal Direktörlük

Tıbbi mikrobiyoloji uzmanları olarak sevgili hocalarımız önderliğinde öğrenmeyi sürdürdüğümüz ve edindiğimiz bilgileri paylaşarak hem toplumun hem sağlık çalışanlarının merak ettiği soruları cevaplayabildiğimiz bir süreç geçirdik.

Nitelikli bilginin herkes için ulaşılabilir olmasını sağlayan KLİMUD derneğimize, hocalarımıza ve bu süreçte desteklerini esirgemeyen tüm meslektaşlarıma teşekkür ederim.

Dr. Müge Hacer Özkarataş
Adana Kozan Devlet Hastanesi, Tıbbi Mikrobiyoloji

COVID-19 pandemisine karşı verilen mücadele dünya çapında ve ülkemizde hız kesmeden devam etmekte ve bilim insanları canla başla emek sarf etmektedir. KLİMUD bünyesinde derlediğimiz literatür özetleriyle güncel bilgileri sağlık camiasına aktarmaya çalıştık. Yoğun emekleri ve özverileri için başta Dr. Banu Sancak ve Dr. Osman Sezer Cirit olmak üzere; Makale Avcıları ekibine teşekkürlerimi sunarım.

İyi ki varsın KLİMUD.

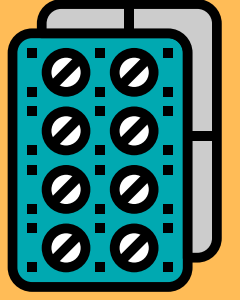
Dr. Emre Özkarataş
Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi, Temel İmmünoloji BD

Hidroksiklorokin ve Klorokin: COVID-19'da Standart Tedavi Olarak Kullanılmalı mıdır?

Hydroxychloroquine and Chloroquine in COVID-19: Should They Be Used as Standard Therapy?

Ibanez et al. (Clin Rheumatol 2020 Jun 3;1-5; doi: 10.1007/s10067-020-05202-4.)

Derleyen: Dr. Sedat Vezir (Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji AD)



Klorokin (KL) etki mekanizmaları nelerdir?

- Virüslerin reseptörlere bağlanmasını inhibe eder.
- Siyalik asitlerin sentezinde görev alan kinon redüktaz 2'yi inhibe eder. HCoV-O43 ve ortomiksovirusler reseptör olarak siyalik asitleri kullanır. Eğer siyalik asit SARS-CoV2'nin hedefiyse, KL'den etkilenebilir.
- KL'nin, ACE2 reseptörünün glikozilasyonuna etki ederek virüsün hedef hücrelere bağlanmasını önleyebileceği düşünülmektedir. Bu hipotez, Vero hücreleri üzerindeki SARS-CoV1 yüzey reseptörü ACE2'nin azalmış glikozilasyonu bulgularına dayanmaktadır.
- KL'nin, SARS-CoV1, Dang humması ve Chikungunya virüslerinde hedef hücrelere pH'a bağlı hücreye giriş mekanizmasını engellediği bildirilmiştir. Ön veriler, KL'in lizozom içinde SARS-CoV2 asidifikasyonunu engelleyebileceğini ve SARS-CoV2 S proteinini yıkmak için düşük pH'ya ihtiyaç gösteren katepsinleri inhibe edebileceğini göstermektedir.
- Başka bir olası etki mekanizması ise KL'in THP-1 hücrelerinde MAPK ("p38 mitogen-activated protein kinase") fosforilasyonunu (yani aktivasyonunu) inhibe etmesidir. Bu fosforilasyon, birçok virüsün replikasyon döngüsü için gereklidir. HCoV-229 koronavirüs modelinde KL ile virüs inhibisyonunun bu yolla meydana geldiği düşünülmektedir. SARS-CoV2'de de MAPK gibi kinazların inhibisyonu, klorokin etki mekanizmalarından biri olabilir.
- KL anti-inflamatuar cevabı da uyarabilir. THP-1 hücrelerinde IL-1 β mRNA ekspresyonunu inhibe eder ve IL-1 β salınımını azaltır.
- KL'in etkisiyle TNF α , IL-1 ve IL-6 sitokinlerinde azalma bildirilmiştir. Dengue virüsü modelinde, ilacın virüs ile enfekte U937 hücrelerinde IFN α , IFN β , IFN γ , TNF α , IL-6 ve IL-12 gen ekspresyonunu inhibe ettiği bulunmuştur.

Hidroksiklorokin (HK) etki mekanizması KL'e benzer midir?

- HK, toksitesi daha düşük olan bir aminokinolindir.
- KL'e benzer şekilde pH'yı artırır ve antiviral etki gösterir. Aktive olmuş immün sistem hücreleri üzerinde etkilidir.
- Melanine güçlü bir şekilde bağlanır. Cilt ve gözler gibi melanin içeren dokularda birikerek retinopatiye yol açabilir. KL'e kıyasla retinopati oluşturma riski düşüktür. Bu durum daha düşük doku birikimi ile açıklanmaktadır.
- In vitro koşullarda HK, SARS-CoV2'ye karşı en az KL kadar etkili olmakla birlikte etki mekanizmaları ile ilgili çalışmalar KL ile kıyasla daha azdır.

KL ve HK'nin COVID-19 tedavisindeki yeri ile ilgili klinik çalışmaların sonuçları nasıldır?

- 31 Mart 2020 tarihinde Wuhan'dan randomize, kör, kontrollü bir çalışma yayınlanmıştır. Bu çalışmada tedavi grubunda (400 mg/gün HCQ (5 gün)) ve kontrol grubunda 31 hasta bulunmaktadır. Ortanca yaş 44,7 dir. Kadın-erkek oranı eşittir. Tüm hastaların BT ile pnömoni tanısı mevcuttur. Her iki gruba da iyi tanımlanmamış standart bakım (oksijen tedavisi, antiviral ilaçlar, antibiyotikler, immünglobulin, bazen kortikosteroid) uygulanmıştır. Başvuru sırasında kontrol grubuna kıyasla, tedavi grubunda daha çok sayıda hastada ateş ve öksürük bulguları tespit edilmiştir. Kontrol grubuna kıyasla tedavi grubunda ateş, öksürük ve BT pnömoni bulgularında belirgin düzleme gözlenmiştir.

- Çin'de yapılan kontrollü pilot bir çalışmada ise HK tedavisi (400 mg/gün; 5 gün) ya da sadece geleneksel tedavi alan 30 hasta karşılaştırıldığında bir fark saptanmamıştır.
- Her iki çalışmada da ciddi yan etki bildirilmemiştir. Ancak yüksek dozlarda HK'in QT aralığı uzamasına neden olabileceği için her iki çalışmaya da kardiyak aritmisi olan hastalar dahil edilmemiştir.
- Fransa'da yapılan bir çalışmada, 600 mg/gün HK alan 20 hasta, başka bir merkezden tedavi edilmeyen bir grup hasta ile karşılaştırılmıştır. NF sürüntü örneklerinde viral yük günlük test edilmiştir. HK grubundaki 6 hastaya azitromisin de verilmiştir. HK ve azitromisin ile tedavi edilen hastaların tümünde, sadece HK ile tedavi edilen hastaların %57,1'inde ve kontrol grubu hastaların %12,5'inde 6 gün sonra virüs saptanmamıştır (p<0,001). Hastalarda hiçbir yan etki veya klinik düzelme bildirilmemiştir. Yazarlar, olası bir bakteriyel enfeksiyon nedeniyle tedaviye azitromisinin eklendiğini, ancak azitromisinin antiviral bir etkiye sahip olabileceğini de belirtmişlerdir.
- Bir başka çalışmada 600 mg/gün HK (10 gün) ve azitromisin (ilk gün 500 mg; sonraki 4 gün 250 mg/gün) alan 80 hastanın sonuçları değerlendirilmiştir. Bu çalışmada sadece 2 hastada iyileşme saptanmamıştır. Hastaların %83'ünde 7. günde ve %93'ünde 8. günde NF örneklerinde PZR ile virüs tespit edilmemiştir. 5. günde solunum örneklerinden yapılan virüs kültürlerinin %97,5'inde üreme saptanmamıştır. Hastanede kalış süresi ortalama 5 gün olarak belirlenmiştir. Ancak bu çalışmada HK ile monoterapi ya da standart tedavi ile karşılaştırma yapılmamıştır.
- Çin'den çok merkezli, randomize kontrollü bir çalışmada, 75 hastaya standart bakım, 75 hastaya ise HK, (ilk 3 gün boyunca 1200 mg/gün, daha sonra hafif/orta grupta 2 hafta, ağır grupta 3 hafta boyunca 800 mg/gün) verilmiştir. Üst veya alt solunum yollarından alınan numuneler, tarama sırasında ve 4, 7, 10, 14, 21 ve 28. günlerde viral RNA açısından analiz edilmiştir. 28 gün sonra negatif sonuç elde edilen test sayısı iki grupta da benzer saptanmıştır (HK grubunda %85,4; standart bakım grubunda %81,3). Semptomlarda düzelme her iki grupta da benzer bulunmuş, en sık diyare olmak üzere yan etkiler HK grubunda daha sık saptanmıştır (%30; %9).
- Kardiyovasküler risk ile ilgili olarak, 84 hastanın HK ve azitromisin kombinasyonu ile tedavi edildiği bir çalışmada hastaların %30'unda QT aralığında uzama saptanmış, %11'inde ise aritmi açısından yüksek risk yaratan QT aralığında > 500 ms'ye kadar uzama görülmüştür (ort. yaş: 63, %74'ü erkek, %65'i HT hastası ve %20'si diyabetiktir).
- Almanya, Japonya, Hollanda, İspanya, Birleşik Krallık ve ABD'nin sağlık sistemlerinden verilerin sunulduğu çok uluslu çalışma sonuçlarına göre HK ve azitromisin uygulanan 323.122 hastada 30 günlük tedavi sonrasında anjina / göğüs ağrısı riskinin %15, kalp yetmezliği riskinin %22 ve kardiyovasküler mortalite riskinin 2 kat arttığı saptanmıştır.
- Brezilya'dan yapılan bir çalışmada, yüksek doz KL (10 gün 1200 mg/gün) veya düşük doz KL (ilk gün 900 mg, sonraki 4 gün için 450 mg) olacak şekilde iki tedavi kolunda 81 hasta analiz edilmiştir. Tüm hastalara azitromisin ve seftriakson verilmiştir. Yüksek doz uygulanan grupta daha fazla QT aralığında uzama (> 500 ms) ve daha yüksek mortalite (%17) gözlenmiştir. Genel mortalite oranı KL almayan hastalara ait eski kayıtlardaki mortalite oranları ile benzer bulunmuştur (%13.7) Kardiyovasküler etkiler nedeniyle yüksek doz tedavi grubuna hasta alma sonlandırılmıştır. Ciddi klinik tablosu olan hastalara tedavi vermemenin ülke yasal düzenlemelerine göre etik olmaması sebebiyle, çalışmada plasebo grubuna yer verilmemiştir.

