

## BÖLÜM 14

### COVID-19 VE ENDOTELYAL DİSFONKSİYON: MOLEKÜLER YAKLAŞIM

**Durkadın DEMİR EKŞİ<sup>1</sup>**  
**Ramazan GÜNEŞAÇAR<sup>2</sup>**

#### COVID-19

2019 yılı sonunda, Çin'in Hubei eyaletindeki Wuhan şehrinde SARS-CoV-2 olarak adlandırılan yeni bir koronavirüs ortaya çıkmış ve olağandışı viral pnömoni salgınına neden olmuştur. Koronavirüs hastalığı 2019 (COVID-19) olarak da bilinen bu yeni koronavirüs hastalığı, oldukça bulaşıcı olduğundan tüm dünyaya hızla yayılmıştır (1, 2). Bu salgın hem enfekte insan sayısı, hem de kapsamı açısından SARS ve MERS'i fazlasıyla geçmiştir. Devam eden COVID-19 salgını, küresel halk sağlığı için halen olağanüstü bir tehdit oluşturmaktadır (3, 4). Mutasyonlarla çeşitlenerek enfeksiyöz olarak farklılık gösteren SARS-CoV-2 varyantları, bölgesel ya da geniş yayılım göstermektedir (5).

#### SARS-CoV-2'NİN ORTAYA ÇIKIŞI VE YAYILIMI

2019 yılının Aralık ayının sonlarında, Wuhan'daki birkaç sağlık merkezi, nedeni bilinmeyen pnömoni hasta gruplarını bildirmiştir (6). Hastalarda ateş, öksürük ve göğüs ağrısı dahil viral pnömoni semptomları ve ciddi vakalarda nefes darlığı ve bilateral akciğer infiltrasyonu gösterilmiştir (6, 7). Hastaneye yatırılan ilk 27 hasta arasında çoğu vaka epidemiyolojik olarak Wuhan şehir merkezinde bulunan ve canlı hayvanların da satıldığı bir pazar ile bağlantılıydı (3, 8). Retrospektif bir çalışmaya göre, bilinen ilk vakanın başlangıcının 8 Aralık 2019'a kadar uzandığı bildirilmiştir (9). 31 Aralık'ta Wuhan Belediyesi Sağlık Komisyonu, halkı, nedeni belirlenemeyen bir zatürre salgınından haberdar etmiş ve Dünya Sağlık Örgütü'nü (WHO, DSÖ) bilgilendirmiştir (10). Çinli araştırmacılar tarafından oluşan bağımsız gruplar, şiddetli pnömoni hastalarından alınan bronkoalveolar lavaj sıvısı örneklerinden virüs izolasyonu ve metagenomik RNA dizi analizi sonucu, ortaya çıkan

<sup>1</sup> Dr. Öğr. Üyesi, Alanya Alaaddin Keykubat Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji AD., durkadin.eksi@alanya.edu.tr

<sup>2</sup> Prof. Dr., Alanya Alaaddin Keykubat Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji AD., ramazan.gunesacar@alanya.edu.tr

bu hastalığın nedensel etkeninin daha önce hiç görülmemiş bir beta koronavirüs olduğunu belirlemişlerdir (6, 10, 11). Yeni koronavirüs pnömonisi kısa süre sonra Hubei eyaletindeki diğer şehirlere ve bir ay içinde Çin'in tüm şehirlerine kitlesel bir şekilde yayılmıştır. Doğrulanmış vaka sayısı aniden artmış ve Ocak ayı sonlarında her gün binlerce yeni vaka teşhis edilmiştir. 30 Ocak 2020'de DSÖ, yeni koronavirüs salgınının uluslararası önemi haiz bir halk sağlığı acil durumu ilan etmiştir (12). 11 Şubat 2020'de, Uluslararası Virüs Taksonomi Komitesi yeni koronavirüse, şiddetli akut solunum sendromu koronavirüs-2, 'SARS-CoV-2' adını vermiştir (13), aynı gün Dünya Sağlık Örgütü hastalığı 'COVID-19 olarak isimlendirmiş ve 11 Mart 2020'de pandemi ilanında bulunmuştur.

## **SARS-CoV-2'NİN KONAKÇI HÜCREYE GİRİŞİ**

SARS-CoV-2 konakçı hücreye, hücre yüzeyindeki anjiyotensin dönüştürücü enzim 2 (ACE2)'ye bağlanarak girer (11). Virüs, insan ACE2'nin (hACE2) yanı sıra domuz, gelincik, rhesus cinsi maymun, misk kedisi, kedi, pangolin, tavşan ve köpekte de ACE2'yi tanımaktadır (11, 14-17). SARS-CoV-2'nin geniş reseptör kullanımı, virüsün geniş bir konakçı aralığına sahip olabileceğini ve bu hayvanların SARS-CoV-2 enfeksiyonuna karşı duyarlılıklarının farklı olduğunu gösterebilir.

Koronavirüsler; spike (S), membran (M), zarf (E) ve nükleokapsid (N) olmak üzere dört yapısal proteinden oluşmaktadır (4). Spike, koronavirüslerin ve konak tropizmin çeşitliliğini belirleyen viral yüzeyden dışarı doğru çıkıntı yapan bir transmembran glikoproteinden ibarettir. Spike proteini iki fonksiyonel alt birime sahiptir; S1 alt birim konakçı hücrenin yüzey reseptörüne bağlanmaktan sorumlu iken, S2 alt birim viral ve hücre zarların füzyonunu sağlar. Virüsün S1 alt birimi, bir N-terminal ve bir C-terminal bölgesi olmak üzere iki fonksiyonel bölgeye sahiptir. Yapısal ve biyokimyasal analizlerde SARS-CoV-2'nin S1 C-terminal bölgesindeki 211 amino asit (amino asitler 319-529) virüsün konakçı hücreye girişinde anahtar role sahip ve nötralize edici antikörlerin hedefi olan RBD (Receptor Binding Domain) olarak tanımlanmıştır (18, 19). RBM (Receptor Binding Motif) ise ACE2 reseptörü (SARS-CoV-2 S proteinin 437-507 amino asitleri) ile temasa aracılık etmektedir (18). SARS-CoV-2'nin konak hücrenin yüzeyindeki ACE2 reseptörüne bağlanmasını takiben endositik yolu etkinleştirmek için S proteininin proteolitik kesimine ihtiyaç duyar. Konakçıya ait proteazların, viral S proteininin kesimini sağladığı ve transmembran serin proteaz 2 (TMPRSS2), katepsin L ve furin dahil SARS-CoV-2 girişini aktive ettiği gösterilmiştir (15, 20, 21). TMPRSS2, burun epitel hücrelerinde ve akciğerlerde ACE2 ile birlikte yüksek düzeyde eksprese edilmektedir (22). c psödovirüs deneyleri, TMPRSS2 ve katepsin L'nin virüsün konakçı hücreye girişini etkinleştirmede furin ile kümülatif etkilere sahip

olduğunu göstermiştir (21). Ek olarak, *ACE2* ve özellikle *TMPRSS2* gen polimorfizmlerinin COVID-19'a yakınlıkta etkili olduğu gösterilmiştir (23).

*ACE2* ekspresyonu, 20'den fazla hücre tipinde gerçekleşmektedir. SARS-CoV-2 enfeksiyonunun potansiyel riskleri, *ACE2*'nin farklı organlarda eksprese edilmesi ile ilişkili bulunmuştur. %1'in üzerinde *ACE2* ekspresyonu gerçekleştiren hücre içeren dokular, yüksek riskli dokular olarak tanımlanmıştır. Bu dokular; alt solunum yolu kanalı (%2), akciğer (>%1), kalp (>%7,5), ileum (%30), özefagus (>%1), böbrek (%4) ve mesanedir (%2,4). Mide ve karaciğerde *ACE2* eksprese eden hücreler %1'in altında olduğundan SARS-CoV-2 açısından düşük riskli dokular olarak ifade edilmektedir. *ACE2*, beynin bazı bölümlerinde de eksprese edilmektedir. Bu durumun, COVID-19'da anormal nörolojik bulguların görülmesinin altında yatan sebeplerden biri olduğu belirtilmektedir. Nazal epitelde *ACE2* ekspresyonu yaşla beraber artmaktadır. Genç bireylerde COVID-19 seyrinin yaşlı bireylerden farklı olmasının sebeplerinden birinin, genç bireylerde nazal epitelde *ACE2* ekspresyonunun daha düşük olması olabilir. Ek olarak çocuklarda nazal epitelde beraber bronşiyal epitel hücrelerinde de *ACE2*'nin düşük ekspresyonunun, çocuklarda COVID-19 hastalığının daha hafif geçmesi ile ilişkili olduğu düşünülmektedir. *ACE2* ekspresyonunun obez ve diabetes mellitusu olan hastaların yağ dokularında arttığı bulunmuştur. Bu bulgu yağ dokunun SARS-CoV-2 için potansiyel hedef ve rezervuar konumunda olduğunu göstermektedir. Sonuç olarak COVID-19'un multisistemik etkileri ve bireyler arası farklı seyri, SARS-CoV-2'nin enfekte edebileceği farklı doku ve organların bulunmasıyla da ilişkilidir (24).

SARS-CoV-2 RT-PCR testi pozitif bulunan vakaların çoğunluğu hiçbir semptom göstermeyebilir (asemptomatik enfeksiyon). Öte yandan, COVID-19 semptomatolojisi tipik olarak ateş (%98), öksürük (%76), dispne (%55) ve miyalji veya yorgunluk ile ilişkilidir (25). Vakalarda balgam çıkarımı (%28), baş ağrısı (%8), hemoptizi (%5) ve diyare (%3) gibi diğer belirtiler de mevcut olabilir (26). Klinik olarak şiddetli COVID-19, enfeksiyöz pnömoni ile karakterizedir; komplikasyonlar tipik olarak akut solunum sıkıntısı sendromunu (ARDS) (27), akut kalp hasarını (28) ve ikincil enfeksiyonları (29) içerir. ARDS, şiddetli COVID-19 vakalarında hospitalize hastaların %20-41'ini etkileyen önemli bir komplikasyondur (27, 30), ancak COVID-19'da kalp yetmezliği, böbrek yetmezliği, karaciğer hasarı, şok ve çoklu organ yetmezliği de gözlenmektedir.

## **COVID-19 ENFEKSİYONUNUN KLİNİK ÖZELLİKLERİ**

Hastalık şiddetinin sınıflandırılması semptomatolojiye bağlıdır (31). Yetişkin COVID-19 vakaları şu şekilde gruplandırılabilir(32-35): Hafif hastalık: Nefes darlığı, dispne veya anormal göğüs görüntülemesi olmaksızın COVID-19'un çeşitli

belirti ve semptomlarından herhangi birine (örn. Ateş, öksürük, boğaz ağrısı, halsizlik, baş ağrısı, kas ağrısı) sahip kişileri kapsamaktadır. Orta derecede hastalık: Klinik değerlendirme veya görüntüleme periferik oksijen saturasyonu ( $SpO_2$ )  $\geq\% 94$  ile alt solunum yolu hastalığı belirtileri olan kişilerden oluşmaktadır. Ciddi hastalık: Dakikada  $\geq 30$  nefes solunum hızı,  $SpO_2 < \% 94$  ile karakterizedir; arteriyel kısmi oksijen basıncının solunan oksijen fraksiyonuna oranı ( $PaO_2/FiO_2$ ) 300 mmHg'den az veya akciğer infiltrasyonları %50'den fazla olan hastaları kapsamaktadır. Kritik hastalık: Solunum yetmezliği (mekanik ventilasyon gerektiren), septik şok ve/veya çoklu organ disfonksiyonları ile başvuran bireyleri kapsamaktadır (31, 36).

