

TC  
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

AĞIR İNFLUENZA VİRÜS İNFEKSİYONU  
GÖRÜLEN KİŞİLERDE IRF7 GEN MUTASYONU  
VARLIĞININ ARAŞTIRILMASI

Dr. Öğr. Üyesi Nursel ÇALIK BAŞARAN

İmmünoloji Programı  
YÜKSEK LİSANS TEZİ

ANKARA  
2019



**TC  
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**AĞIR İNFLUENZA VİRÜS İNFEKSİYONU GÖRÜLEN  
KİŞİLERDE IRF7 GEN MUTASYONU  
VARLIĞININ ARAŞTIRILMASI**

**Dr. Öğr. Üyesi Nursel ÇALIK BAŞARAN**

**İmmünoloji Programı  
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**TEZ DANIŞMANI  
Prof. Dr. F. İlhan TECAN**

**İKİNCİ DANIŞMAN  
Dr. Öğr. Üyesi Çağman TAN**

**ANKARA  
2019**

**HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ**  
**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**  
**AĞIR İNFLUENZA VİRÜS İNFEKSİYONU GÖRÜLEN KİŞİLERDE IRF7 GEN MUTASYON**  
**VARLIĞININ ARAŞTIRILMASI**  
**Öğrenci: Nursel Çalık Başaran**  
**Danışman: Prof. Dr. F. İlhan Tezcan**  
**İkinci Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Çağman Tan**

Bu tez çalışması 03/09/2019 tarihinde jürimiz tarafından "İmmünoloji-Tezli Yüksek Lisans Programı" nda yüksek lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

**Jüri Başkanı:** Prof. Dr. Deniz N. Çağdaş Ayvaz  
(Hacettepe Üniversitesi)

**Tez Danışmanı:** Prof. Dr. F. İlhan Tezcan  
(Hacettepe Üniversitesi)

**Üye:** Prof. Dr. Fatma Gümrük  
(Hacettepe Üniversitesi)

**Üye:** Prof. Dr. Şerife Gül Öz  
(Hacettepe Üniversitesi)

**Üye:** Prof. Dr. Cemalettin Aybay  
(Gazi Üniversitesi)

Bu tez Hacettepe Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri tarafından uygun bulunmuştur.

20 Eylül 2019

  
Prof. Dr. Diclehan Orhan  
Enstitü Müdürü

## YAYIMLAMA VE FİKRİ MÜLKİYET HAKLARI BEYANI

Enstitü tarafından onaylanan lisansüstü tezimin/raporumun tamamını veya herhangi bir kısmını, basılı (kağıt) ve elektronik formatta arşivleme ve aşağıda verilen koşullarla kullanıma açma iznini Hacettepe Üniversitesine verdiğimi bildiririm. Bu izinle Üniversiteye verilen kullanım hakları dışındaki tüm fikri mülkiyet haklarım bende kalacak, tezimin tamamının ya da bir bölümünün gelecekteki çalışmalarda (makale, kitap, lisans ve patent vb.) kullanım hakları bana ait olacaktır.

Tezin kendi orijinal çalışmam olduğunu, başkalarının haklarını ihlal etmediğimi ve tezimin tek yetkili sahibi olduğumu beyan ve taahhüt ederim. Tezimde yer alan telif hakkı bulunan ve sahiplerinden yazılı izin alınarak kullanılması zorunlu metinlerin yazılı izin alınarak kullandığımı ve istenildiğinde suretlerini Üniversiteye teslim etmeyi taahhüt ederim.

Yükseköğretim Kurulu tarafından yayınlanan **“Lisansüstü Tezlerin Elektronik Ortamda Toplanması, Düzenlenmesi ve Erişime Açılmasına İlişkin Yönerge”** kapsamında tezim aşağıda belirtilen koşullar haricince YÖK Ulusal Tez Merkezi / H.Ü. Kütüphaneleri Açık Erişim Sisteminde erişime açılır.