İyileşen COVID-19 Hastalarında SARS-CoV2 RNA Pozitifliği: Persistans, Örnekleme Sorunları veya Re-enfeksiyon?



Retest positive for SARS-CoV-2 RNA of "recovered" patients with COVID-19: Persistence, sampling issues, or re-infection?

Kang H et al. (J Med Virol 2020 Jun 3; doi:10.1002/jmv.26114)

Derleyen: Dr. Orçun Zorbozan (Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Parazitoloji AD)

- COVID-19 hastalarının iyileşme kriterleri arasında RT-PZR testinde ardışık iki negatif sonuç elde edilmesi yer almaktadır. Ancak bazı hastalarda taburcu edildikten sonra tekrar SARS-CoV2 RNA pozitifliği saptandığına dair yayınlar bulunmaktadır.

SARS-CoV2, iyileşmiş COVID-19 hastalarını yeniden enfekte edebilir mi?

- İyileşmiş COVID-19 hastalarında SARS-CoV2'ye karşı antikor oluştuğu birçok çalışmada gösterilmiştir, ancak bazı hastalarda oluşan nötralizan antikor düzeyleri oldukça düşük saptanmıştır.
- SARS-CoV2 ile enfekte edilen maymunlarda antikor oluşuktan sonra denekler tekrar aynı dozda SARS-CoV2'ye maruz bırakılmış ve enfeksiyon saptanmamıştır.
- Eldeki bu verilerle SARS-CoV2 enfeksiyonunu geçirmiş olmanın koruyuculuk sağladığı düşünülebilir. Ancak reenfeksiyon olasılığını ekarte etmek için daha fazla çalışma yapılması gerekmektedir.

İyileşen COVID-19 hastalarının bazılarında neden yeniden SARS-CoV2 RNA pozitifliği görülür?

- Örnek alımı ve saklanması ile ilgili preanalitik ya da analitik sorunlar yalancı negatif sonuca yol açabilir.
- Taburcu edilen bazı hastalar test yapılma zamanının uygun olmaması nedeniyle taburculuk kriterini tam olarak karşılamıyor olabilir.
- Yeniden SARS-CoV2 pozitifliği ölü virüs veya aktif replikasyonun olmadığı viral gen parçalarına bağlı olabilir.
- Bireysel farklılıklar (komorbid hastalıklar, ileri yaş vb) nedeniyle virüsten temizlenme gecikebilir.

SARS-CoV2 RNA pozitif olan iyileşmiş COVID-19 hastaları bulaştırıcı mıdır?

- Teorik olarak aktif viral replikasyonu olan COVID-19 hastaları bulaştırıcıdır.
- Çin'de yapılan çeşitli çalışmalarda viral RNA pozitif olan iyileşmiş COVID-19 hastalarıyla yakın temasta olan bireylerin hiçbirinde COVID-19 enfeksiyonu görülmemiştir.
- Viral RNA pozitif saptanan iyileşmiş COVID-19 hastalarında yapılan bir başka çalışmada viral yükün düşük olması ya da canlı virüs bulunmaması nedeniyle hiçbir hastanın kültüründen virüs izole edilememiştir.
- Bir başka çalışmada ise hastalığın erken evresinde virüsün üst solunum yolunda aktif olarak çoğaldığı ancak ileri evrelerde viral yükün azaldığı gösterilmiştir.

SARS-CoV2 RNA pozitif saptanan iyileşmiş COVID-19 hastaları nasıl yönetilmelidir?

- "Yeni Koronavirüs Pnömoni Tanı ve Tedavi Protokolü (7. Baskı)" içerisinde yer alan taburculuk kriterlerine uyulmalıdır.
- Glukokortikoid tedavisi alan, komorbid hastalıkların eşlik ettiği ve 65 yaş üstü hastalarda virüsün temizlenme süresi uzayabileceğinden hastanede yatış süresi uzatılabilir.
- Taburcu edilen hastalar 14 gün boyunca evde karantinada tutulmalı ve sağlık gözetimi yapılmalıdır, kendi kendine 14 gün gözlem uygulamasından kaçınılmalıdır.
- Serolojik testler ile viral RNA arayan testler taburculuk kararında birlikte kullanılabilir.

COVID-19 Tedavisine Multidisipliner Yaklaşım Nasıl Olmalıdır?

Treatment algorithm for COVID-19: a multidisciplinary point of view

Galluccio F et al. (Clin Rheumatol 2020, May 29; doi: 10.1007/s10067-020-05179-0)

Derleyen: Dr. Cihan Yeşiloğlu (Abdi İbrahim, Medikal Direktörlük)



Antiviral ajanlar

- Retrospektif veriler Lopinavir/ritonavir ile erken antiviral tedavinin ciddi (kritik) vakaların insidansını azaltabileceğini desteklemektedir. Çin'de yapılan bir klinik araştırmada hastanede yatan, erişkin, klinik tablosu ciddi COVID-19 hastalarında uygulanan lopinavir/ritonavir tedavisinin klinik tablonun iyileşmesinde ya da mortaliteye standart tedaviye kıyasla üstünlüğü olmadığı saptanmıştır. Ancak bazı kanıtlar bu ilaçların semptomların başlangıcından sonra 12 gün içinde başlanmasının klinik iyileşmeye katkı sağlayabileceğini desteklemektedir.
- Geniş spektrumlu bir antiviral olan remdesevir Amerika ve Avrupa'da yüzlerce hastada kullanılmıştır. İlacın yararlı olduğuna dair bazı anektodal kanıtlar bildirilmiş ise de kuvvetli veriler ortaya konmamıştır.
- Arbidol, oseltamivir, favipiravir, interferon beta-1a, darunavir ve kobistat** gibi antiviraller ile ilgili klinik çalışmalar halen devam etmektedir.

Antimalaryal ilaçlar ve potansiyel antiviral, immünmodülatör aktiviteye sahip ilaçlar nelerdir?

Klorokin ve hidroksiklorokin:

- Klorokinin viral replikasyonun pH bağımlı basamağını inhibe ederek, SARS-CoV2 enfeksiyonu ve yayılımı üzerine güçlü etkisi olabileceği gösterilmiştir. Ayrıca bu ilaç viral enfeksiyon ve replikasyona engel olan otofaji inhibitörü gibi de çalışmaktadır.
- Antiviral ve potansiyel sinerjistik etkileri nedeniyle hastalığın erken fazlarında kullanılmaktadır.
- İyi bilinen immünmodülatör etkileri (IL-6 ve TNF-alfayı baskılar) vardır.

Konvelesan plazma

- Yüksek titrede antikorlar virüse bağlanıp nötralize ederek, yeni hücrelerin enfekte olmasını engelleyebilir ve diğer etki mekanizmalarını aktive edebilir.
- Uygulamalar sonrası klinik iyileşme gözlemlendiği bildirilmiştir.

Antikoagulan tedavi

- SARS-CoV2'nin DİK'i (disemine intravasküler koagülasyon) tetikleme olasılığı nedeniyle çalışma grubu tarafından heparin tedavisi önerilmektedir.

İmmünmodülatörler, kortikosteroidler ve kurtarma tedavileri

- Retrospektif bir çalışmada **Tocilizumab**'ın (rekombinant IL-6 antikoru), antiviral tedaviye rağmen kliniği kötüye giden hastaların tedavi protokolüne eklendiğinde, iyileşme sağladığı bildirilmiştir.
- İnsan IgG1 monoklonal antikoru **Sarilumab**, anti-IL-6 kimerik antikoru **Siltuximab** ve IL-1 reseptör antagonisti **Anakinra** denenmektedir.
- Barisitinib** ve **Ruksolitinib** deneme aşamasındadır.
- Aşırı immün yanıt ve miyokardiyal tutulumun olduğu durumlarda, kısa süreli düşük dozda kortikosteroid kullanımı önerilmektedir.
- Plazma değişimi, intravenöz immünooglobulin, **etoposid** ve **emapalumab**, refrakter veya tekrarlayan "Makrofaj Aktivasyon Sendromu" tedavisinde diğer tedavilerin başarısızlığı durumunda kurtarıcı tedavi olarak düşünülebilir. Hastalığın zaman çizelgesi ve anatomopatolojik raporlarla da desteklenen klinik, laboratuvar ve görüntüleme verileri **Şekil**'de sunulmuştur.



Antikor tedavisi yaklaşımlarının amaç ve hedefleri nelerdir?