## **COVID-19 VE SİTOKİN SALINIMI SENDROMU**

Sitokinler, inflamatuvar yanıtta primer olarak makrofajlar, nötrofiller ve endotel hücrelerinden sentezlenen proteinlerdir. Fonksiyonlarına göre proinflamatuvar ve inflamatuvar olmak üzere iki gruba ayrılır. İnterlökin-1 (IL-1), IL-6 ve tümör nekroz faktör alfa (TNF- $\alpha$ ) proinflamatuvar sitokinler olup inflamatuvar değişiklikler oluşturmanın yanı sıra patojenlerin eliminasyonu için erken immün yanıtın oluşmasında rol oynarlar (37, 38). Eldeki veriler, COVID-19'daki sitokin fırtınasının hiperinflamasyonla ortaya çıkan bozulmuş immün aktivasyondan dolayı farklı bir immünolojik karakteri olduğunu göstermektedir. Yoğun bakım ünitesine kabul edilen kritik COVID-19 hastalarının çok yüksek IL-2, IL-6 IL-7, IL-10, GCSE, IP-10, MCP-1, MIP-1A ve TNF- $\alpha$  düzeylerine sahip oldukları gösterilmiştir (29). Daha da önemlisi, iyileşmiş ve ağır hastalardan elde edilen veriler, şiddetli inflamasyon ile mortalite arasında önemli bir ilişki olduğunu göstermektedir. Sitokin fırtınasının ana bileşenleri, proinflamatuvar ortamın kritik immün öğeleridir.

### **İnterlökin-1**

İnterlökin-1 (IL-1), esas olarak aktive monosit ve makrofajlar tarafından salınmakta ve enfeksiyonlara karşı inflamatuvar yanıtta aktif oynamaktadır (39, 40). İnterlökin-1 (IL-1), T hücre kaynaklı immünitede ve T hücre homeostazında anahtar rol oynar, IL-2 salgılanmasını ve ayrıca IL-2 reseptör ekspresyonunu uyarır (41-43). IL-1 $\alpha$  ve  $\beta$  akut faz sinyali, immün hücrelerin enfeksiyon bölgesine göçünü, epitel hücre aktivasyonunu ve ikincil sitokin üretimini artırır. SARS-CoV-2, IL-1 $\beta$ 'nin aktivasyon ve matürasyonunu sağlayarak IL-6 ve TNF- $\alpha$  gibi diğer proinflamatuvar sitokinleri aktive etmekte (44-46), bu nedenle de IL-1 $\beta$ , koronavirüs enfeksiyonu esnasında gelişen sitokin fırtınasının bir parçasını oluşturmaktadır (47-51). Şiddetli semptomları olan COVID-19 hastalarının çoğunda ağır akut

solunum sendromu, hiperkoagülasyon ve yaygın intravasküler koagülasyon ile ilişkili yüksek IL-1 $\beta$  düzeyleri belirlenmiştir (52). Otoimmün deneysel modellerde Th17'nin indüksiyonu için IL-1 $\beta$  gerektiği gösterilmiştir (53). IL-1 reseptör sinyalizasyonu akut akciğer immünopatolojisinden sorumlu olup IgM antikor yanıtlarını indükleyerek ve enfeksiyon bölgesine CD4 T hücrelerinin toplanmasını uyarak influenza virüsü ile enfekte farelerin hayatta kalmasını sağlamaktadır (54). Çoklu bilateral lobüler pnömonili COVID-19 hastalarında BT akciğer taraması, plazma IL-1 $\beta$ , IL-7, IL-8, IL-9 düzeyinde artış ile ilişkili bulunmuştur. Hasarlı dokudan salınan bu sitokinler COVID-19'daki immün yanıtın erken immün mediyatörleridir. Bu sitokinlerdeki artışın hem YBÜ hastalarında hem de YBÜ'de olmayan hastalarda benzer bulunması, COVID-19'un immünopatolojisine etkin bir şekilde dahil olduklarını düşündürmüştür (26). Şiddetli semptomları olan COVID-19 vakalarında yüksek düzeyde IL-1 reseptör antagonisti (IL-1Ra) seviyeleri tespit edilmiş ve bu belirtinin artmış viral yük, pulmoner fonksiyon kaybı, akciğer hasarı ve mortalite riski ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (55). IL-1 seviyelerinin virülansla ilgili olduğu ve şiddetli semptomları olan SARS-CoV-2 vakalarında, hafif SARS-CoV-2 vakalarına veya SARS-CoV-2 ve MERS koronavirüsü ile enfekte vakalara göre serum IL-1 $\beta$  düzeyleri anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (56). COVID-19 hastalarında sitokin fırtınasını önlemek için IL-1'in inhibisyonunu hedefleyen bazı terapötik stratejiler kullanılmıştır (57, 58).

### **İnterlökin-6**

İnterlökin-6 (IL-6); makrofajlar, nötrofiller, dendritik hücreler ve lenfositler gibi çok çeşitli hücreler tarafından salgılanır. Çeşitli hücre tiplerinin aktivitesini etkileyen, çok çeşitli inflamatuvar rollere sahip önemli bir proinflamatuvar sitokindir. IL-6 aynı zamanda immün sistemde anti-viral immüniteyi şekillendirmeye yardımcı olan birçok önemli fonksiyona sahiptir. Bu nedenle, pleiotropik bir sitokin olarak tanımlanır ve hem proinflamatuvar bir sitokin hem de anti-inflamatuvar bir miyokin (kas kasılmasına yanıt olarak kas hücreleri tarafından ifade edilen spesifik bir sitokin türü) olarak işlev görür. IL-6, cis veya trans olarak isimlendirilen iki ana sinyal yolağı üzerinden işlev görür. Cis sinyalizasyonda IL-6, zara bağlı IL-6 reseptörü (mIL-6R) ve gp130 ile kompleks oluşturarak janus kinazları (JAK'lar) ve sinyal dönüştürücü ve transkripsiyon 3'ü (STAT3) aktive eder. Bu sinyal kaskadının aktivasyonu, adaptif (B ve T hücreleri) ve innate immün sistem (nötrofiller, makrofajlar ve doğal öldürücü hücreler) üzerinde pleiotropik etkilere yol açar. Trans sinyalizasyon yolağında ise dolaşımdaki yüksek IL-6 konsantrasyonları, IL-6 reseptörünün (sIL-6R) çözünür formuna bağlanır ve birçok somatik hücre tipinde gp130 ile kompleks oluşturur. IL-6 - sIL-6R - JAK-STAT3 sinyalizas-

yonu daha sonra endotel hücreleri gibi mIL-6R eksprese etmeyen hücrelerde aktive edilir. Bu olay VEGF, MCP-1, IL-8 ve IL-6 salgılanmasının yanı sıra, endotelde azaltılmış E-kaderin ekspresyonu yoluyla “sitokin fırtınasını” ciddi şekilde şiddetlendirir. VEGF sekresyonu ve E-kaderin ekspresyonunun azalması, ARDS’de hipotansiyon ve pulmoner disfonksiyon patofizyolojisine katılan vasküler geçirgenliğe ve sızıntıya katkıda bulunur. IL-6, kan dolaşımı yoluyla da karaciğere ulaşarak C-reaktif protein ve serum amiloid A üretimi için hepatositleri hızlı bir şekilde aktive ederek fibrinojen salınımını uyarır (59, 60). Şiddetli COVID-19’da önemli bir prediktör olan IL-6 inflamasyonun önemli bir biyobelirtecidir. 1426 hastayı kapsayan bir meta-analiz çalışmasında, şiddetli sendromları olan COVID-19 hastalarında, şiddetli sendromu olmayan hastalara göre IL-6 seviyeleri oldukça yüksek bulunmuştur (61). Hastaneye kabul sırasındaki IL-6 seviyeleri hastalık şiddeti için iyi bir prognostik faktör gibi görünmektedir. Bu nedenle, anti-IL-6 kullanarak SARS-CoV-2’nin neden olduğu sitokin fırtınasını hedeflemenin COVID-19 hastalarında sonuçları iyileştirmek için destekleyici bakım stratejileri ile birlikte geçerli bir tedavi seçeneği olabileceği ileri sürülmüştür (26, 62-65).

### **Tümör Nekroz Faktör Alfa**

Tümör nekroz faktör (TNF) süper ailesi, hücre dışı proteolitik kesimle hücre zarından salgılanabilen ve 19 üyeden oluşan tip II transmembran proteinidir. Tümör Nekroz Faktör Alfa (TNF-  $\alpha$ ); makrofajlar, monositler, endotel hücreler, nötrofiller, düz kas hücreleri, aktive lenfositler, astrositler ve adipositler tarafından üretilir. TNFR1 (TNF- $\alpha$  için birincil reseptör) tüm hücre tipleri tarafından eksprese edilir, bu nedenle de TNF- $\alpha$ ’nın pleiotropik etkilerinden sorumludur. TNF- $\alpha$  inflamasyona, vasküler tromboz gelişimine, karaciğerde akut faz reaksiyonlarının sentezlenip salgılanmasına, kaşeksi ve ateşe neden olmaktadır. TNF- $\alpha$  düzeyleri, şiddetli COVID-19 hastalarında yüksektir. TNF- $\alpha$ , sitokin fırtınasında merkezi bir rol oynar. Yoğun bakımdaki COVID-19 hastalarındaki yüksek TNF- $\alpha$  düzeyi, yoğun bakımda olmayan hastalara kıyasla hasta kliniğinin kötüleşmesi ve mortalitenin önemli bir göstergesidir (66-69). IL-6 ve çözünür IL-2 reseptörü ile birlikte, TNF- $\alpha$  seviyeleri enfeksiyonun erken döneminde artar ve enfeksiyon boyunca yüksek kalır (26, 66). COVID-19 hastalarının akciğerlerindeki TNF- $\alpha$ , EpCAM+ akciğer alveoler epitelinde ve CD31+ akciğer alveolar endotel ve fibroblastlarda HA-sentaz-2 (HAS2)’yi indükler (70). Hyaluronan, akciğer alveollerinde sıvı akışının önemli bir etkeni olup deoksijenasyon ve ventilatör kabulünün önde gelen nedenlerinden biridir. İlginç bir şekilde, oldukça patojenik H5N1 influenza enfeksiyonu modelinde akciğer epitel hücreleri TNF- $\alpha$  salgılamamaktadır (25); bununla birlikte, akciğer epitelinde TNF- $\alpha$  ekspresyonu daha sonra ARDS geliş-

tikçe gözlenir. TNF- $\alpha$  ekspresyonundaki artış, akciğer epitel hücreleri ile etkileşime giren makrofaj kökenli çözünür faktörlerin bir sonucudur (71). Sitokin fırtınası koşullarında, bu devam eden proinflamatuvar kaskata ikincil bir etki olarak görülebilir ve sitokin fırtınasının etkilenen mukozal doku ile çapraz ilişkisi, sitokin fırtınasının amplifikasyonunu sürdürmesine, dolayısıyla da sistemik olarak şiddetlenmesine neden olur. SARS-CoV-2 enfeksiyonunun sitokin fırtınasının bir sonucu olarak akciğer epitelinden TNF- $\alpha$  salgılanmasını da sağlayıp sağlayamayacağı açık değildir. Gözlemsel veriler, COVID-19'lu hastalarda anti-TNF tedavisinin olası faydalarını göstermiştir. Global Romatoloji Birliği tarafından, COVID-19 tanısı almış romatizmal hastalığı bulunan 600 hastada yapılan bir çalışma ile, altta yatan romatizmal hastalık için anti-TNF tedavisi alanların, almayanlara kıyasla hastaneye yatış olasılığının daha düşük olduğu gösterilmiştir (72).