- S ("spike") proteinlerinin hedef olarak belirlenmesi, böylece virüsün konak hücreye girişinin nötralize edilmesi ve koruyucu antikor cevabının oluşturulması
- S proteininin reseptöre bağlanmasını sağlayan RBD bölgesinin tanımlanması ve mutasyonların takip edilmesi
- SARS-CoV2'yi nötralize edecek monoklonal antikorun belirlenmesi

Konvelesan plazma tedavisi nasıl yapılır ve riskleri nelerdir?

- İyileşmiş hastaların plazmasından antikor karışımı hazırlanarak, plazmada bulunan nötralizan antikorlar ile enfeksiyonun önlenmesi, erken dönemde sınırlandırılması ve kritik hastaların tedavisinin sağlanması amaçlanmaktadır.
- SARS ve MERS gibi koronavirüslerde erken konvelesan plazma tedavisinin enfeksiyonun yayılımını ve mortalitesini azaltabileceği bildirilmiştir.
- Tedavinin uygulanmasının riski serum hastalığı ve antikor-bağımlı hastalık alevlenmesidir. Antikora bağımlı enfeksiyonun alevlenmesi tablosunda bir koronavirüs türüne karşı oluşmuş antikorlar aracılığıyla başka bir viral suşa karşı enfeksiyonun şiddetlenmesi görülebilir.

SARS-CoV2'nin enfeksiyon oluşturmasını etkileyen yapısal ve genetik özellikleri nelerdir?

- S proteinin en değişken bölgesi RBD bölgesidir. RBD bölgesi C-terminal rezidülerinde SARS-CoV'dan farklılık göstermektedir. RBD bölgesinde yer alan 6 aminoasitin (L455, F486, Q493, S494, N501 ve Y505) ACE reseptörüne bağlanmada önemli bir role sahip olduğu gösterilmiştir.
- RBD mutasyonları yapısal stabiliteyi ve enfektiviteyi güçlendirmektedir. Bu bölgedeki mutasyonların konak adaptasyonu ve türler arası enfektivite ile ilişkili olduğu düşünülmektedir. Bu bölgede rekombinasyon ya da insersiyon meydana gelmesi virüsün enfektivite ve replikasyon kapasitesini artırabilir.
- Dünyanın farklı bölgelerinden SARS-CoV2 izolatları toplanmış ve prototip izolatla (Wuhan-Hu-1) RBD mutasyonları karşılaştırılmıştır. RBD mutasyonları benzer afinite grubu (F342L, R408I) ve yüksek afinite grubu (N354D D364Y, V367F, W436R) olmak üzere 2 grup altında toplanmıştır. Pozitif seleksiyon baskısı altındaki yüksek afiniteli RBD mutasyonları grubu SARS-CoV2'nin enfeksiyon yeteneğini artırmaktadır.

SARS-CoV2 için etkili insan monoklonal antikorlarının belirgin özellikleri nelerdir?

- RBD bölgesine bağlanan CR3022, 47D11 insan monoklonal antikorları SARS-CoV2'yi nötralize edebilmektedir.
- 47D11 çapraz nötralizasyon yapabilmektedir. RBD bölgesinde korunmuş ortak bir epitopa bağlandığı düşünülmektedir.
- SARS-CoV enfeksiyonunda nötralizan etki gösteren 80R, m396 ve CR3014 monoklonal antikorları SARS-CoV2'de etkili bulunmamıştır.

Sonuç olarak;

- RBD bölgesindeki mutasyonların belirlenmesi terapötik ilaçların geliştirilmesinde önemli görünmektedir.
- Enfeksiyondan iyileşen hastalardan antikorların elde edilmesinin ve yüksek miktarlarda toplanmasının bölgesel olarak gerçekleştirilmesi ve bu antikorların hastaya bakım veren sağlık personelinin acil profilaksisinde ve enfeksiyonun erken döneminde tedavide kullanarak klinik tablonun ilerlemesinin önlenmesinde kullanılması ilk strateji olabilir.

COVID-19:

Bakır ve N-Asetilsisteinin (NAC) Potansiyel Rolü Nedir?

COVID-19: The Potential Role of Copper and N-acetylcysteine (NAC) in a Combination of Candidate Antiviral Treatments Against SARS-CoV-2

Andreou A et al. (In Vivo 2020;34: 1567-1588; doi: 10.21873/invivo.11946)

Derleyen: Dr. Oğuz Alp Gürbüz (SBÜ Dışkapı Yıldırım Beyazıt EAH, Tıbbi Mikrobiyoloji)



SARS-CoV2'ye karşı etkili olan ilaç mekanizmaları nelerdir?

- Bağışıklık sistemini güçlendirmek
- Virüsü yok etmek
- Virüsün hücreye girişini engellemek
- Virüs replikasyonunu engellemek
- Semptomatik tedavi

Remdesivir (RDV, GS-5734) ve EIDD-2801 nasıl etki ederler?

- RDV, başlangıçta Ebola virüsü hastalığının tedavisi için geliştirilen ve SARS-CoV ve MERS-CoV gibi filo-, pnömo-, paramikso- ve korona virüslerine karşı antiviral aktiviteye sahip bir nükleotit analogudur.
- Erken dönem RDV uygulaması, SARS-CoV virüsü ile enfekte olmuş fare modellerinde akciğerlerdeki viral yükün önemli ölçüde azalmasıyla sonuçlanmıştır.
- RDV, lopinavir/ritonavir/interferon-beta kombinasyonuna kıyasla in vivo ve in vitro MERS-CoV'da daha yüksek etkinlik göstermiştir.
- EIDD2801, kimyasal yapısı RDV'ninkine benzeyen bir ribonükleotid olan β -D-N4-hidroksisitidinin (NHC, EIDD-1931) oral olarak biyoyararlanılabilen bir ön ilacıdır. Çeşitli influenza suşlarının ve Venezüella at ensefalit virüsünün (VEEV) viral aktivitesini inhibe ettiği gösterilmiştir. NHC ayrıca MERS-CoV, SARS-CoV ve SARS-CoV2 ve diğer zoonotik yarası CoV'lere karşı geniş spektrumlu antiviral aktiviteye sahiptir.

SARS-COV2 tedavisinde bakırın rolü nedir?

- Bakır, patojenlere karşı konağın bağışıklık sistemi yanıtını artırabilir, güçlü anti-bakteriyel, anti-fungal, anti-viral ve anti-enflamatuar etki gösterebilir.
- SARS-CoV2 virüsünün bakır yüzeylerde 4 saatten fazla, kartonda 24 saat, paslanmaz çelikte \approx 48 saat ve plastikte \approx 72 saate kadar canlılığını koruyabildiği gösterilmiştir.
- Bakıra maruziyet, virüs morfolojisinde geri dönüşümsüz hasara ve viral genomun tahrip olmasına yol açar.
- Bakırın virüslere karşı etkisi konsantrasyona ve zamana bağlıdır.
- Bakırın etki mekanizması 3 şekildedir:
 1. Virüs membran ve "zarflarına" zarar verir ve virüslerin DNA veya RNA'sını yok edebilir.
 2. Virüsü öldürebilen reaktif oksijen türleri (ROS) üretir.
 3. Virüs için önemli işlevleri yerine getiren proteinlere müdahale eder.

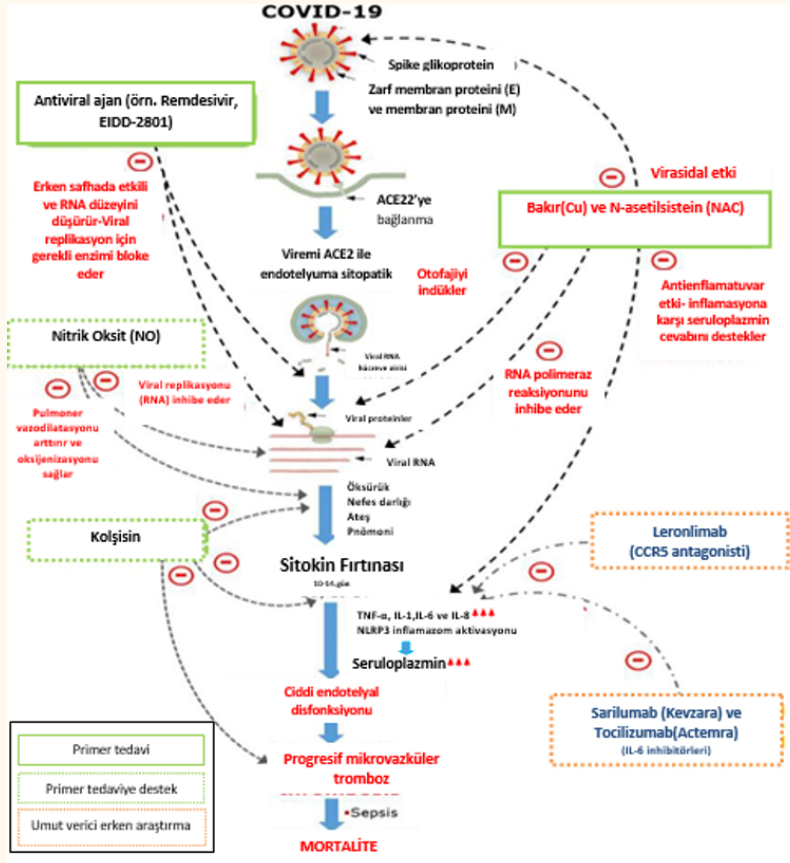
Sagripanti ve ark. 1993'te bakırın in vitro olarak 30 dakika içinde virüslerin % 99'unu inaktive ettiğini göstermiştir.

N-asetilsisteinin (NAC) bakırla birlikte tedavide rolü nedir?

- NAC, L-sisteinin öncüsüdür. Redoks durumunu düzenlemek, enflamatuar yanıtı modüle etmek ve dolaylı antioksidan özellikler sergilemek için doğrudan reaktif oksijen türlerini temizleyici görevi görür.
- Yapılan bir çalışmada sıçanlarda NAC uygulamasının redoks sisteminin antioksidan etkilerini düzenlediği ve bakırın aracılık ettiği beyin oksidatif stresini azalttığı gösterilmiştir. Bu veri, bakırın redoks özelliklerini azaltmak ve hücre hasarını önlemek için *viral enfeksiyonların tedavisinde bakır ve NAC'ın birlikte kullanılma potansiyelini* göstermektedir. Ayrıca NAC, manganez süperoksit dismutaz (MnSOD) aktivitesini artırarak ve hayvan modellerinde sepsisin neden olduğu *diyafragmatik disfonksiyon ve hiperoksik akciğer hasarını önleyerek dolaylı antioksidan etki* sergiler.
- Bakır, hücrenin anti-viral savunmasını tetikleyerek otofaji ve apoptozu indükleyebilir. NAC'nin RNA bölünmesine neden olan yüksek MnSOD seviyeleri ile MnSOD aktivitesini artırarak bağışıklık yanıtına katkıda bulunduğu ileri sürülmüştür. NAC ayrıca D vitamini eksikliği ve insülin direncini hafifletebilir; NAC'ın COVID-19 hastalığı olan diyabet hastaları için potansiyel faydasını ortaya çıkarabilir. RDV, bakır ve NO, COVID-19 enfeksiyonunun ilk aşamalarında RNA replikasyonunu inhibe ederek sinerjistik etki gösterebilir. Enfeksiyonun klinik seyri ve tedavide kullanılacak aday ilaçların potansiyel inhibisyon/blokaj aşamaları *Şekil*'de özetlenmiştir.

Sonuç olarak;

- Enflamatuar yanıtının durdurulmaması hayati organ hasarına ve ölümlere neden olmaktadır. Bu nedenle, *viral enfeksiyonu ve enflamasyon kaskadını farklı aşamalarda bloke edebilen ajanlarla çoklu tedavi, en uygun tedavi yaklaşımı olarak kabul edilir.*
- Sunulan etkinlik ve güvenlik verilerine dayanarak, yazarlar *SARS-CoV2'ye karşı etkili tedavi olabilecek beş ilacın (RDV, bakır, NAC, NO ve kolşisin) kombinasyonunu önermektedir.* Bu konuda randomize, çift kör, plasebo kontrollü çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.



Şekil. COVID-19'un klinik seyri ve aday ilaçların inhibisyon/blokaj basamakları.

Agresif COVID-19 Tedavisinde Konvelesan Plazma

Convalescent Plasma Therapy: A Passive Therapy for An Aggressive COVID-19

Sahu KK et al. (J Med Virol 2020 May 21; doi: 10.1002/jmv.26047)

Derleyen: Dr. Aylin Erman Daloğlu (S.B.Ü. Antalya EAH, Tıbbi Viroloji)



Önceki salgınlarda konvelesan plazma tedavisi ile ilgili deneyimler nelerdir?

- Güvenilir, hedefe yönelik ilaçların veya bir aşının olmaması nedeniyle, konvelesan plazmanın enfekte hastaların veya duyarlı popülasyonun bağışıklık sistemini uyarabilmek amacıyla tedavide kullanılması mantıklı bir seçenek olarak görünmektedir.
- SARS hastalarında, konvelesan plazma kullanımının mortalite oranlarını düşürdüğü ve hastanede yatış süresini kısalttığı bildirilmiştir.
- Afrika Ebola salgınında ise konvelesan plazma tedavisi uygulamasından yarar sağlanmamıştır. Yapılan birçok çalışmada hastaların hepsinde anti-Ebola antikoru saptanmadığı için bu donörlerden elde edilen plazmaların Ebola hastalığı tedavisi için yararlı olmayacağı belirtilmiştir.

COVID-19 salgınında konvelesan plazma tedavisi ile elde edilen sonuçlar nelerdir?

- COVID-19 hastalarında konvelesan plazma kullanımına ilişkin ön sonuçlar olumludur.
- Mekanik ventilasyon uygulanan beş hastaya, konvelesan plazma (IgG bağlayıcı titresi 1:1000'den yüksek olan) tedavisi uygulanan bir çalışmada tüm hastalarda klinik düzelleme gerçekleşmiştir.
- Konvelesan plazma (1:640'ın üzerinde nötralizan antikor titresi) uygulanan 10 hastanın dahil olduğu bir çalışmada oksihemoglobin saturasyonunda artış, CRP düzeyinde düşüş ve lenfosit sayısında artış görülmüştür.
- COVID-19 hastalarında konvelesan plazma kullanımı ile ilgili yapılan beş çalışmanın sonuçlarının değerlendirildiği bir derlemede şu sonuçlar tespit edilmiştir:

Kritik hastalarda mortalite azalmıştır.

Hastaların çoğunda SARS-CoV2 RNA kaybolmuştur.

Hastaların klinik semptomları ve radyolojik bulguları düzelmiştir.

Plazma tedavisine sekonder önemli bir yan etki gözlenmemiştir.

Plazma ekstraksiyonunda donör seçimi ve zamanlama nasıl olmalıdır?

- FDA, COVID-19 konvelesan plazma toplama zamanı ile ilgili aşağıda belirtilen önerilerde bulunmuştur:
 - i. Senaryo A (Klinik bulgulara dayalı): Bağışçıların belirtileri bağıştan en az 28 gün önce tamamen geçmiş olmalıdır.
 - ii. Senaryo B (Klinik artı laboratuvar araştırmasına dayalı): Bağışçıların belirtileri bağıştan en az 14 gün önce geçmiş ve nazofaringeal sürüntüden negatif COVID-19 PZR sonucunun elde edilmiş olması gerekmektedir.

Nötralizan antikor titreleri için öneriler nelerdir?

- Donörün bulaştırıcı olmadığı doğrulandıktan sonra bağış için yeterli antikor seviyesine sahip olup olmadığını saptamak gerekmektedir.
- FDA, donör seçimi için SARS-CoV2 nötralize edici antikor titresinin en az 1:160 olması gerektiğini, böyle bir eşleşme mevcut değilse, 1:80 titresinin değerlendirilmesini önermektedir.

Konvelesan plazma terapisi için en iyi aday kimdir?

- FDA, COVID-19 hastalarında konvelesan plazma tedavisinin kullanımı için iki klinik endikasyon önermektedir:
Aşağıdakilerden biri veya birkaçının tanımlandığı Senaryo A (Şiddetli hastalık): Dispne, solunum hızı ≥ 30 /dk, kan oksijen saturasyonu ≤ 93 , paO_2/FiO_2 oranı 300, ve 24-48 saat içinde $>50\%$ akciğer infiltrasyonlarının ortaya çıkmasıyla radyolojik kötüleşme.
Aşağıdakilerden biri veya birkaçının tanımlandığı Senaryo B (Hayatı tehdit eden hastalık): Solunum yetmezliği, septik şok veya çoklu organ yetmezliği.
- FDA tarafından önerilmemesine rağmen başka bir potansiyel endikasyon, duyarlı popülasyonlarda konvelesan plazmanın profilaktik kullanımınıdır: [A] çoklu medikal problemi olan hastalar, [B] sağlık çalışanları ve [C] COVID-19 doğrulanmış vaka ile temaslı bireyler.
- Bu tedavinin koruyuculuğunun süresi bilinmemektedir, ancak uygulanan antikoron miktarına ve tipine bağlı olarak bağışıklık durumu aylarca devam edebilir.
- Bir diğer önemli faktör plazma infüzyonunun zamanlamasıdır. Vireminin ilk haftada maksimum olması beklendiğinden, erken infüzyonun en iyi yanıtı vermesi beklenmektedir.
- Olası mekanizmalar arasında viral nötralizasyon, antikora bağlı hücrel sitotoksisite ve/veya fagositoz yer almaktadır.

COVID-19'lu Hastalarda Konvelesan Plazma Terapisi Komplikasyonları Var mıdır?

- Şimdiye kadar yapılan çalışmaların hiçbirinde önemli bir yan etki görülmemiştir.
- Bu konuyla ilgili deneyimler sınırlı sayıda olduğu için konvelesan plazma tedavisinin potansiyel yan etkileri için ihtiyatlı olunması önerilmektedir.
- Diğer kan ürünü transfüzyonlarında olduğu gibi transfüzyonla ilişkili enfeksiyonlar, serum hastalığı, aşırı sıvı yüklenmesi ve transfüzyonla ilişkili akut akciğer hasarı gibi konvelesan plazma tedavisi için de geçerli olabilecek bazı yaygın, öngörülebilir veya bilinen yan etkiler bulunmaktadır. Teorik olarak antikor bağımlı enfeksiyonunun artışı riski olsa da, bugüne kadar tanık olunmamıştır.

Konvelesan Plazma Tedavisinin Geleceği

- Plazma tedavisi ile olumlu sonuçlar elde edilmiştir.
- Önümüzdeki birkaç ay boyunca, ciddi klinik tablosu olan hastaların tedavisinde ve hatta hastalığın seyrinde ve/veya profilaktik amaçlı konvelesan plazma tedavisinin kullanımında artış beklenmektedir.
- Uygun bağışçılar belirlenmeli ve nötralize edici antikorumları saptamak için testler uygulanmalıdır.
- Antikor testlerinin valide edilmesi durumunda, bu testlerin konvelesan plazmanın daha etkili kullanımına rehberlik etmesi beklenmektedir.

Ciddi ve Yaşamı Tehdit Eden COVID-19 Enfeksiyonlarında Konvelasan Plazma Tedavisinin İyileşme Sürecine Etkisi - Randomize Klinik Çalışma

Effect of Convalescent Plasma Therapy on Time to Clinical Improvement in Patients With Severe and Life-threatening COVID-19 - A Randomized Clinical Trial

Ling Li et al. (JAMA 2020, June 3; doi:10.1001/jama.2020.10044)

Derleyen: Dr. Selay Demirci Duarte (Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji AD)



Ciddi ve hayatı tehdit edici COVID-19 hastalarında standart tedaviye eklenen konvelasan plazma tedavisinin tek başına standart tedaviye etkisi nedir?