## **COVID-19 VE ENDOTELYAL DİSFONKSİYON**

Son kanıtlar, şiddetli COVID-19 enfeksiyonunun belirti ve semptomlarının, endotel disfonksiyonun klinik fenotipine benzediğini ve ortak patofizyolojik mekanizmaları paylaştığını göstermektedir (73). Endotel disfonksiyonun çeşitli viral enfeksiyonlarda temel patofizyolojik bir süreç olduğu ileri sürülmüştür (74, 75). COVID-19 pandemisi öncesinde yapılan koronavirüs çalışmalarından edinilen deneyimler, COVID-19 hastalarında endotel disfonksiyonun rolüne ilişkin hipotezleri test eden çalışmaları tetiklemiştir. Sonuç olarak, yeni kanıtlar SARS-CoV-2 patofizyolojisinde endotel disfonksiyonu işaret etmektedir. Endotel disfonksiyon şiddetli COVID-19 hastalığının birçok klinik yönünün ortak paydası gibi görünmektedir. SARS-CoV-2 ile enfekte çocukların bazılarında gelişen bir sendrom olan multisistem inflamatuvar hastalığına, endotelyal disfonksiyonun sebep olduğu ileri sürülmektedir (76). Pandeminin küresel etkisi göz önüne alındığında, patofizyolojinin iyi anlaşılması hastaların yönetimini önemli ölçüde etkileyebilir.

COVID-19'daki primer enfeksiyon bölgesi üst ve alt solunum yoludur. Bu bölgelerde SARS-CoV-2, zara bağlı anjiyotensin dönüştürücü enzim 2'ye (ACE2) bağlanarak nazal mukozanın goblet sekretuar hücrelerini ve alveolar tip II pnömositleri enfekte eder (77). Virüs hücreye girerek viral replikasyonu başlatır. Şiddetli COVID-19'da, apoptoz ve nekrozla sonuçlanan hızlı viral yayılımla birlikte alveolar pnömositlerin ilerleyici enfeksiyonu söz konusudur. ACE2'nin interferon aracılı yukarı yönde regülasyonu (upregulation), komşu pnömositlerin enfeksiyonunu kolaylaştırabilir (78). Sonrasında gelişen immün reaksiyon, gaz değişimini bozan ve sonunda akut solunum yetmezliği sendromu (ARDS) ile sonuçlanabilen ilerleyici interstisyel ve alveolar ödeme yol açar.

Endotel hasarı ile kompleman aktivasyonu, hiperkoagülasyon ve trombin üretimi arasındaki karşılıklı etkileşim, derin ven trombozu (DVT), pulmoner emboli (PE), mikrovasküler tromboz, serebrovasküler ve kardiyak hastalık gibi COVID-19 klinik özelliklerinin ortak bir paydası gibi görünmektedir (79, 80). SARS-CoV-2 hastalarındaki otopsi bulguları, kompleman aracılı yaygın mikrovasküler hasar ve bununla ilişkili hiperkoagülabilite varlığını göstermiştir (81). SARS-CoV-2'den etkilenen akciğerlerin postmortem incelemesi, pulmoner vasküler endotelit, tromboz ve anjiyogenez bulguları, influenza A (H1N1) enfeksiyonunda veya enfekte olmayan kontrollerde görülmediğinden COVID-19 enfeksiyonunun ayırt edici pulmoner vasküler patofizyolojik özellikleri olduğunu ortaya koymuştur (82). Bu bağlamda, MicroCLOTS (mikrovasküler COVID-19 akciğer damarları obstrüktif tromboinflamatuvar sendrom) teriminin kullanımı önerilmiştir (83). DVT veya pulmoner emboli (PE) olarak ortaya çıkan venöz tromboembolizm (VTE) insidansı, profilaktik antikoagülan tedaviye rağmen kritik COVID-19 hastalarında yaygın olarak görülmektedir. Otopsi çalışmaları COVID-19 ile enfekte hastalarda pulmoner embolizm ve derin ven trombozu ile birlikte jeneralize trombotik mikroanjiyopati ve endotel disfonksiyonunu ortaya koymuştur. Antikoagülan almakta olan 21 örneğin 4'ünde pulmoner embolizm saptanmış, diğer otopsi çalışmasında 12 COVID-19 hastasının sadece 4'ünün antikoagülan aldığı; hiçbir vakada klinik olarak DVT'den şüphelenilmemekle birlikte vakaların 7'sinde (%58) DVT'nin ortaya çıktığı, 4 hastada tanımlanan PE'nin primer ölüm nedeni olduğu bildirilmiştir. Her iki çalışmada da hastalarda yüksek vücut kitle indeksi ve kardiyovasküler hastalık, hipertansiyon ve diabetes mellitus prevalansı yüksek olarak bildirilmiştir (84, 85). Otopsi bulgularına paralel olarak, yoğun bakım ünitelerindeki (YBÜ) COVID-19 hastalarında klinik olarak yüksek VTE oranları (özellikle pulmoner embolizm) saptanmıştır (86, 87). Hollanda'da COVID-19 YBÜ hastalarında yapılan çok merkezli bir çalışmada VTE %27 oranında saptanmış olup PE en sık karşılaşılan trombotik komplikasyon olarak belirlenmiştir (%81) (86). Çin'de, COVID-19 YBÜ hastalarında yapılan çalışmada, 8'i ölümcül olan (%10) 81 hastada %25'lik bir VTE insidansı tespit edilmiştir (87). Ayrıca, şiddetli COVID-19'u olan 184 YBÜ hastalarından oluşan bir seride, vakaların 25'inde PE (%14), bir vakada ise DVT gözlenmiştir (88). 107 COVID-19 YBÜ hastasından oluşan başka bir seride, profilaktik veya terapötik antikoagülasyona rağmen pulmoner embolizm insidansı %21 olarak saptanmıştır (89). Aksine, başka bir kohortta, VTE insidansı genel olarak %20 olarak belirlenmiş, ancak başvuru sırasında terapötik düzeyde antikoagülan alan vakaların hiçbirisinde VTE gözlenmemiştir (90). COVID-19 ile ilişkili ARDS gelişen hastaların COVID-19 olmayanlara kıyasla daha yüksek trombotik komplikasyon oranlarına sahip olduğu 150 YBÜ hastasından oluşan başka bir seride, genel olarak yüksek VTE oranı



(%43, çoğunlukla PE) bildirilmiştir (91). YBÜ'de bacak ultrasonu yapılan COVID-19'lu 26 kişiden oluşan küçük bir seride 18 (%69) vakada VTE gözlenmiştir (92). Bu çalışmadaki vakaların tamamına profilaktik veya terapötik antikoagülan verildiği, bazı vakalarda ek VTE risk faktörlerinin varlığı bildirilmiştir. Bazı çalışmalarda, serviste yatan COVID-19 hastalarında yatış sırasında daha düşük VTE oranları (%3 ila %21) saptanmıştır (90, 93, 94).

COVID-19'da yüksek VTE oranlarına ilişkin çalışmalar, daha agresif tromboprofilaksi dozlama yoğunluklarını, uzun süreli yatış sonrası tromboprofilaksi ve ortalama vücut kitle indeksi, şiddetli trombositopeni ve ilaç-ilaç etkileşimleri öneren bir kılavuzun geliştirilmesini sağlamıştır (95, 96).

Ön çalışmalar, kardiyovasküler risk faktörleri ve/veya bilinen kardiyovasküler hastalığı bulunan kişilerde COVID-19 tanısı ile hastaneye yatış ve şiddetli hastalık seyri geliştirme riskinin çok yüksek olduğunu göstermektedir. Bu risk faktörleri arasında ileri yaş (> 65 yaş), hipertansiyon, obezite, diabetes mellitus, kronik akciğer hastalığı, koroner arter hastalığı ve kalp yetmezliği sayılmaktadır (27, 30, 97). İlginç bir şekilde, tüm bu kardiyometabolik hastalıkların ortak paydası endotelial disfonksiyondur. Endotelium, vasküler tonus ve homeostazın korunmasında oldukça önemlidir. Disfonksiyon; vazokonstriksiyon, inflamasyon, geçirgenlik ve koagülasyon ile ilişkilidir. Endotelial disfonksiyon; yaş, hipertansiyon, diabetes mellitus ve obezite gibi önemli risk faktörlerinin yanı sıra kardiyovasküler hastalıkların gelişimi ve ilerlemesi ile de ilişkilidir (98). Klasik olarak endotel fonksiyonu, brakiyal veya koroner arterlerin genişlemesi ölçülerek değerlendirilmektedir (99). Yeni yöntemler retina mikrosirkülasyonu gibi daha küçük vasküler yatakların değerlendirilmesini de sağlamaktadır (100).

Salgından kısa bir süre sonra yapılan çalışmalarda, COVID-19'un akciğer dışında kalp ve böbrek gibi diğer organları etkilediği de gösterilmiştir (101, 102). Şiddetli COVID-19 enfeksiyonunda akut miyokardiyal hasar (kardiyak troponinlerin yükselmesi) yaygındır ve kötü prognoz ile ilişkilidir. ACE2 eksprese eden hücreler için SARS-CoV-2'nin doku tropizmi ışığında, vücudun diğer bir majör organı olan vasküler endotelium enfeksiyonun önemli bir hedefidir (103). ACE2, hem küçük hem de büyük arter ve venlerin vasküler endotelial hücrelerinde bol miktarda eksprese edilir (104). Şiddetli COVID-19 bulguları olan 3 hastadan alınan patolojik örneklerde, glomerüler kapiller halkaların endotel hücrelerinde viral inklüzyon yapıları ve kalp, akciğer, böbrek, karaciğer ve gastrointestinal sistemde yaygın endotelitis gösterilmiştir (73). Endotel hasarı ve disfonksiyonu, SARS-CoV-2'nin neden olduğu doğrudan enfeksiyonun [örneğin, hücre içi oksidatif stresi indükleyerek (105)] yanı sıra derin sistemik inflamatuvar yanıtı bağlı olabilir. COVID-19'un endotel hasarı ile potansiyel ilişkisi ışığında, önceden en-

dotel disfonksiyonu olan hastaların endotel hücrelerinin vasküler homeostaz ve organ perfüzyonundaki önemli rolü göz önüne alındığında hastalığın daha şiddetli seyretmesi makul görünmektedir (73).

Sistemik endotelit, şiddetli COVID-19'da organ hasarını açıklayabilir. Bir vaka serisinde, elektrokardiyografide aktif iskemi bulguları görülen COVID-19 hastalarının üçte birinde non-obstrüktif koroner arter hastalığı belirlenmiş ve dolayısıyla iskeminin olası nedeni olarak mikrovasküler disfonksiyon gösterilmiştir (106). Artmış kardiyak troponinler veya MRI görüntülemeleri, şiddetli COVID-19'da miyokardiyal inflamasyonun nadir olmadığını göstermiştir (107, 108). Kardiyak otopsi örneklerinden SARS-CoV-2 izole edilmiş ancak bu, miyokarditte görüldüğü gibi düzenli olarak immün hücrelerin infiltrasyonu ile ilişkili bulunmamıştır. Virüs daha çok endotelyumu etkileyerek ikincil miyokardiyal inflamasyona ve disfonksiyona yol açabilir (109).