- Konvelasan plazma tedavisi, SARS, MERS ve Ebola'da denenmiş, kesin sonuçları olmayan bir tedavidir.
- Bu tedavinin COVID-19 hastalarında kullanımı FDA tarafından onaylanmıştır.
- Plazma tedavisinden elde edilen umut vadeden sonuçlar olsa da, tedavi edici mekanizmaların tam olarak bilinmemesinin yanısıra kanıta dayalı standart donör seçimi, plazmanın kalite kontrolü veya alıcı endikasyonlarının belirlenmemesi gibi nedenlerden dolayı kullanım alanı sınırlıdır.
- DSÖ, pandemideki konvelasan plazma tedavisinde terapötik gücü en üst düzeye çıkarmak için, donör seçiminde standardizasyon ve konvelasan plazma kalite kontrollerini içeren bir rehber sunmuştur.

Randomize kontrollü klinik çalışmada hangi yöntemler kullanılmıştır?

- Çin'de yapılan bu çalışmaya 7 merkezden ciddi (respiratuar distress ve/veya hipoksi) ve yaşamı tehdit eden (şok, organ yetmezliği veya mekanik ventilatör ihtiyacı) COVID-19 enfeksiyonu olan 109 hasta dahil edilmiştir.
- 51 hastaya standart tedaviye ek olarak konvelasan plazma tedavisi, 50 hastaya ise yalnızca standart tedavi verilmiştir.
- Plazma donörleri 18-55 yaş arası, COVID-19 tanısı almış, nazofarengeal sürüntü örneklerinde ardışık 2 kez PZR negatifliği saptanmış, >iki hafta önce taburcu olmuş ve persistan semptomları bulunmayan bireyler arasından seçilmiştir.

Çalışmada elde edilen sonuçlar nelerdir?

- 28 günlük klinik iyileşme durumları karşılaştırıldığında konvelasan plazma grubu ile kontrol grubu arasında fark gözlenmemiştir.
- Ciddi hastalığı ya da yaşamı tehdit eden enfeksiyonu olan hastalarda konvelasan plazma grubu ile kontrol grubu arasında fark gözlenmemiştir.
- 28 günlük mortalite oranları ve taburculuk süresi açısından da bu iki grup arasında bir fark saptanmamıştır.
- 24., 48. ve 72. saatlerde yapılan SARS-CoV2 PZR sonuçlarının negatiflik oranı konvelasan plazma grubunda, kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur (24. saat için %44,7 vs %15; 48. saat için %68,1 vs %32,5; 72. saat için %87,2 vs %37,5). Bu durum konvelasan plazma tedavisinin antiviral aktivite ile ilişkili olduğunu ortaya koymaktadır.
- Çalışmada çoğu hastanın konvelasan plazma tedavisini iyi tolere ettiği gözlenmiş, sadece iki olguda yan etkilere rastlanmıştır.

'Bacillus Calmette Guerin' : Tüm Zamanların Kurtarıcısı mı?

Bacillus Calmette Guerin (BCG) vaccination use in the fight against COVID-19 – what's old is new again?

O'Connor E et al. (Future Oncol 2020, 14 May; doi: 10.2217/fon-2020-0381)

Derleyen: Dr. Ekin Kırbas (Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji AD)



BCG aşısının immün sistem üzerine etkileri nelerdir?

- BCG'nin tüberküloza karşı koruyucu etkinliğinin yanı sıra; TBC-dışı enfeksiyonlarda *heterolog immünmodülatör etkinliği* olan, mesane kanserinde tümör progresyonunu yavaşlatma özelliği ile etkili bir *immünoterapik* bir ajandır.
- BCG, sekonder enfeksiyonlara karşı bir immün hafıza oluşturmak için doğal bağışıklık sistemini eğitebilme yeteneğine sahiptir. *Eğitilmiş immün hafıza*, aşılanmadan 1 yıl sonraya kadar devam etmektedir.
- Fare modellerinde BCG'nin Avian Influenza A'ya karşı "eğitilmiş immün yanıt" oluşturduğu saptanmış; ancak hayatta kalma, klinik skorlar veya pulmoner inflamasyon ile ilişkisi gösterilmemiştir.
- Yapılan *in vivo* çalışmalarda sarı humma virüsü ile enfeksiyon sonrasında uygulanan BCG aşısının makrofajları epigenetik olarak yeniden programladığı ve bu hastalarda viremi sıklığını azalttığı gösterilmiştir.

BCG aşısının SARS-CoV2'ye karşı koruyucu olduğunu gösteren çalışmalar var mıdır?

Salgın sürecinde BCG ile aşılanma COVID-19'a bağlı morbidite ve mortaliteyi düşürebilir. Aşının SARS-CoV2 ile mücadelede kullanılabilirliğini araştıran çalışmalar devam etmektedir:

- Bazı çalışmalarda, ulusal BCG aşılama politikaları ile COVID-19 insidansı arasındaki ilişki araştırılmıştır. BCG aşılması yapılmayan ülkelerde COVID-19'a bağlı morbidite ve mortalite yüksek bulunmuş ve BCG aşılmasının koruyucu olabileceği düşünülmüştür.
- Avustralya ('BRAVE'; PI Curtis), ABD ('BADAS'; PI: Kamat, Dinardo) ve Hollanda' da (PI: Netea) aktif olarak yürütülen üç klinik çalışmada *6000'e yakın sağlık çalışanının placebo vs BCG ile aşılanması amaçlanmaktadır*. Avustralya ve ABD çalışmasında *aşıdan sonra COVID-19 insidansı ve hastalık semptomlarının şiddeti*, Hollanda çalışmasında ise *sağlık çalışanlarında aşılama sonrası iş gücü kaybının* araştırılması planlanmıştır.
- Mısır'da yürütülen bir gözlemsel klinik çalışmada *BCG aşılı ve aşısız COVID-19 hastalarında hastalığın şiddeti* karşılaştırılmaktadır.
- Pandemi süresince ülkelerden toplanan COVID-19 verilerindeki yetersizlikler, ülkelerin içinde bulunduğu salgın dönemlerindeki değişiklikler, izolasyon politikaları ve test sıklığında farklılıklar vb durumların değerlendirilmesi sonucunda *DSÖ; yürütülmekte olan çalışmalardan kesin bir kanıt elde edilinceye dek COVID-19'a karşı toplumun rastgele aşılanmaması gerektiğine dair bir bildiri yayınlamıştır*.

Mesane kanseri tedavisinde uygulanan intravezikal BCG tedavisi SARS-CoV2' ye karşı korur mu?

- BCG aşılama yolu ile intravezikal yolla etki mekanizmalarının farklı olması nedeniyle *intravezikal BCG tedavisi* uygulanan mesane kanseri hastalarında, BCG'nin COVID-19 enfeksiyonuna karşı koruyucu etkisi olup olmadığı bilinmemektedir.
- Bir pilot çalışmada, BCG tedavisi alan mesane kanseri hastalarında *ex vivo* monositlerde artmış sitokin yanıtı saptanmıştır. Bu çalışma *intravezikal BCG uygulamasının doğal immünolojik hafızayı (eğitilmiş bağışıklık-trained immunity) az da olsa uyurabildiğini* göstermektedir.

COVID 19'da KKK Aşıları Morbidite ve Mortaliteyi Azaltabilir mi?

Vaccine repurposing approach for preventing COVID 19: Can MMR vaccines reduce morbidity and mortality?

Anand Anbarasu et al. (Hum Vaccin Immunother 2020 Jun 5:1-2; doi: 10.1080/21645515.2020.1773141)

Derleyen: Dr. Aylın İrem Somun (Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji AD)



Çocuklarda düşük prevalans görülme sebebi aşılama programı olabilir mi?

- Pediatrik aşılama programı, IFN'ları ve NK hücrelerini uyararak SARS-CoV2'ye karşı doğal bağışıklık sağlayabilmektedir.
- Kabakulak, Kızamık ve Kızamıkçık (KKK) aşısı, SARS-CoV2'ye benzer şekilde, zayıflatılmış zarflı RNA virüslerinden oluşur. Sonuç olarak, SARS-CoV2 glikoproteinini ile KKK glikoprotein dizileri arasında sırasıyla %32, %31 ve %33 benzerlik olup bu durum antikor aracılı çapraz koruma sağlayabilir.

İnterferonlar ve Doğal Öldürücü Hücreler

- IFN'ler, güçlü antiviral aktiviteye sahip glikoproteinlerdir. Lökositler, fibroblastlar ve NK hücreleri sırasıyla IFN- α , IFN- β ve IFN- γ 'yi sentezler. NK hücreleri, tümör hücreleri ve virüsle enfekte hücreler gibi hedef hücreleri tanıma ve yok etme yeteneğine sahiptir.
- NK hücreleri üzerinde yapılan çalışmalar, bu hücrelerin viral enfeksiyonlarda birinci savunma hattı olduğunu göstermektedir. Ayrıca NK hücreleri, viral enfeksiyonların şiddetini ve süresini sınırlamada da önemli bir rolü vardır.
- Viral aşılar, NK hücrelerinin çoğalmasını tetikler ve NK hücre yanıtının daha güçlü ve uzun ömürlü olmasını sağlar. Bu nedenle, viral aşı uygulaması ciddi viral enfeksiyonları önlemek için potansiyel bir terapötik seçenek olarak önerilmektedir.

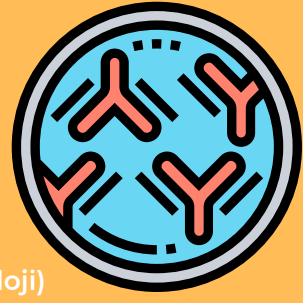
Sitokin Fırtınasının önlenmesinde aşının rolü nedir?