Vasküler endotel hücreleri, vasküler homeostaz ve koagülasyon sisteminde kritik rol oynar. Sağlıklı endotelial hücreler doğal olarak vasküler gevşemeyi indükleyerek kan akımını artıran, trombosit agregasyonunu ve koagülasyonu inhibe eden ve fibrinolizi teşvik eden faktörleri eksprese ederken, disfonksiyonel endotel hücreleri dengeyi vasküler kasılma ve trombüs oluşumuna kaydırır (110). Kardiyovasküler risk faktörlerinin çoğu endotelial hücreler tarafından salınan damar gevşetici ve antitrombotik mediyatörlerin üretimini azalmasına ve bununla birlikte artan kasılma ve protrombotik faktörlerin oluşumuna neden olur (111). Şiddetli COVID-19 enfeksiyonunda hem endotelial hem de trombosit aktivasyonunun belirteçleri kontrollere kıyasla artmıştır (112). COVID-19'da endotel disfonksiyonu ile teşvik edilen ve şiddetlenen yaygın mikrotromboz, D-dimer ve trombositopeni artışını açıklayabilir (27). Hematolojik bulgularla uyumlu olarak son çalışmalar, COVID-19'da venöz ve arteriyel tromboz riskinin arttığını göstermektedir (93, 113).

Kardiyak troponinler, EKG değişiklikleri veya ekokardiyografik anormallikler gibi artmış kardiyak biyobelirteçlerle kanıtlanan akut miyokardiyal hasar, COVID-19 enfeksiyonunun en sık bildirilen kardiyovasküler komplikasyonudur (114). Miyokardiyal hasar sıklığı hospitalize hastalar arasında değişmekte olup bildirilen insidans %7 ila %28 arasındadır (97, 115-118). Wuhan'da hospitalize 416 COVID-19 hastasından oluşan bir kohort çalışmasında beş hastadan birinde başvuru sırasında aşırı derecede yüksek duyarlılıklı troponin I (hs-TnI) varlığı saptanmıştır [92]. Benzer şekilde Wuhan'da yapılan başka bir çalışmada, hayatta kalanların %1'inde, ölenlerin ise yarısında başvuru sırasında yüksek düzeyde hs-TnI tespit edilmiştir (119). Tersine, ABD'de yapılan bir çalışmada, YBÜ'ye kabul sırasında 13 ciddi COVID-19 hastasından sadece 2'sinde troponin seviyeleri

yüksek ve tüm grupta mortalite oranının %50 olduğu gözlenmiştir (118). Kalp yetmezliği, COVID-19 bulgularının başka bir prediktörü olarak önerilmiştir. Wuhan'da 191 hospitalize hasta üzerinde yapılan bir çalışmada ölümcül vakaların yarısında, hayatta kalanların ise sadece %12'sinde kalp yetmezliği görülmüştür (27). Bu gözlemler, hastanede yatan 799 COVID-19 hastasından oluşan ikinci bir Çin kohortunda da doğrulanmıştır (120). Miyokardiyal hasar ve kalp yetmezliğinin yanı sıra, diğer kardiyovasküler hastalık formlarına ve COVID-19'daki risk faktörlerine dair kanıtlar sınırlıdır. COVID-19'da hem taşiaritmi hem de bradiaritmi tanımlanmıştır. YBÜ'ye yatırılması gereken hastalarda aritminin tipi kesin olmakla birlikte aritmi insidansının daha yüksek olduğu (%44.4'e karşı %8.9) bildirilmiştir (119). Çin Ulusal Sağlık Komisyonu (NHC) raporuna göre, kardiyovasküler semptomlar, örneğin çarpıntı ve göğüs ağrısı bazı hastalar için COVID-19 enfeksiyonunun ilk belirtileridir [98]. Daha da önemlisi, önceden var olan kardiyovasküler risk faktörleri ve/veya akut kardiyak hasar gelişiminin COVID-19 hastalarında anlamlı şekilde kötü prognozla ilişkili olduğu gösterilmiştir (27). Ayrıca, miyokardiyal hasar bulunan COVID-19 hastalarında önceden var olan kardiyovasküler hastalık/kardiyak risk faktörlerinin önemli ölçüde arttığı bildirilmiştir (115). Bununla birlikte, kardiyak tutulumun COVID-19 şiddetini gösteren bir biyobelirteç olduğu sonucuna varmak için kanıtlar henüz yeterli değildir.

## **ENDOTELYAL DİSFONKSİYON BİYOBELİRTEÇLERİ**

### **D-dimer**

D-dimer, fibrin koagülasyonuna özgü bir yıkım ürünü olup fibrin birikimi ve kararlılığının önemli bir göstergesidir. D-dimer; trombin, trombin tarafından aktive edilen faktör XIII ve plazmin enziminin aktivasyonu ile bir seri reaksiyon sonucunda oluşur. Sağlıklı bireylerde plazma D-dimer düzeyi oldukça düşük iken, koagülasyon ve fibrinolitik sistem aktive olduğunda plazma D-dimer seviyesinde hızlı bir şekilde artış görülür (121, 122). D-dimer testi klinik uygulamada genellikle DVT ve PE tanısını dışlamak, dissemine intravasküler koagülasyon (DIC) tanısını doğrulamak için kullanılır (123, 124). COVID-19 hastalarında trombozu tespit etmek için kullanılan testlerden birisi olan D-dimer düzeyindeki artışın koagülopati kanıtı olabileceği bildirilmiştir (125). Rostami ve Mansouritorghabeh'in yaptıkları meta-analiz çalışmasında COVID-19 hastalığının erken evrelerinde D-dimer konsantrasyonlarında artış olduğunu, D-dimer düzeylerindeki 3 ila 4 kat artışın kötü prognoz ve mortalite ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (126). Şiddetli COVID-19 hastaları yüksek D-dimer seviyelerine sahipken, yoğun bakım ünitesine yatış gerektiren hastaların daha da yüksek D-dimer seviyelerine sahip

olduğu, D-dimer düzeyindeki bu yükselişin ARDS gelişimi ve mortalite ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (26).

### **von Willebrand Faktör**

von Willebrand faktör (vWF), in-vivo olarak endotel hücreleri ve megakaryositler tarafından sentezlenen, trombositlerin alfa granüllerinde ve endotel hücrelerinin sitoplazmasındaki Weibel-Palade cisimciklerinde depolanan büyük multimerik bir glikoproteindir. Bu depolanmış vWF, endotel hücrelerin aktivasyonu ile salgılanarak trombosit ve lökositlerin endotel altı dokuya adezyonunu ve trombus oluşumunu sağlamakta, ayrıca faktör VIII için taşıyıcı görevi yapmaktadır. Son çalışmalarda COVID-19 hastalarında plazma vWF düzeylerinin önemli ölçüde arttığını ve vWF düzeyleri ile mortalite ve yaş arasında pozitif korelasyon bulunduğu bildirilmiştir (112, 127). vWF ve vWF'yi kesen bir proteaz olan ADAMTS13'ün (Trombospondin Tip 1 Motif 13'lü ADAM Metallopeptidaz) endotelial hasara verilen cevapta önemli homeostatik rol oynadığı da gösterilmiştir. VWF/ADAMTS13 etkileşiminin COVID-19'daki trombotik olaylar ile ilişkili olduğu ve koagülopatisi olan COVID-19'lu hastaların tedavisinde yeni bir teröpatik hedef olabileceği öne sürülmektedir (128). Won ve arkadaşları tarafından COVID-19'lu hastaların postmortem dokularının histolojik analizinin yapıldığı çalışma ile, hastaların akciğer, kalp ve böbrek dokularının endotelial hücrelerinde vWF ifadesinin oldukça yüksek olduğu bulunmuştur (76).

### **Plazminojen Aktivatör İnhibitör-1**

Özellikle endotelial hücreler ve karaciğerde üretilen Plazminojen aktivatör inhibitör-1 (PAI-1)'in asıl işlevi, koagülasyonunun çözülmesinde görev yapan doku plazminojen aktivatörü (tPA) ve ürokinaz gibi serin proteazları bağlayarak inhibe etmektir. tPA, endotelial hücreler tarafından sentezlenerek tek zincirli serin proteaz olarak dolaşıma verildikten sonra proteolitik olarak kesilerek çift zincirli yapı haline gelir. Normal şartlarda plazmadaki PAI-1 aktivitesinin tPA'dan çok daha yüksek olması nedeniyle plazminojen, tPA tarafından aktive edilemez. PAI-1 sentezi trombin, sitokinler ve lipoproteinler gibi moleküller tarafından stimüle edilmekte olup PAI-1'in %90'ı trombositlerde depolanmaktadır (129). Yüksek PAI-1 seviyelerinin aterotromboz riskini artırdığı gösterilmiştir (130, 131). Şiddetli COVID-19 hastalarında PAI-1 seviyelerinde oldukça yüksek artışlar belirlenmiştir (132-135).

### **Endotelin-1**

Endotelin-1 (ET-1) esas olarak endotelial hücreler tarafından salgılanan 21 aminoasitten ibaret güçlü bir endojen vazokonstriktör olup etkisini ETA ve ETB reseptörleri aracılığı ile gösterir. ET-1, vazokonstriktif etkisinin yanı sıra, vasküler

hücrelerin fibrozuna neden olur ve reaktif oksijen türlerinin üretimini uyarır. ET-1'in NF- $\kappa$ B gibi transkripsiyon faktörlerinin aktivasyonunda ve TNF- $\alpha$ , IL-1 ve IL-6 gibi proinflamatuvar sitokinlerin ekspresyonunda rol oynadığı gösterilmiştir (136). Dolaşımdaki yüksek ET-1 seviyelerinin şiddetli COVID-19 enfeksiyonunda riskli bireyleri tanımlamak için önemli bir biyomarker ve prognostik belirteç olabileceği önerilmiştir (137).

### **Çözünebilir İnterselüler Adezyon Molekülü-1**

İnterselüler Adezyon Molekülü-1 (ICAM-1) özellikle vasküler endotel hücreler, makrofaj ve lenfositler tarafından salgılanan ve CD54 olarak da bilinen bir immünoglobulin süper aile üyesidir. ICAM-1 bir aminoterminal hücre dışı bölgesi, tekli transmembran bölgesi ve bir karboksi terminal sitoplazmik bölgesi bulunan transmembran glikoproteinidir. ICAM-1, lökosit ve endotel hücre membranlarında düşük konsantrasyonlarda bulunur, sitokin uyarımıyla birlikte konsantrasyonu artar. IL-1 ve TNF tarafından indüklenebilen ICAM-1, lökositlerde LFA-1 (integrin) reseptörüne bağlanarak etki gösterir. ICAM-1 aktivasyonu sonucu, lökositler ICAM-1/LFA-1 yoluyla endotel hücrelerine bağlanarak dokulara geçer (138-140). Çözünebilir ICAM-1 (sICAM-1) ICAM-1'in proteolitik kesimi sonucu oluşarak dolaşıma katılmaktadır. sICAM-1 endotel hücre aktivasyonu ve hasarında önemli bir rol oynamaktadır. Endotel hücre aktivasyonu, ICAM-1 ve diğer bazı adezyon molekülleri gibi hücre yüzeyi adezyon moleküllerinin endotelial ekspresyonu ile tanımlanmaktadır (141). Çalışmalar, COVID-19 hastalarında artmış sICAM-1 düzeylerinin hastalık şiddeti ile ilişkili olduğunu ve yüksek sICAM-1 seviyelerinin koagülasyon bozukluğuna katkıda bulunabileceğini ve mortalite ile ilişkili olduğunu göstermektedir (142, 143).

### **Asimetrik Dimetil Arjinin**

Asimetrik dimetil arjinin (ADMA), arjinin aminoasitinin translasyon sonrası modifikasyonu sonucu oluşmaktadır. Endotelial disfonksiyonu için bir biyobelirteç olan ADMA, vazodilatasyondan inflamatuvar sitokinlerin salınımına kadar önemli fonksiyonları bulunan bir molekül olan nitrik oksit (NO)'in sentezini katalizleyen nitrik oksit sentazı (NOS) inhibe ederek endotelial disfonksiyona neden olmaktadır (144). Patolojik koşullarda plazma ADMA düzeylerinde 3 ila 9 kat artış olduğu ve bu artışın NO sentezini %30 ila %70 oranında inhibe edebileceği bildirilmiştir (145). Endotelialyumda sentezlenen NO düzeyindeki azalmaya bağlı olarak kan basıncı düzensizliği, vasküler dilatasyonun önlenmesi, antitrombotik aktivitede kaybı, homostaz ve fibrinoliz sorunları ve platelet agregasyonunun inhibisyonu gibi olumsuz vasküler olaylara yol açar (146, 147). Hannemann ve

arkadaşlarının hastanede yatan 31 COVID-19 tanılı hastayı dahil ettikleri çalışmalarında, artmış serum ADMA ve simetrik dimetilarginin (SDMA) seviyesinin mortalite ile anlamlı olarak ilişkili olduğunu bulmuşlardır. Araştırmacılar, ADMA ve SDMA'nın mortalite riskinin değerlendirilmesi açısından biyobelirteç olabileceğini önermektedirler (148).

### **C-Reaktif Protein**

C-reaktif protein (CRP), önemli bir akut faz proteindir ve pentamer CRP (pCRP) ve monomer CRP (mCRP) altbirimlerinden oluşur. CRP konsantrasyonu dolaşımında, iltihabi durumların ve enfeksiyonun başlangıcında hızlı biçimde yükselir. CRP artışı COVID-19'un kötü prognozu ile de ilişkilidir. İn-vivo ve in-vitro olarak yapılan çalışmalar, CRP'nin vasküler inflamasyon ve vasküler hasarda belirgin rol oynadığını göstermektedir. mCRP, p38 yolağı üzerinden endotel hücre hasarını ve apoptozunu indükleyebilmektedir. CRP, endotel hücrelerde eNOS transkripsiyonu engelleyerek ve eNOS mRNA'sının degradasyonunda rol oynayarak da endotel disfonksiyon gelişimine sebep olmaktadır (149). Diğer taraftan CRP'nin anjiyogenezisi de inhibe ettiği bilinmektedir. CRP'nin, inflamatuvar genlerin transkripsiyonunda görev alan bir transkripsiyon faktörü olan NF- $\kappa$ B'nin yukarı doğru regülasyonunda görev aldığı da gösterilmiştir (150).

### **Endotel Nitrik Oksit Sentaz**

Endotel Nitrik Oksit Sentaz (eNOS), NOS3 geni tarafından kodlanan bu enzim, NO sentezleyen üç izoformdan biridir (151-153). eNOS, vasküler endotelde NO oluşumundan sorumludur (154, 155). eNOS tarafından vasküler endotelde üretilen NO; vasküler tonu, hücre proliferasyonu, lökosit adezyonunu ve trombosit agregasyonunu düzenlemede önemli rol oynar (156). Düşük endotel eNOS ekspresyonu, eNOS inaktivasyonu ve NO degradasyonunun, NO biyoyararlanımında azalmaya neden olduğu bilinmektedir (157). COVID-19 hastalarında serum NO düzeylerindeki azalmanın oksidatif strese neden olabileceği bildirilmiştir (158). Endotel savunmanın, büyük ölçüde interferon (IFN) sisteminin aktivasyonuna bağlı olduğu bilinmektedir. Nitekim, COVID-19 hastalarında tip I ve III IFN seviyelerinin düşük olduğu görülmektedir. Bu da özellikle genç COVID-19 hastalarında diğer hücre içi viral savunma sistemlerinin etkinleştirildiğini düşündürmektedir. Antiviral savunmada önemli rol oynayan NO'nun, SARS-CoV-1 dahil olmak üzere geniş bir virüs yelpazesini inhibe ettiği gösterilmiştir. Ek olarak, endotel disfonksiyon görülen hastalıklarda ölüm riskinin artması, eNOS kaynaklı NO'nun ana savunma mekanizması olabileceğini düşündürmektedir. NO; yaşlılarda, hiperlipidemilerde ve düşük D vitamini

seviyelerine sahip hastalarda dramatik bir şekilde azalmaktadır. Diğer taraftan, eNOS kaynaklı NO, inflamasyon dışında ve bradikinin uyarımı olmadıkça düşük seviyelerde oluşmaktadır. Vazodilatör bir peptid olan bradikinin indüklü vazodilatasyon da yaşla birlikte aşamalı olarak azalır, böylece anti-viral NO üretimini de azaltır (159). Bireyler arasındaki eNOS seviyelerindeki farklılıklar NO düzeyini etkileyerek antiviral savunmada önemli rol oynayabilir. NO düzeyinin azalması oksidatif stresin artışına katkı sağlayarak da endotelial disfonksiyona sebep olmaktadır. COVID-19'lu hastalarda NO seviyesinin azalması, oksidatif stresin artışına yol açmaktadır (149).

Pehlivan ve arkadaşları, COVID-19'lu hastalarda MannoZ Bağlayıcı Lektin 2 (MBL2) ve NOS3 genleri polimorfizmlerini araştırmışlardır. MBL2 proteini, yüzeyine bağlandığı mikroorganizmaların makrofaj ve nötrofiller tarafından fago-sitozunu arttıran bir moleküldür. Araştırmacılar, çalışmalarına COVID-19 tanılı 79 hasta ve 100 sağlıklı kontrol dahil etmişlerdir. Hasta ve kontrol grupta MBL2-rs1800450, NOS3-rs1799983 ve NOS3-intron 4 VNTR polimorfizmlerinin PCR-RFLP metodu ile genotiplemesini yapmışlardır. MBL2 geni polimorfizmi için AB genotipi ve B alleli (GGC>GAC, p.Gly54Asp) kontrol grubunda anlamlı olarak yüksek bulunurken, NOS3 geni polimorfizmleri için gruplar arasında istatistiksel bir fark bulunmamıştır (160).

## KAYNAKÇA

1. Wu JT, Leung K, Leung GM. Nowcasting and forecasting the potential domestic and international spread of the 2019-nCoV outbreak originating in Wuhan, China: a modelling study. *Lancet*; 2020;395(10225):689-97. doi:10.1016/S0140-6736(20)30260-9.
2. Hui DS, E IA, Madani TA, et al. The continuing 2019-nCoV epidemic threat of novel coronaviruses to global health - The latest 2019 novel coronavirus outbreak in Wuhan, China. *Int J Infect Dis*; 2020;91:264-6. doi:10.1016/j.ijid.2020.01.009.
3. Deng SQ, Peng HJ. Characteristics of and Public Health Responses to the Coronavirus Disease 2019 Outbreak in China. *J Clin Med*; 2020;9(2). doi:10.3390/jcm9020575.
4. Han Q, Lin Q, Jin S, et al. Coronavirus 2019-nCoV: A brief perspective from the front line. *J Infect*; 2020;80(4):373-7. doi:10.1016/j.jinf.2020.02.010.
5. Overview of COVID-19: NIH; 2021 [Available from: <https://www.covid19treatmentguidelines.nih.gov/overview/overview-of-covid-19/>].
6. Zhu N, Zhang D, Wang W, et al. A Novel Coronavirus from Patients with Pneumonia in China, 2019. *N Engl J Med*; 2020;382(8):727-33. doi:10.1056/NEJMoa2001017.
7. Gralinski LE, Menachery VD. Return of the Coronavirus: 2019-nCoV. *Viruses*; 2020;12(2). doi:10.3390/v12020135.
8. Jiang S, Du L, Shi Z. An emerging coronavirus causing pneumonia outbreak in Wuhan, China: calling for developing therapeutic and prophylactic strategies. *Emerg Microbes Infect*; 2020;9(1):275-7. doi:10.1080/22221751.2020.1723441.
9. Wu Z, McGoogan JM. Characteristics of and Important Lessons From the Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) Outbreak in China: Summary of a Report of 72 314 Cases From the Chinese Center for Disease Control and Prevention. *Jama*; 2020;323(13):1239-42. doi:10.1001/jama.2020.2648.

10. Wu F, Zhao S, Yu B, et al. A new coronavirus associated with human respiratory disease in China. *Nature*; 2020;579(7798):265-9. doi:10.1038/s41586-020-2008-3.
11. Zhou P, Yang XL, Wang XG, et al. A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. *Nature*; 2020;579(7798):270-3. doi:10.1038/s41586-020-2012-7.
12. Eurosurveillance Editorial T. Note from the editors: World Health Organization declares novel coronavirus (2019-nCoV) sixth public health emergency of international concern. *Euro Surveill*; 2020;25(5). doi:10.2807/1560-7917.ES.2020.25.5.200131e.
13. The species Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus: classifying 2019-nCoV and naming it SARS-CoV-2. *Nat Microbiol*; 2020;5(4):536-44. doi:10.1038/s41564-020-0695-z.
14. Shi J, Wen Z, Zhong G, et al. Susceptibility of ferrets, cats, dogs, and other domesticated animals to SARS-coronavirus 2. *Science*; 2020;368(6494):1016-20. doi:10.1126/science.abb7015.
15. Hoffmann M, Kleine-Weber H, Schroeder S, et al. SARS-CoV-2 Cell Entry Depends on ACE2 and TMPRSS2 and Is Blocked by a Clinically Proven Protease Inhibitor. *Cell*; 2020;181(2):271-80.e8. doi:10.1016/j.cell.2020.02.052.
16. Chandrashekar A, Liu J, Martinot AJ, et al. SARS-CoV-2 infection protects against rechallenge in rhesus macaques. *Science*; 2020;369(6505):812-7. doi:10.1126/science.abc4776.
17. Zhao X, Chen D, Szabla R, et al. Broad and Differential Animal Angiotensin-Converting Enzyme 2 Receptor Usage by SARS-CoV-2. *J Virol*; 2020;94(18). doi:10.1128/JVI.00940-20.
18. Shang J, Ye G, Shi K, et al. Structural basis of receptor recognition by SARS-CoV-2. *Nature*; 2020;581(7807):221-4. doi:10.1038/s41586-020-2179-y.
19. Walls AC, Park YJ, Tortorici MA, et al. Structure, Function, and Antigenicity of the SARS-CoV-2 Spike Glycoprotein. *Cell*; 2020;181(2):281-92.e6. doi:10.1016/j.cell.2020.02.058.
20. Ou X, Liu Y, Lei X, et al. Characterization of spike glycoprotein of SARS-CoV-2 on virus entry and its immune cross-reactivity with SARS-CoV. *Nat Commun*; 2020;11(1):1620. doi:10.1038/s41467-020-15562-9.
21. Shang J, Wan Y, Luo C, et al. Cell entry mechanisms of SARS-CoV-2. *Proc Natl Acad Sci U S A*; 2020;117(21):11727-34. doi:10.1073/pnas.2003138117.
22. Liu Y, Qu HQ, Qu J, et al. Expression Pattern of the SARS-CoV-2 Entry Genes ACE2 and TMPRSS2 in the Respiratory Tract. *Viruses*; 2020;12(10). doi:10.3390/v12101174.
23. Torre-Fuentes L, Matias-Guiu J, Hernandez-Lorenzo L, et al. ACE2, TMPRSS2, and Furin variants and SARS-CoV-2 infection in Madrid, Spain. *J Med Virol*; 2021;93(2):863-9. doi:10.1002/jmv.26319.
24. Beyerstedt S, Casaro EB, Rangel EB. COVID-19: angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2) expression and tissue susceptibility to SARS-CoV-2 infection. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*; 2021;40(5):905-19. doi:10.1007/s10096-020-04138-6.
25. Chan MC, Cheung CY, Chui WH, et al. Proinflammatory cytokine responses induced by influenza A (H5N1) viruses in primary human alveolar and bronchial epithelial cells. *Respir Res*; 2005;6(1):135. doi:10.1186/1465-9921-6-135.
26. Huang C, Wang Y, Li X, et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *Lancet*; 2020;395(10223):497-506. doi:10.1016/S0140-6736(20)30183-5.
27. Zhou F, Yu T, Du R, et al. Clinical course and risk factors for mortality of adult inpatients with COVID-19 in Wuhan, China: a retrospective cohort study. *Lancet*; 2020;395(10229):1054-62. doi:10.1016/S0140-6736(20)30566-3.
28. Hu H, Ma F, Wei X, et al. Coronavirus fulminant myocarditis saved with glucocorticoid and human immunoglobulin. *Eur Heart J*; 2020. doi:10.1093/eurheartj/ehaa190.
29. Ruan Q, Yang K, Wang W, et al. Clinical predictors of mortality due to COVID-19 based on an analysis of data of 150 patients from Wuhan, China. *Intensive Care Med*; 2020;46(5):846-8. doi:10.1007/s00134-020-05991-x.
30. Wu C, Chen X, Cai Y, et al. Risk Factors Associated With Acute Respiratory Distress Syndrome and Death in Patients With Coronavirus Disease 2019 Pneumonia in Wuhan, China. *JAMA Intern Med*; 2020;180(7):934-43. doi:10.1001/jamainternmed.2020.0994.