- COVID-19 patogeneğinde pro-inflamatuar sitokinlerin (IL-1 β , IL-6, IL-12, IL-18, IL-33, TNF- α , TGF- β) görüldüğü sitokin fırtınasının rol aldığı düşünülmektedir. Deneysel çalışmalarda, aşılamanın ardından görülen enfeksiyon durumlarında çok düşük seviyelerde sitokin üretiminin uyarıldığı ve bunun asemptomatik ya da hafif klinik tablolara yol açtığı gösterilmiştir. Bu durum, özellikle viral aşıları tamamlanmış çocuklarda görülen hafif ya da asemptomatik SARS-CoV2 enfeksiyonlarını açıklayabilir.

KKK aşıları umut verici midir?

- Vahşi tip hastalık suşlarına kıyasla aşı suşlarının uyardığı IFN'ların koruma sağlamada daha verimli olduğu bildirilmiştir. Benzer şekilde, aşı ile indüklenen NK hücreleri daha güçlü bir antiviral yanıt göstermektedir.
- KKK virüsleri ile SARS-CoV2'nin bulaşma yollarının benzer olması, birincil replikasyon yerlerinin üst solunum yolu olması ve olası çapraz koruyucu doğal immünite varlığı nedeniyle KKK aşılarının hem profilaksi hem de COVID-19 enfeksiyonu komplikasyonlarını önlemek amacıyla kullanımı önerilmektedir.

COVID-19 Aşıları: Nötralizan Antikorlar ve Alimunyum Etkisi



COVID-19 vaccines: neutralizing antibodies and the alum advantage

Hotez PJ et al. (Nat Rev Immunol 2020;1-2; doi: 10.1038/s41577-020-0358-6)

Derleyen: Dr. Müge Hacer Özkarataş (Adana Kozan Devlet Hastanesi, Tıbbi Mikrobiyoloji)

COVID-19 aşılarında ne seviyelerde nötralizan antikor yanıtı gözlenmiştir?

- Preklinik modellerde S proteine karşı yüksek seviyede nötralizan antikor üretimi geleneksel aşı yaklaşımlarıyla elde edilmiştir.
- Kimyasal yolla inaktive edilmiş bir virüs aşısının (PiCoVacc) ve rekombinant RBD protein bazlı bir aşının (CoV-RBD219N1), rhesus makaklarında veya farelerde SARS-CoV2 veya SARS-CoV ile homolog virüs tehdidine karşı yüksek düzeyde koruyucu bağışıklık sağladığı gösterilmiştir.
- PiCoVacc uygulanan tüm makakların SARS-CoV2 ile karşılaşma sonrası farens veya akciğerlerinde virüs saptanmamıştır. CoV-RBD219N1 uygulanan farelerde ise SARS-CoV ile karşılaşma sonrası %100 sağ kalım sağlanırken, sadece adjuvan uygulanan kontrollerde %0 sağ kalım elde edilmiştir.
- PiCoVacc aşısı uygulandığında nötralizan antikor titrelerinin farelerde binli değerlere ve rhesus makaklarında 400'e kadar indüklendiği görülmüştür. Benzer şekilde, CoV-RBD219N1 ile aşılanan farelerde, 640-1.280 arasında nötralizan antikor titreleri gözlenmiştir.
- İki adenovirüs-vektörlü aşının daha düşük düzeyde nötralizan antikor oluşturduğu saptanmıştır.
- PiCoVacc ve CoV-RBD219N1 aşılarında kullanıldığı gibi alüminyumun yüksek düzeyde nötralizan antikor oluşumuna yol açtığı görülmektedir.

Aşılarla eklenen alüminyumun etkileri nelerdir?

- Yapılan ilk çalışmalarda, intramüsküler veya subkutan formda alüminyum formülasyonlarının yavaş antijen salınımı ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Güncel çalışmalarda ise, antijen sunan hücrelerin lenfoid dokulara göçünü ve aktivasyonunu sağlayabileceği ileri sürülmektedir. Alüminyum formülasyonları inflamazom ve kompleman aktivasyonunu da tetiklemektedir.
- Alüminyumun alerjik inflamasyona yol açan TH2 hücrelerinin gelişimini indüklediği gösterilmiştir. TH2 hücreleri özellikle humoral immün yanıtın gelişiminde etkilidir. Aynı zamanda doku hasarına yol açan TH17 tipi yanıtın etkisini azaltır.
- Alüminyum adjuvanların kullanımıyla ilgili bir kaygı, aşı ile güçlendirilmiş TH2 tipi bağışıklık yanıtının solunum yolu hastalığına (VAERD) yol açabileceğidir. Ancak, adjuvansız koronavirüs aşılarıyla kıyaslandığında alüminyum formülasyonlarının, immünopatolojik etkileri azaltabileceği düşünülmektedir.
- Alüminyum, COVID-19 aşıları için önemli bir adjuvan olarak umut vadetmektedir. CoV-RBD219N1 aşısında adjuvan olarak alüminyum hidroksit (Alhidrojel) kullanılmıştır. PiCoVacc'de kullanılan alüminyum tipi ise belirtilmemiştir.

COVID-19'un Özellikleri, Tanı ve Tedavisi: İmmünolojik Açıdan Değerlendirme



Immunologic aspects of characteristics, diagnosis, and treatment of coronavirus disease 2019

Chang et al. (J Biomed Sci 2020;27(1):72; doi:10.1186/s12929-020-00663-w)

Derleyen: Dr. Emre Özkarataş (Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi, Temel İmmünoloji)

Yeni virüsün ilk defa tanımlanmasından sadece iki ay sonra, 16 Mart 2020'de insanlarda güvenilirliğini test etmek amacıyla RNA bazlı SARS-CoV2 aşısının ilk dozu uygulanmıştır. SARS-CoV2'ye karşı aşı geliştirilmesinde önemi olan yenilikçi hususlar aşağıda özetlenmiştir.

Koronavirüsün hedef antijeni

- ACE2 reseptörüne bağlanarak memeli hücrelerine girişi sağlayan S proteini, nötralizan antikorlar için önemli bir hedeftir. Hedef epitop küçültülmüş ve reseptör bağlanma alanı (RBD) olarak adlandırılan bir S proteini parçası halini almıştır. SARS-CoV2 aşısı çalışmalarında RBD'ye odaklanılmıştır. S proteininin tamamını ya da bazı kısımlarını içerecek şekilde tasarlanmış aşısı adayları mevcuttur. Virüsün tamamının kullanıldığı aşılarda, eozinofilik pulmoner patoloji ile ilişkisi nedeniyle daha az tercih edilmektedir.

Aşısı teknoloji platformu

- Günümüzde vektör-, DNA- ya da RNA-aşılarda platformları bulunmaktadır. DNA ya da RNA olmak üzere nükleik asit aşılarda, konakçı hücrede protein yapısındaki herhangi bir antijenin doğru bir şekilde ifade edilmesini sağlayabilir. Böylece viral enfeksiyon sırasında gerçekleşen antijen ekspresyonuna ve sunumuna benzer bir sonuç elde edilir.
- MERS'e karşı DNA aşılardının ve H7N9'a karşı RNA aşısının, bu platformların güvenli olduğunu gösteren faz I çalışmaları tamamlanmıştır. Nükleik asit aşısı tamamen sentetik olabilir ve birkaç hafta içinde formüle edilebilir. Bu durum, olası bir pandemi ile karşılaşıldığında değerli bir özelliktir.

İmmünopatoloji ve potansiyel yan etkiler

- Koruyucu nötralizan antikorları indükleyen koronavirüs antijenleri tanımlansa da, koronavirüs aşısı ile aşılanmış bireyler virüsle enfekte olduklarında akciğer eozinofilik patolojisi geliştirebilir.
- İnaktive edilmiş SARS-CoV aşısının ya da S antijeninin belirli bir parçasından oluşan aşısının uygulanmasından sonra makakların akciğerlerinde antikora bağımlı çoğalma ("antibody-dependent enhancement" (ADE)) görülmüştür. Bu çalışmalar, hedef antijen tasarlanmasının ve adjuvan seçiminin hem etkinlik hem de güvenlik açısından önemli olduğunu göstermektedir.

Sürü bağışıklığı

- Sürü bağışıklığı, bir popülasyonun önemli bir bölümünün, doğal enfeksiyon veya aşılama yoluyla, SARS-CoV2'ye karşı bağışıklık kazandığı durumu işaret eder. COVID-19 için bu oranın popülasyonun %60'ı olduğu tahmin edilmektedir. Doğal enfeksiyon yoluyla sürü bağışıklığına ulaşma stratejisi, bir dizi faktör göz önüne alındığında tavsiye edilmemektedir. Bu nedenle, bu pandemi ile mücadelede hem sağlık sistemi üzerindeki yoğunluğun azaltılması hem de aşı/etkili tedavilerin geliştirilmesi için zaman kazanılması açısından izolasyon ve sosyal mesafe uygulanması çok önemlidir.

COVID-19 tedavisinde immünolojik yaklaşımlar

- COVID-19 tedavisinde, antimikrobiyal ilaçların kullanımı, virüse özgül antikorlarla immünoterapi, monoklonal/poliklonal antikorların kullanımı ve interferon tedavisi olmak üzere çeşitli stratejiler değerlendirilmektedir. SARS-CoV enfeksiyonu tedavisinde kullanılacak ilaçlar *Tablo'da* özetlenmiştir.