31. Clinical Spectrum of SARS-CoV-2 Infection: NIH; 2020 [Available from: <https://www.covid19treatmentguidelines.nih.gov/overview/clinical-spectrum/>].
32. Peng PWH, Ho PL, Hota SS. Outbreak of a new coronavirus: what anaesthetists should know. *Br J Anaesth*; 2020;124(5):497-501. doi:10.1016/j.bja.2020.02.008.
33. Diagnosis and Treatment Protocol for Novel Coronavirus Pneumonia (Trial Version 7). *Chin Med J (Engl)*; 2020;133(9):1087-95. doi:10.1097/CM9.0000000000000819.
34. Poston JT, Patel BK, Davis AM. Management of Critically Ill Adults With COVID-19. *JAMA*; 2020;323(18):1839-41. doi:10.1001/jama.2020.4914.
35. Guan WJ, Ni ZY, Hu Y, et al. Clinical Characteristics of Coronavirus Disease 2019 in China. *N Engl J Med*; 2020;382(18):1708-20. doi:10.1056/NEJMoa2002032.
36. Chan KW, Wong VT, Tang SCW. COVID-19: An Update on the Epidemiological, Clinical, Preventive and Therapeutic Evidence and Guidelines of Integrative Chinese-Western Medicine for the Management of 2019 Novel Coronavirus Disease. *Am J Chin Med*; 2020;48(3):737-62. doi:10.1142/S0192415X20500378.
37. Raeber ME, Zurbuchen Y, Impellizzeri D, et al. The role of cytokines in T-cell memory in health and disease. *Immunol Rev*; 2018;283(1):176-93. doi:10.1111/imr.12644.
38. Mantovani A, Dinarello CA, Molgora M, et al. Interleukin-1 and Related Cytokines in the Regulation of Inflammation and Immunity. *Immunity*; 2019;50(4):778-95. doi:10.1016/j.immuni.2019.03.012.
39. Turner MD, Nedjai B, Hurst T, et al. Cytokines and chemokines: At the crossroads of cell signalling and inflammatory disease. *Biochim Biophys Acta*; 2014;1843(11):2563-82. doi:10.1016/j.bbamcr.2014.05.014.
40. van den Borne BE, Dijkmans BA, de Rooij HH, et al. Chloroquine and hydroxychloroquine equally affect tumor necrosis factor-alpha, interleukin 6, and interferon-gamma production by peripheral blood mononuclear cells. *J Rheumatol*; 1997;24(1):55-60.
41. Rosalia RA, Arenas-Ramirez N, Bouchaud G, et al. Use of enhanced interleukin-2 formulations for improved immunotherapy against cancer. *Curr Opin Chem Biol*; 2014;23:39-46. doi:10.1016/j.cbpa.2014.09.006.
42. Herrmann F, Oster W, Meuer SC, et al. Interleukin 1 stimulates T lymphocytes to produce granulocyte-monocyte colony-stimulating factor. *J Clin Invest*; 1988;81(5):1415-8. doi:10.1172/JCI113471.
43. Lichtman AH, Chin J, Schmidt JA, et al. Role of interleukin 1 in the activation of T lymphocytes. *Proc Natl Acad Sci U S A*; 1988;85(24):9699-703. doi:10.1073/pnas.85.24.9699.
44. DeDiego ML, Nieto-Torres JL, Regla-Nava JA, et al. Inhibition of NF- $\kappa$ B-mediated inflammation in severe acute respiratory syndrome coronavirus-infected mice increases survival. *J Virol*; 2014;88(2):913-24. doi:10.1128/jvi.02576-13.
45. Nieto-Torres JL, DeDiego ML, Verdía-Baguena C, et al. Severe acute respiratory syndrome coronavirus envelope protein ion channel activity promotes virus fitness and pathogenesis. *PLoS Pathog*; 2014;10(5):e1004077. doi:10.1371/journal.ppat.1004077.
46. Siu KL, Yuen KS, Castano-Rodriguez C, et al. Severe acute respiratory syndrome coronavirus ORF3a protein activates the NLRP3 inflammasome by promoting TRAF3-dependent ubiquitination of ASC. *FASEB J*; 2019;33(8):8865-77. doi:10.1096/fj.201802418R.
47. Cheung CY, Poon LL, Ng IH, et al. Cytokine responses in severe acute respiratory syndrome coronavirus-infected macrophages in vitro: possible relevance to pathogenesis. *J Virol*; 2005;79(12):7819-26. doi:10.1128/JVI.79.12.7819-7826.2005.
48. Law HK, Cheung CY, Ng HY, et al. Chemokine up-regulation in SARS-coronavirus-infected, monocyte-derived human dendritic cells. *Blood*; 2005;106(7):2366-74. doi:10.1182/blood-2004-10-4166.
49. Chu H, Zhou J, Wong BH, et al. Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus Efficiently Infects Human Primary T Lymphocytes and Activates the Extrinsic and Intrinsic Apoptosis Pathways. *J Infect Dis*; 2016;213(6):904-14. doi:10.1093/infdis/jiv380.

50. Hui DSC, Zumla A. Severe Acute Respiratory Syndrome: Historical, Epidemiologic, and Clinical Features. *Infect Dis Clin North Am*; 2019;33(4):869-89. doi:10.1016/j.idc.2019.07.001.
51. Conti P, Ronconi G, Caraffa A, et al. Induction of pro-inflammatory cytokines (IL-1 and IL-6) and lung inflammation by Coronavirus-19 (COVI-19 or SARS-CoV-2): anti-inflammatory strategies. *J Biol Regul Homeost Agents*; 2020;34(2):327-31. doi:10.23812/CONTI-E.
52. Zhang W, Zhao Y, Zhang F, et al. The use of anti-inflammatory drugs in the treatment of people with severe coronavirus disease 2019 (COVID-19): The Perspectives of clinical immunologists from China. *Clin Immunol*; 2020;214:108393. doi:10.1016/j.clim.2020.108393.
53. van de Veerdonk FL, Teirlinck AC, Kleinnijenhuis J, et al. Mycobacterium tuberculosis induces IL-17A responses through TLR4 and dectin-1 and is critically dependent on endogenous IL-1. *J Leukoc Biol*; 2010;88(2):227-32. doi:10.1189/jlb.0809550.
54. Schmitz N, Kurrer M, Bachmann MF, et al. Interleukin-1 is responsible for acute lung immunopathology but increases survival of respiratory influenza virus infection. *J Virol*; 2005;79(10):6441-8. doi:10.1128/JVI.79.10.6441-6448.2005.
55. Yang Y, Shen C, Li J, et al. Exuberant elevation of IP-10, MCP-3 and IL-1ra during SARS-CoV-2 infection is associated with disease severity and fatal outcome. *MedRxiv*; 2020.
56. Qin C, Zhou L, Hu Z, et al. Dysregulation of Immune Response in Patients With Coronavirus 2019 (COVID-19) in Wuhan, China. *Clin Infect Dis*; 2020;71(15):762-8. doi:10.1093/cid/ciaa248.
57. Tanaka T, Narazaki M, Kishimoto T. Immunotherapeutic implications of IL-6 blockade for cytokine storm. *Immunotherapy*; 2016;8(8):959-70. doi:10.2217/imt-2016-0020.
58. Kritas SK, Ronconi G, Caraffa A, et al. Mast cells contribute to coronavirus-induced inflammation: new anti-inflammatory strategy. *J Biol Regul Homeost Agents*; 2020;34(1):9-14. doi:10.23812/20-Editorial-Kritas.
59. Kang S, Tanaka T, Narazaki M, et al. Targeting Interleukin-6 Signaling in Clinic. *Immunity*; 2019;50(4):1007-23. doi:10.1016/j.immuni.2019.03.026.
60. Odabasi Z, Cinel I. Consideration of Severe Coronavirus Disease 2019 As Viral Sepsis and Potential Use of Immune Checkpoint Inhibitors. *Crit Care Explor*; 2020;2(6):e0141. doi:10.1097/CCE.0000000000000141.
61. Aziz M, Fatima R, Assaly R. Elevated interleukin-6 and severe COVID-19: A meta-analysis. *J Med Virol*; 2020;92(11):2283-5. doi:10.1002/jmv.25948.
62. Zhang J, Hao Y, Ou W, et al. Serum interleukin-6 is an indicator for severity in 901 patients with SARS-CoV-2 infection: a cohort study. *J Transl Med*; 2020;18(1):406. doi:10.1186/s12967-020-02571-x.
63. Bird P, Badhwar V, Fallon K, et al. High SARS-CoV-2 infection rates in respiratory staff nurses and correlation of COVID-19 symptom patterns with PCR positivity and relative viral loads. *J Infect*; 2020;81(3):452-82. doi:10.1016/j.jinf.2020.06.035.
64. Cummings MJ, Baldwin MR, Abrams D, et al. Epidemiology, clinical course, and outcomes of critically ill adults with COVID-19 in New York City: a prospective cohort study. *Lancet*; 2020;395(10239):1763-70. doi:10.1016/S0140-6736(20)31189-2.
65. Leisman DE, Ronner L, Pinotti R, et al. Cytokine elevation in severe and critical COVID-19: a rapid systematic review, meta-analysis, and comparison with other inflammatory syndromes. *Lancet Respir Med*; 2020;8(12):1233-44. doi:10.1016/S2213-2600(20)30404-5.
66. Pedersen SF, Ho YC. SARS-CoV-2: a storm is raging. *J Clin Invest*; 2020;130(5):2202-5. doi:10.1172/JCI137647.
67. Chen G, Wu D, Guo W, et al. Clinical and immunological features of severe and moderate coronavirus disease 2019. *J Clin Invest*; 2020;130(5):2620-9. doi:10.1172/JCI137244.
68. Rockstrom MD, Chen L, Taishi P, et al. Tumor necrosis factor alpha in sleep regulation. *Sleep Med Rev*; 2018;40:69-78. doi:10.1016/j.smr.2017.10.005.
69. Del Valle DM, Kim-Schulze S, Huang HH, et al. An inflammatory cytokine signature predicts COVID-19 severity and survival. *Nat Med*; 2020;26(10):1636-43. doi:10.1038/s41591-020-1051-9.

70. Shi Y, Wang Y, Shao C, et al. COVID-19 infection: the perspectives on immune responses. *Cell Death Differ*; 2020;27(5):1451-4. doi:10.1038/s41418-020-0530-3.
71. Lee SM, Cheung CY, Nicholls JM, et al. Hyperinduction of cyclooxygenase-2-mediated pro-inflammatory cascade: a mechanism for the pathogenesis of avian influenza H5N1 infection. *J Infect Dis*; 2008;198(4):525-35. doi:10.1086/590499.
72. Gianfrancesco M, Hyrich KL, Al-Adely S, et al. Characteristics associated with hospitalisation for COVID-19 in people with rheumatic disease: data from the COVID-19 Global Rheumatology Alliance physician-reported registry. *Ann Rheum Dis*; 2020;79(7):859-66. doi:10.1136/annrheumdis-2020-217871.
73. Varga Z, Flammer AJ, Steiger P, et al. Endothelial cell infection and endotheliitis in COVID-19. *Lancet*; 2020;395(10234):1417-8. doi:10.1016/S0140-6736(20)30937-5.
74. Steinberg BE, Goldenberg NM, Lee WL. Do viral infections mimic bacterial sepsis? The role of microvascular permeability: A review of mechanisms and methods. *Antiviral Res*; 2012;93(1):2-15. doi:10.1016/j.antiviral.2011.10.019.
75. Goeijenbier M, van Wissen M, van de Weg C, et al. Review: Viral infections and mechanisms of thrombosis and bleeding. *J Med Virol*; 2012;84(10):1680-96. doi:10.1002/jmv.23354.
76. Won T, Wood MK, Hughes DM, et al. Endothelial thrombomodulin downregulation caused by hypoxia contributes to severe infiltration and coagulopathy in COVID-19 patient lungs. *EBioMedicine*; 2022;75:103812. doi:10.1016/j.ebiom.2022.103812.
77. Ziegler CGK, Allon SJ, Nyquist SK, et al. SARS-CoV-2 Receptor ACE2 Is an Interferon-Stimulated Gene in Human Airway Epithelial Cells and Is Detected in Specific Cell Subsets across Tissues. *Cell*; 2020;181(5):1016-35.e19. doi:10.1016/j.cell.2020.04.035.
78. Mason RJ. Pathogenesis of COVID-19 from a cell biology perspective. *Eur Respir J*; 2020;55(4). doi:10.1183/13993003.00607-2020.
79. Gavrilaki E, Brodsky RA. Complementopathies and precision medicine. *J Clin Invest*; 2020;130(5):2152-63. doi:10.1172/JCI136094.
80. Gavrilaki E, Brodsky RA. Severe COVID-19 infection and thrombotic microangiopathy: success does not come easily. *Br J Haematol*; 2020;189(6):e227-e30. doi:10.1111/bjh.16783.
81. Magro C, Mulvey JJ, Berlin D, et al. Complement associated microvascular injury and thrombosis in the pathogenesis of severe COVID-19 infection: A report of five cases. *Transl Res*; 2020;220:1-13. doi:10.1016/j.trsl.2020.04.007.
82. Ackermann M, Verleden SE, Kuehnel M, et al. Pulmonary Vascular Endothelialitis, Thrombosis, and Angiogenesis in Covid-19. *N Engl J Med*; 2020;383(2):120-8. doi:10.1056/NEJMoa2015432.
83. Ciceri F, Beretta L, Scandroglio AM, et al. Microvascular COVID-19 lung vessels obstructive thromboinflammatory syndrome (MicroCLOTS): an atypical acute respiratory distress syndrome working hypothesis. *Crit Care Resusc*; 2020;22(2):95-7.
84. Menter T, Haslbauer JD, Nienhold R, et al. Postmortem examination of COVID-19 patients reveals diffuse alveolar damage with severe capillary congestion and variegated findings in lungs and other organs suggesting vascular dysfunction. *Histopathology*; 2020;77(2):198-209. doi:10.1111/his.14134.
85. Wichmann D. Autopsy Findings and Venous Thromboembolism in Patients With COVID-19. *Ann Intern Med*; 2020;173(12):1030. doi:10.7326/L20-1206.
86. Klok FA, Kruip M, van der Meer NJM, et al. Incidence of thrombotic complications in critically ill ICU patients with COVID-19. *Thromb Res*; 2020;191:145-7. doi:10.1016/j.thromres.2020.04.013.
87. Cui S, Chen S, Li X, et al. Prevalence of venous thromboembolism in patients with severe novel coronavirus pneumonia. *J Thromb Haemost*; 2020;18(6):1421-4. doi:10.1111/jth.14830.
88. Tang N, Bai H, Chen X, et al. Anticoagulant treatment is associated with decreased mortality in severe coronavirus disease 2019 patients with coagulopathy. *J Thromb Haemost*; 2020;18(5):1094-9. doi:10.1111/jth.14817.

89. Poissy J, Goutay J, Caplan M, et al. Pulmonary Embolism in Patients With COVID-19: Awareness of an Increased Prevalence. *Circulation*; 2020;142(2):184-6. doi:10.1161/circulationaha.120.047430.
90. Middeldorp S, Coppens M, van Haaps TF, et al. Incidence of venous thromboembolism in hospitalized patients with COVID-19. *J Thromb Haemost*; 2020;18(8):1995-2002. doi:10.1111/jth.14888.
91. Helms J, Tacquard C, Severac F, et al. High risk of thrombosis in patients with severe SARS-CoV-2 infection: a multicenter prospective cohort study. *Intensive Care Med*; 2020;46(6):1089-98. doi:10.1007/s00134-020-06062-x.
92. Llitjos JF, Leclerc M, Chochois C, et al. High incidence of venous thromboembolic events in anticoagulated severe COVID-19 patients. *J Thromb Haemost*; 2020;18(7):1743-6. doi:10.1111/jth.14869.
93. Lodigiani C, Iapichino G, Carenzo L, et al. Venous and arterial thromboembolic complications in COVID-19 patients admitted to an academic hospital in Milan, Italy. *Thromb Res*; 2020;191:9-14. doi:10.1016/j.thromres.2020.04.024.
94. Artifoni M, Danic G, Gautier G, et al. Systematic assessment of venous thromboembolism in COVID-19 patients receiving thromboprophylaxis: incidence and role of D-dimer as predictive factors. *J Thromb Thrombolysis*; 2020;50(1):211-6. doi:10.1007/s11239-020-02146-z.
95. Barnes GD, Burnett A, Allen A, et al. Thromboembolism and anticoagulant therapy during the COVID-19 pandemic: interim clinical guidance from the anticoagulation forum. *J Thromb Thrombolysis*; 2020;50(1):72-81. doi:10.1007/s11239-020-02138-z.
96. Spyropoulos AC, Levy JH, Ageno W, et al. Scientific and Standardization Committee communication: Clinical guidance on the diagnosis, prevention, and treatment of venous thromboembolism in hospitalized patients with COVID-19. *J Thromb Haemost*; 2020;18(8):1859-65. doi:10.1111/jth.14929.
97. Guo T, Fan Y, Chen M, et al. Cardiovascular Implications of Fatal Outcomes of Patients With Coronavirus Disease 2019 (COVID-19). *JAMA Cardiol*; 2020;5(7):811-8. doi:10.1001/jamacardio.2020.1017.
98. Brunner H, Cockcroft JR, Deanfield J, et al. Endothelial function and dysfunction. Part II: Association with cardiovascular risk factors and diseases. A statement by the Working Group on Endothelins and Endothelial Factors of the European Society of Hypertension. *J Hypertens*; 2005;23(2):233-46. doi:10.1097/00004872-200502000-00001.
99. Flammer AJ, Anderson T, Celermajer DS, et al. The assessment of endothelial function: from research into clinical practice. *Circulation*; 2012;126(6):753-67. doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.112.093245.
100. Nagele MP, Barthelmes J, Ludovici V, et al. Retinal microvascular dysfunction in heart failure. *Eur Heart J*; 2018;39(1):47-56. doi:10.1093/eurheartj/ehx565.
101. Yang X, Yu Y, Xu J, et al. Clinical course and outcomes of critically ill patients with SARS-CoV-2 pneumonia in Wuhan, China: a single-centered, retrospective, observational study. *Lancet Respir Med*; 2020;8(5):475-81. doi:10.1016/S2213-2600(20)30079-5.
102. Fanelli V, Fiorentino M, Cantaluppi V, et al. Acute kidney injury in SARS-CoV-2 infected patients. *Crit Care*; 2020;24(1):155. doi:10.1186/s13054-020-02872-z.
103. Monteil V, Kwon H, Prado P, et al. Inhibition of SARS-CoV-2 Infections in Engineered Human Tissues Using Clinical-Grade Soluble Human ACE2. *Cell*; 2020;181(4):905-13.e7. doi:10.1016/j.cell.2020.04.004.
104. Hamming I, Timens W, Bulthuis ML, et al. Tissue distribution of ACE2 protein, the functional receptor for SARS coronavirus. A first step in understanding SARS pathogenesis. *J Pathol*; 2004;203(2):631-7. doi:10.1002/path.1570.
105. Khomich OA, Kochetkov SN, Bartosch B, et al. Redox Biology of Respiratory Viral Infections. *Viruses*; 2018;10(8). doi:10.3390/v10080392.
106. Bangalore S, Sharma A, Slotwiner A, et al. ST-Segment Elevation in Patients with Covid-19 - A Case Series. *N Engl J Med*; 2020;382(25):2478-80. doi:10.1056/NEJMc2009020.