CoV'u hedef alan monoklonal ve poliklonal antikorlar

- SARS-CoV S proteinine bağlanan bir insan IgG1 monoklonal antikor (mAb) olan CR3022 geliştirilmiştir. SARS-CoV S proteininin S1 alanına karşı bir rekombinant insan mAb (tek zincirli değişken bölge fragmanı, scFv, 80R) bulunmuştur. MAb, SARS-CoV'u etkili bir şekilde nötralize edebilir ve virüs ile ACE2'yi eksprese eden hücreler arasında sınırsız oluşumunu engelleyebilir.
- CR3014'ün (insan IgG1 mAb) SARS-CoV'u nötralize edebildiği ve dağ gelinciklerinde SARS-CoV enfeksiyonunu önleyebildiği bulunmuştur.
- Nötralizan antikorlar, SARS-CoV2 enfeksiyonu profilaksisi veya tedavisinde kullanılma potansiyeline sahiptir. S proteininin ACE2'ye bağlanmasını doğrudan bloke eden ilaçların COVID-19'un önlenmesinde kullanılması mümkün olabilir.

Konvelesan plazma

- Konvelesan plazma genellikle ortaya çıkan enfeksiyon hastalıkları için özgül bir aşı veya ilaç mevcut olmadığında pasif immünoterapi amacıyla kullanılabilir. Yapılan bir çalışmada SARS-CoV ile enfekte olmuş sağlık çalışanlarının konvelesan plazma ile tedavi edilmeleri sonucunda olumlu bir netice elde edilmiştir. Bir başka çalışmada MERS-CoV enfeksiyonu olan kritik hastalarda, konvelesan plazma tedavisinin fizibilitesinin yanı sıra güvenlik ve klinik etkinliği test edilmiştir. Eğer mevcutsa, SARS-CoV2 ile enfekte olmuş kritik hastaların tedavisi için konvelesan plazma kesinlikle düşünülebilir.

İnterferonlar

- İnterferonlar, virüs enfeksiyonuna karşı doğal bağışıklık yanıtı sırasında üretilir ve virüsün in vitro replikasyonunu inhibe ederler.
- SARS-CoV ile enfekte hücrelerde IFN transkripsiyonu inhibe edilir.
- Enfeksiyondan üç gün önce verilen rekombinant IFN- α 'un kontrol grubuna kıyasla viral replikasyonu ve akciğer hasarını azalttığı gösterilmiştir.
- Şiddetli MERS-CoV enfeksiyonu olan hastaların tedavisinde IF- α -2a ile ribavirinin birarada kullanılmasıyla sağ kalım sağlanmıştır.
- Bu bulgular, IFN'lerin COVID-19 tedavisinde kullanılabilirliğini düşündürmektedir.

Sitokin blokörleri

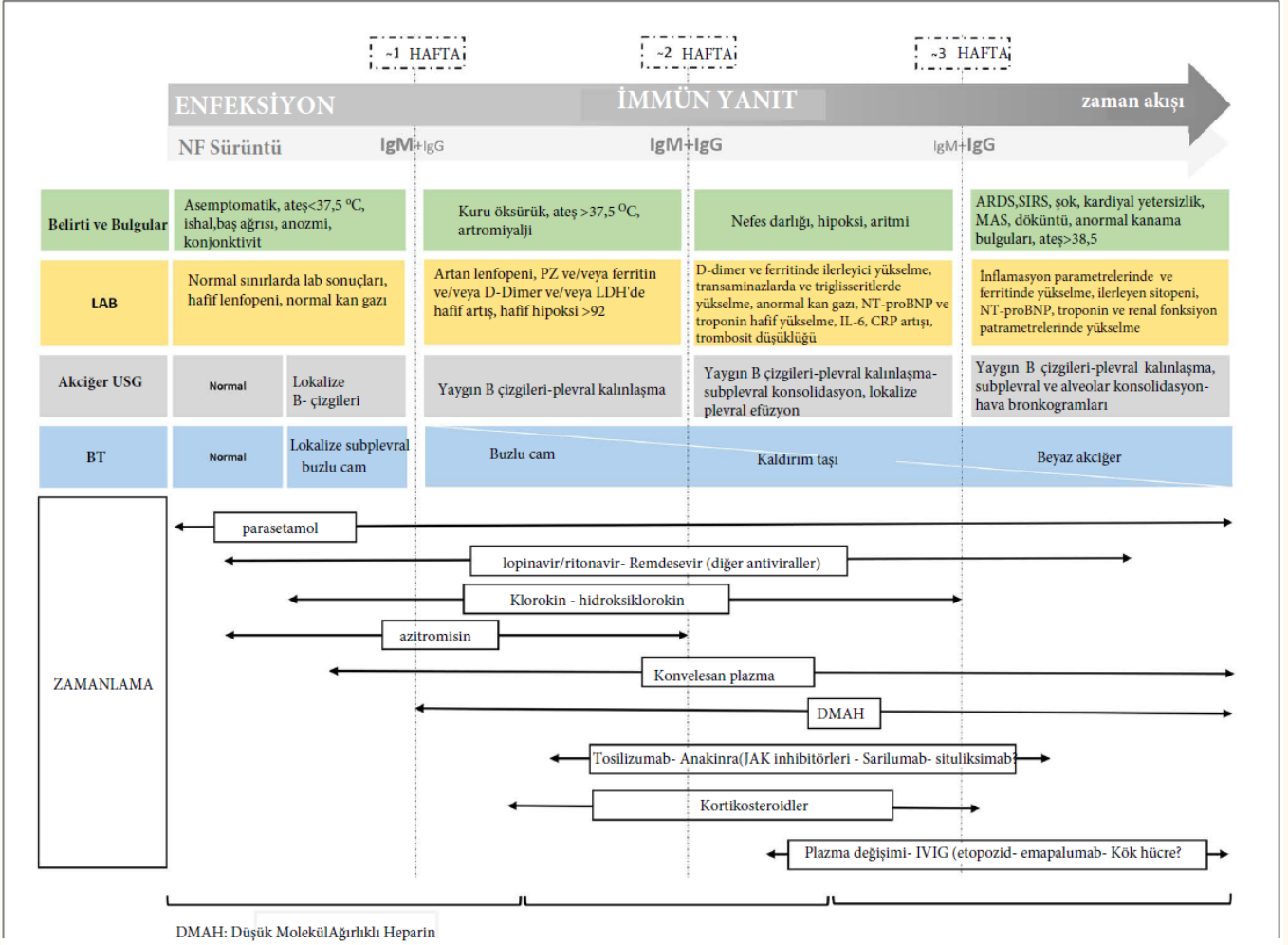
- Sitokin fırtınası ciddi COVID-19 vakalarında altta yatan ana patolojidir.
- SARS-CoV2 enfeksiyonunda IL-1 β , IFN- γ , IP-10 ve MCP-1 artışı bildirilmiş ve yoğun bakımda tedavi gerektiren hastalarda yoğun bakımda yatmayan hastalara kıyasla G-CSF, IP-10, MCP-1, MIP-1A ve TNF- α konsantrasyonlarının daha yüksek olduğu bulunmuş ve sitokin fırtınasının hastalık şiddeti ile ilişkili olduğu saptanmıştır.
- Hafif ve akut solunum sendromda pro-inflamatuar sitokinler IL-1 β ve IL-6'nın COVID-19'da akciğer fibrozis gelişimi ile ilişkili olduğu bildirilmiştir. Dolayısıyla, proinflamatuar IL-1 ailesi üyeleri ve IL-6'nın baskılanması potansiyel bir terapötik etkiye sahip olabilir. IL-37, COVID-19'da inflamasyonun inhibisyonu için potansiyel bir terapötik sitokin olabilir.
- COVID-19'da IL-6 reseptörünü (IL-6R) hedefleyen sitokin blokörü gelecekte potansiyel terapötik ajan olarak geliştirilebilir. IL-6R'e karşı FDA onaylı mAb, romatoid artrit tedavisi için mevcuttur. Ciddi COVID-19 hastalarının tedavisi için anti-IL-6R klinik çalışmaları yürütülmeye başlanmıştır.

Tablo. COVID-19 tedavisinde kullanılmaya potansiyeli olan ilaçlar

İlaçlar	Kanıt Düzeyi	Mekanizmalar
Serin proteaz TMPRSS2	Hücre	S proteine bağlanır.
Serotonin reseptör antagonisti cinanserin	Hücre	3 kimotripsin benzeri (3C-benzeri) proteazı inhibe eder.
S protein-ACE2 blokörleri	Hücre	S proteinin ACE2' ye bağlanmasını engeller.
Klorokin (antimalaryal)	Klinik kullanım	Viral zarf ile endozomal / lizozomal membranlar arasındaki füzyonu inhibe eder.
Lopinavir/ritonavir (HIV proteaz inhibitörleri)	Klinik kullanım	SARS-CoV2 proteazı inhibe edebilir.
Ribavirin (antiviral)	Hücre	Konak bağışıklığını modüle edebilir ve/veya RNA replikasyonu yıkımına yol açabilir.
Nelfinavir (proteaz inhibitörü)	Hücre	Seçici post-translasyonel inhibitör
Nükleotid analogu ön ilaç remdesivir	Hücre ve klinik kullanım (ABD'de ilk COVID-19 vakası)	RNA replikasyonunun olası inhibitörü
Arbidol (indol türevi)	Hücre	Viral zarf ile hücre membranı arasında füzyonu inhibe eder.
Siklosporin A	Hücre	Nükleokapsid proteinini inhibe ederek replikasyonu önler.
CR3022 (monoklonal antikor)	Hücre ve klinik kullanım	S proteininin reseptör bağlanma alanına güçlü bir şekilde bağlanır.
ScFv, 80R (monoklonal antikor tek zincirli değişken bölge fragmanları)	Hücre	S proteininin S1 alanına karşı etki eder.
CR3014 (monoklonal antikor)	Hücre	Viral enfektivitenin nötralizasyonu
Konvelesan plazma	Hücre ve klinik kullanım	Viral enfektivitenin nötralizasyonu
Interferonlar (IFN- α ve IFN- β)	Hücre	Viral replikasyonu baskılamak için interferon ile uyarılan genlerin indüksiyonu
Sitokin IL-37 (sitokin blokörü)	Hücre	mTOR üzerine etki ederek ve adenosin monofosfat kinazın aktivitesini artırarak inflamasyonu inhibe eder.
Lianhuaqingwen (sitokin blokörü)	Hücre	Anti-inflamasyon; IL-6 reseptörünü inhibe eder.
IL-6 reseptörüne karşı sitokin bloke edici antikor	Klinik kullanım	Anti-inflamasyon; IL-6 reseptörünü inhibe eder.