107. Puntmann VO, Carerj ML, Wieters I, et al. Outcomes of Cardiovascular Magnetic Resonance Imaging in Patients Recently Recovered From Coronavirus Disease 2019 (COVID-19). *JAMA Cardiol*; 2020;5(11):1265-73. doi:10.1001/jamacardio.2020.3557.
108. Chatzizisis YS, Gajanan G, Bhatt DL, et al. Management of acute myocardial injury in patients with confirmed or suspected COVID-19. *Atherosclerosis*; 2020;305:58-60. doi:10.1016/j.atherosclerosis.2020.06.008.
109. Lindner D, Fitzek A, Brauning H, et al. Association of Cardiac Infection With SARS-CoV-2 in Confirmed COVID-19 Autopsy Cases. *JAMA Cardiol*; 2020;5(11):1281-5. doi:10.1001/jamacardio.2020.3551.
110. Yau JW, Teoh H, Verma S. Endothelial cell control of thrombosis. *BMC Cardiovasc Disord*; 2015;15:130. doi:10.1186/s12872-015-0124-z.
111. Holy EW, Akhmedov A, Speer T, et al. Carbamylated Low-Density Lipoproteins Induce a Prothrombotic State Via LOX-1: Impact on Arterial Thrombus Formation In Vivo. *J Am Coll Cardiol*; 2016;68(15):1664-76. doi:10.1016/j.jacc.2016.07.755.
112. Goshua G, Pine AB, Meizlish ML, et al. Endotheliopathy in COVID-19-associated coagulopathy: evidence from a single-centre, cross-sectional study. *Lancet Haematol*; 2020;7(8):e575-e82. doi:10.1016/S2352-3026(20)30216-7.
113. Bikdeli B, Madhavan MV, Jimenez D, et al. COVID-19 and Thrombotic or Thromboembolic Disease: Implications for Prevention, Antithrombotic Therapy, and Follow-Up: JACC State-of-the-Art Review. *J Am Coll Cardiol*; 2020;75(23):2950-73. doi:10.1016/j.jacc.2020.04.031.
114. Bansal M. Cardiovascular disease and COVID-19. *Diabetes Metab Syndr*; 2020;14(3):247-50. doi:10.1016/j.dsx.2020.03.013.
115. Shi S, Qin M, Shen B, et al. Association of Cardiac Injury With Mortality in Hospitalized Patients With COVID-19 in Wuhan, China. *JAMA Cardiol*; 2020;5(7):802-10. doi:10.1001/jamacardio.2020.0950.
116. Lippi G, Lavie CJ, Sanchis-Gomar F. Cardiac troponin I in patients with coronavirus disease 2019 (COVID-19): Evidence from a meta-analysis. *Prog Cardiovasc Dis*; 2020;63(3):390-1. doi:10.1016/j.pcad.2020.03.001.
117. Clerkin KJ, Fried JA, Raikhelkar J, et al. COVID-19 and Cardiovascular Disease. *Circulation*; 2020;141(20):1648-55. doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.120.046941.
118. Bhatraju PK, Ghassemieh BJ, Nichols M, et al. Covid-19 in Critically Ill Patients in the Seattle Region - Case Series. *N Engl J Med*; 2020;382(21):2012-22. doi:10.1056/NEJMoa2004500.
119. Wang D, Hu B, Hu C, et al. Clinical Characteristics of 138 Hospitalized Patients With 2019 Novel Coronavirus-Infected Pneumonia in Wuhan, China. *JAMA*; 2020;323(11):1061-9. doi:10.1001/jama.2020.1585.
120. Chen T, Wu D, Chen H, et al. Clinical characteristics of 113 deceased patients with coronavirus disease 2019: retrospective study. *BMJ*; 2020;368:m1091. doi:10.1136/bmj.m1091.
121. Tripodi A. D-dimer testing in laboratory practice. *Clin Chem*; 2011;57(9):1256-62. doi:10.1373/clinchem.2011.166249.
122. Wakai A, Gleeson A, Winter D. Role of fibrin D-dimer testing in emergency medicine. *Emerg Med J*; 2003;20(4):319-25. doi:10.1136/emj.20.4.319.
123. Halaby R, Popma CJ, Cohen A, et al. D-Dimer elevation and adverse outcomes. *J Thromb Thrombolysis*; 2015;39(1):55-9. doi:10.1007/s11239-014-1101-6.
124. Adam SS, Key NS, Greenberg CS. D-dimer antigen: current concepts and future prospects. *Blood*; 2009;113(13):2878-87. doi:10.1182/blood-2008-06-165845.
125. Zhang Y, Xiao M, Zhang S, et al. Coagulopathy and Antiphospholipid Antibodies in Patients with Covid-19. *N Engl J Med*; 2020;382(17):e38. doi:10.1056/NEJMc2007575.
126. Rostami M, Mansouritorghabeh H. D-dimer level in COVID-19 infection: a systematic review. *Expert Rev Hematol*; 2020;13(11):1265-75. doi:10.1080/17474086.2020.1831383.
127. Ladikou EE, Sivaloganathan H, Milne KM, et al. Von Willebrand factor (vWF): marker of endothelial damage and thrombotic risk in COVID-19? *Clin Med (Lond)*; 2020;20(5):e178-e82. doi:10.7861/clinmed.2020-0346.

128. Seth R, McKinnon TAJ, Zhang XF. Contribution of the von Willebrand factor/ADAMTS13 imbalance to COVID-19 coagulopathy. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*; 2022;322(1):H87-H93. doi:10.1152/ajpheart.00204.2021.
129. Dellas C, Loskutoff DJ. Historical analysis of PAI-1 from its discovery to its potential role in cell motility and disease. *Thromb Haemost*; 2005;93(4):631-40. doi:10.1160/TH05-01-0033.
130. Vaughan DE. PAI-1 and atherothrombosis. *J Thromb Haemost*; 2005;3(8):1879-83. doi:10.1111/j.1538-7836.2005.01420.x.
131. Baluta MM, Vintila MM. PAI-1 Inhibition - Another Therapeutic Option for Cardiovascular Protection. *Maedica (Bucur)*; 2015;10(2):147-52.
132. Cabrera-Garcia D MA, Parsons S, Elisman K, Mansouri MT, Wagener G, Harrison NL. High levels of plasminogen activator inhibitor-1, tissue plasminogen activator and fibrinogen in patients with severe COVID-19. *medRxiv*; 2021. doi:10.1101/2020.12.29.20248869.
133. Ranucci M, Ballotta A, Di Dedda U, et al. The procoagulant pattern of patients with COVID-19 acute respiratory distress syndrome. *J Thromb Haemost*; 2020;18(7):1747-51. doi:10.1111/jth.14854.
134. Masi P, Hekimian G, Lejeune M, et al. Systemic Inflammatory Response Syndrome Is a Major Contributor to COVID-19-Associated Coagulopathy: Insights From a Prospective, Single-Center Cohort Study. *Circulation*; 2020;142(6):611-4. doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.120.048925.
135. Nougier C, Benoit R, Simon M, et al. Hypofibrinolytic state and high thrombin generation may play a major role in SARS-COV2 associated thrombosis. *J Thromb Haemost*; 2020;18(9):2215-9. doi:10.1111/jth.15016.
136. Kowalczyk A, Kleniewska P, Kolodziejczyk M, et al. The role of endothelin-1 and endothelin receptor antagonists in inflammatory response and sepsis. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)*; 2015;63(1):41-52. doi:10.1007/s00005-014-0310-1.
137. Farhangrazi ZS MS. Elevated circulating endothelin-1 as a potential biomarker for highrisk COVID-19 severity. *Precis Nanomed*; 2020;3(3):622-8. doi:10.33218/001c.13525.
138. Bella J, Kolatkar PR, Marlor CW, et al. The structure of the two amino-terminal domains of human ICAM-1 suggests how it functions as a rhinovirus receptor and as an LFA-1 integrin ligand. *Proc Natl Acad Sci U S A*; 1998;95(8):4140-5. doi:10.1073/pnas.95.8.4140.
139. Rothlein R, Dustin ML, Marlin SD, et al. A human intercellular adhesion molecule (ICAM-1) distinct from LFA-1. *J Immunol*; 1986;137(4):1270-4.
140. Yang L, Froio RM, Sciuto TE, et al. ICAM-1 regulates neutrophil adhesion and transcellular migration of TNF-alpha-activated vascular endothelium under flow. *Blood*; 2005;106(2):584-92. doi:10.1182/blood-2004-12-4942.
141. Liao JK. Linking endothelial dysfunction with endothelial cell activation. *J Clin Invest*; 2013;123(2):540-1. doi:10.1172/JCI66843.
142. Tong M, Jiang Y, Xia D, et al. Elevated Expression of Serum Endothelial Cell Adhesion Molecules in COVID-19 Patients. *J Infect Dis*; 2020;222(6):894-8. doi:10.1093/infdis/jiaa349.
143. Vassiliou AG, Keskinidou C, Jahaj E, et al. ICU Admission Levels of Endothelial Biomarkers as Predictors of Mortality in Critically Ill COVID-19 Patients. *Cells*; 2021;10(1). doi:10.3390/cells10010186.
144. Cooke JP. Does ADMA cause endothelial dysfunction? *Arterioscler Thromb Vasc Biol*; 2000;20(9):2032-7. doi:10.1161/01.atv.20.9.2032.
145. Cardounel AJ, Cui H, Samouilov A, et al. Evidence for the pathophysiological role of endogenous methylarginines in regulation of endothelial NO production and vascular function. *J Biol Chem*; 2007;282(2):879-87. doi:10.1074/jbc.M603606200.
146. Boger RH. Asymmetric dimethylarginine (ADMA): a novel risk marker in cardiovascular medicine and beyond. *Ann Med*; 2006;38(2):126-36. doi:10.1080/07853890500472151.
147. Bermudez V, Bermudez F, Acosta G, et al. Molecular mechanisms of endothelial dysfunction: from nitric oxide synthesis to ADMA inhibition. *Am J Ther*; 2008;15(4):326-33. doi:10.1097/MJT.0b013e318160beda.

148. Hannemann J, Balfanz P, Schwedhelm E, et al. Elevated serum SDMA and ADMA at hospital admission predict in-hospital mortality of COVID-19 patients. *Sci Rep*; 2021;11(1):9895. doi:10.1038/s41598-021-89180-w.
149. Jin Y, Ji W, Yang H, et al. Endothelial activation and dysfunction in COVID-19: from basic mechanisms to potential therapeutic approaches. *Signal Transduct Target Ther*; 2020;5(1):293. doi:10.1038/s41392-020-00454-7.
150. Szmítko PE, Wang CH, Weisel RD, et al. New markers of inflammation and endothelial cell activation: Part I. *Circulation*; 2003;108(16):1917-23. doi:10.1161/01.CIR.0000089190.95415.9F.
151. Marsden PA, Schappert KT, Chen HS, et al. Molecular cloning and characterization of human endothelial nitric oxide synthase. *FEBS Lett*; 1992;307(3):287-93. doi:10.1016/0014-5793(92)80697-f.
152. Cockcroft JR. Exploring vascular benefits of endothelium-derived nitric oxide. *Am J Hypertens*; 2005;18(12 Pt 2):177S-83S. doi:10.1016/j.amjhyper.2005.09.001.
153. Villanueva C, Giulivi C. Subcellular and cellular locations of nitric oxide synthase isoforms as determinants of health and disease. *Free Radic Biol Med*; 2010;49(3):307-16. doi:10.1016/j.freeradbiomed.2010.04.004.
154. Fish JE, Marsden PA. Endothelial nitric oxide synthase: insight into cell-specific gene regulation in the vascular endothelium. *Cell Mol Life Sci*; 2006;63(2):144-62. doi:10.1007/s00018-005-5421-8.
155. Sumpio BE, Riley JT, Dardik A. Cells in focus: endothelial cell. *Int J Biochem Cell Biol*; 2002;34(12):1508-12. doi:10.1016/s1357-2725(02)00075-4.
156. Forstermann U, Munzel T. Endothelial nitric oxide synthase in vascular disease: from marvel to menace. *Circulation*; 2006;113(13):1708-14. doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.105.602532.
157. Pennathur S, Heinecke JW. Oxidative stress and endothelial dysfunction in vascular disease. *Curr Diab Rep*; 2007;7(4):257-64. doi:10.1007/s11892-007-0041-3.
158. Green SJ. Covid-19 accelerates endothelial dysfunction and nitric oxide deficiency. *Microbes Infect*; 2020;22(4-5):149-50. doi:10.1016/j.micinf.2020.05.006.
159. Guan SP, Seet RCS, Kennedy BK. Does eNOS derived nitric oxide protect the young from severe COVID-19 complications? *Ageing Res Rev*; 2020;64:101201. doi:10.1016/j.arr.2020.101201.
160. Pehlivan S, Kose M, Mese S, et al. Investigation of MBL2 and NOS3 functional gene variants in suspected COVID-19 PCR (-) patients. *Pathog Glob Health*; 2021:1-7. doi:10.1080/20477724.2021.1984726.