CEPI Coordinated COVID-19 Vaccine Projects	
Jan 23	University Queensland – molecular clamp Inovio Pharm – DNA Moderna Inc - RNA (NIH and others for further studies)
Jan 31	CureVac - RNA Printer™ lipid nanoparticle (LNP)
Feb 3	GSK - adjuvant
Feb 4	CSIRO – Animal study; scale up Production
Mar 3	DynaVax technology - CpG adjuvant
Mar 10	Hong Kong University – Modified nasal spray NovaVax – Protein-coupled nanoparticles
Mar 16	Moderna vaccine trial begins
Mar 18	Oxford - ChAdOx1 vector vaccine

Şekil. CEPI'nin koordine ettiği COVID-19 aşı projeleri



Şekil. Hastalığın zaman çizelgesi ile klinik, laboratuvar ve görüntüleme verileri. Hastalık iki ana faza ayrılmıştır. (a) direkt hücre hasarının hakim olduğu viral saçılma ve viral replikasyon (b) sitokin fırtınasının tetiklediği abartılı bir bağışık yanıt

S1/S2 Bölgesinde Delesyonları Olan Atenüe SARS-CoV2 Varyantları



Attenuated SARS-CoV2 variants with deletions at the S1/S2 junction

Lau SY et al. (Emerg Microbes Infect, April 2020; doi: 10.1080/22221751.2020.1756700)

Derleyen: Dr. Ayşe Arslan (Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji AD)

SARS-CoV2 enfeksiyonunda S (spike) proteindeki S1/S2 birleşme bölgesinin önemi nedir?

Yapılan çalışmalarda proteaz aracılı hücre içine girişin SARS enfeksiyonunun oluşmasında belirleyici basamak olduğu gösterilmiştir. S1/S2 birleşme bölgesinde başka motiflerin oluşması ya da mutasyonların görülmesi durumunda klinik tablonun daha şiddetli olabileceği varsayılmaktadır.

SARS-CoV2 klinik izolatlarında "quasi-species" bulunup bulunmadığını doğrulamak için ne tür analizler yapılmıştır?

- Çalışmada yakın tarihli başka bir çalışmadan elde edilmiş SARS-CoV2 izolatı kullanılmış ve ayrıca suşun izole edildiği orijinal klinik örnek ile SARS-CoV2 pozitif 26 klinik örnek incelenmiştir.
- Hücre kültürü sonrasında plak saflaştırma yöntemiyle elde edilen virüsün tüm genom dizi analizi yapılmıştır. Kültürden izole edilen virüslerin S genlerinde WT ve Del-mut varyantları PZR ile araştırılmıştır.
- Del-mut-1'deki 30-bp (10-aa) veya S1/S2 birleşme bölgesindeki diğer varyantların delesyonunun virüsün patojenitesine olan etkisini araştırmak için sıçan enfeksiyon modeli kullanılmıştır.
- 7-8 haftalık sıçanlar 2 gruba ayrılmış ve SARS-CoV2 WT veya SARS-CoV2 Del-mut virüs varyantları ile enfekte edilmiştir.
- 2. ve 4. günlerde nazal konka, trakea ve akciğer dokularından örnekler alınarak; histopatolojik değişiklikler incelenmiş, indirekt immünfloresan yöntemle viral replikasyon değerlendirilmiş, 30 bp'lık delesyonun restorasyonu da dahil olmak üzere viral değişiklikler ve Vero-E6 plak analiziyle virüs titreleri belirlenmiştir.

Çalışmada SARS-CoV2 varyantları saptanabilmiş midir?

- SARS-CoV2 klinik izolatlarının hücre kültürüne yapılan ikinci pasajlarında farklı büyüklüklerde plak oluşturduğu görülmüştür. Hem büyük plak hem de küçük plak oluşturan izolatlarla tüm genom dizi analizi yapılmış, in-frame delesyonları (15-30 nükleotit) ve S1/S2 birleşme bölgesinde nokta mutasyonları olan çeşitli virüs varyantları bulunmuştur.
- Hücre kültüründe küçük plak oluşturan virüslerin hepsinde S proteinin 2035-2064 gen bölgesinde 30 bp'lık inframe delesyon saptanmıştır (Del-mut-1). Büyük plak oluşturan izolatların hiçbirinde delesyon saptanmamıştır (WT).

Del-mut-1 varyantının özellikleri nelerdir?

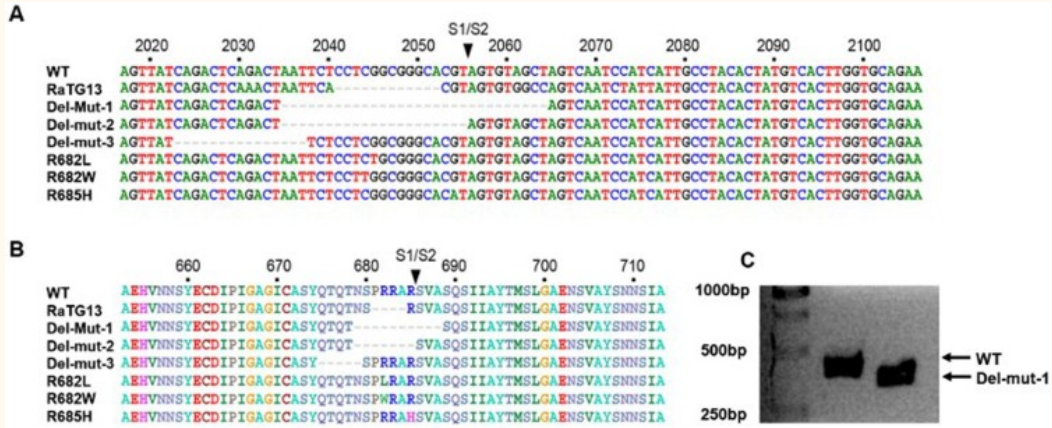
- Del-mut-1 izolatlarında 30-bp delesyonun haricinde, başka bir delesyon veya mutasyon bulunmamıştır.
- Amino asit sekans hizalaması, bu 30-bp delesyonunun S1/S2 birleşme bölgesinde olduğuna işaret etmektedir (Şekil). Özellikle bu delesyon, S proteinin S1/S2 birleşme bölgesinden PRRA motifini ortadan kaldırmaktadır.
- Bu varyantın orijinal örnekte veya diğer klinik örneklerde mevcut olup olmadığını belirlemek üzere Del-mut varyantını saptamak amacıyla qRT-PZR yapılmış ve sonuç olarak ne orijinal klinik örnekte ne de SARS-CoV2 pozitif diğer 26 klinik örnekte bu varyant tespit edilmemiştir.
- 30-bp'lık delesyonun, Del-mut-1 varyantının üremesini arttırdığı ve Vero-E6'da yapılan tekrarlayan pasajlarda virüsün stabilitesini sağladığı, ancak diğer insan hücre kültürlerinde etkisinin olmadığı görülmüştür.

S1/S2 birleşme bölgesinde 30 bp'lik delesyonun patojeniteyle ilişkisi var mıdır?

- WT virüsü ile enfekte sıçanlar, enfeksiyondan sonraki 1. günden başlayarak kilo kaybetmeye başlamış, ancak 3. günden itibaren bu durum stabil hale gelmiştir. Del-mut izolatu ile enfekte sıçanlarda belirgin bir kilo kaybı gözlenmemiştir.
- Histopatolojik incelemeler: Hem WT hem de Del-mut-1 virüsleri enfeksiyon oluşturmuştur. WT virüsünün daha yaygın alveolar hasarına ve mononükleer hücre infiltrasyonuna neden olduğu görülmüştür.

Makalede göze çarpan veriler:

- Asemptomatik kişiler de dahil olmak üzere farklı semptomları olan hasta gruplarında farklı varyantların varlığını araştırmak son derece önemlidir.
- S1/S2 bölünmesini kolaylaştıran mutasyonların veya ek motiflerin kazanılmasının SARS-CoV2 enfeksiyonunun şiddetini artırabileceği düşünülmektedir.
- SARS-CoV2'nin bulaştırıcılık gücünün, S1/S2 birleşme bölgesinden kaynaklanıp kaynaklanmadığı araştırılmalıdır.
- SARS-CoV2 insanlara adapte olup insan virüsü olarak devam edecekse Del-mut varyantları SARS-CoV-2'nin nihai formu olabilir.
- Del-mut-1 varyantının; hayvan modelinde ciddi bir klinik tabloya yol açmaması ve güvenlik testini geçtiği düşünülürse bu varyant üzerinde biyogüvenlik düzeyi yüksek bir laboratuvar da SARS-CoV2 ile ilgili ilaç araştırmalarının veya fonksiyonel çalışmaların yapılması mümkün olabilir.
- Del-mut varyantlarının güvenilirliği ve aşı için potansiyel aday olup olmadığı araştırılmalıdır.



Şekil. Vahşi tip SARS-CoV2 (Wuhan-1) S1 / S2 bölgelerinin, 30-bp delesyon mutantının (Del-mut-1) (EPI_ISL_417443) ve yarası koronavirüsü RaTG1 dizisinin (A) amino asit (B) nükleotit sekans analizi (C) WT ve Del-mut-1 PZR ürün boyutları