- o Enstitü / Fakülte yönetim kurulu kararı ile tezimin erişime açılması mezuniyet tarihimden itibaren 2 yıl ertelenmiştir. <sup>(1)</sup>
- o Enstitü / Fakülte yönetim kurulunun gerekçeli kararı ile tezimin erişime açılması mezuniyet tarihimden itibaren ... ay ertelenmiştir. <sup>(2)</sup>
- o Tezimle ilgili gizlilik kararı verilmiştir. <sup>(3)</sup>

19.10.2015

(İmza)  
Öğrencinin Adı SOYADI

Nursel Galik Başaran

<sup>1</sup>“Lisansüstü Tezlerin Elektronik Ortamda Toplanması, Düzenlenmesi ve Erişime Açılmasına İlişkin Yönerge”

(1) Madde 6. 1. Lisansüstü teze ilgili patent başvurusu yapılması veya patent alma sürecinin devam etmesi durumunda, tez danışmanının önerisi ve enstitü anabilim dalının uygun görüşü üzerine enstitü veya fakülte yönetim kurulu iki yıl süre ile tezin erişime açılmasının ertelenmesine karar verebilir.

(2) Madde 6. 2. Yeni teknik, materyal ve metotların kullanıldığı, henüz makaleye dönüşmemiş veya patent gibi yöntemlerle korunmamış ve internetten paylaşılması durumunda 3. şahıslara veya kurumlara haksız kazanç imkanı oluşturabilecek bilgi ve bulguları içeren tezler hakkında tez danışmanının önerisi ve enstitü anabilim dalının uygun görüşü üzerine enstitü veya fakülte yönetim kurulunun gerekçeli kararı ile altı ayı aşmamak üzere tezin erişime açılması engellenebilir.

(3) Madde 7. 1. Ulusal çıkarları veya güvenliği ilgilendiren, emniyet, istihbarat, savunma ve güvenlik, sağlık vb. konulara ilişkin lisansüstü tezlerle ilgili gizlilik kararı, tezin yapıldığı kurum tarafından verilir \*. Kurum ve kuruluşlarla yapılan işbirliği protokolü çerçevesinde hazırlanan lisansüstü tezlere ilişkin gizlilik kararı ise, ilgili kurum ve kuruluşun önerisi ile enstitü veya fakültenin uygun görüşü üzerine üniversite yönetim kurulu tarafından verilir. Gizlilik kararı verilen tezler Yükseköğretim Kuruluna bildirilir.

Madde 7.2. Gizlilik kararı verilen tezler gizlilik süresince enstitü veya fakülte tarafından gizlilik kuralları çerçevesinde muhafaza edilir, gizlilik kararının kaldırılması halinde Tez Otomasyon Sistemine yüklenir

\* Tez danışmanının önerisi ve enstitü anabilim dalının uygun görüşü üzerine enstitü veya fakülte yönetim kurulu tarafından karar verilir.

## ETİK BEYAN

Bu çalışmadaki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu, kullandığım verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı, yararlandığım kaynaklara bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu, tezimin kaynak gösterilen durumlar dışında özgün olduğunu, Tez Danışmalarım Prof. Dr. İlhan TEZCAN ve Dr. Öğr. Üyesi Çağman TAN danışmanlığında tarafımdan üretildiğini ve Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Yönergesine göre yazıldığımı beyan ederim.

Dr. Öğr. Üyesi Nursel Çalık Başaran

## TEŞEKKÜR

İmmünoloji Yüksek Lisans eğitim ve bu çalışmanın gerçekleşmesi süresince bilgi ve deneyimleri ile değerli katkılarından dolayı tez danışmanlarım Sayın Prof. Dr. F. İlhan Tezcan'a, Dr. Öğr. Üyesi Çağman Tan ve Prof. Dr. N. Deniz Çağdaş Ayvaz'a,

Laboratuvar analizlerinin gerçekleştirilmesinde katkı sağlayan başta Mehtap Sönmez ve Biyolog Begüm Özbek olmak üzere Pediatrik İmmünoloji Bilim Dalı Laboratuvarı'nın değerli çalışanlarına,

Çalışmaya katılan tüm katılımcılara,

Araştırmanın yürütülmesi sırasında desteklerini esirgemeyen İç Hastalıkları ABD, Yoğun Bakım Ünitesi BD Başkanı Sayın Prof. Dr. Arzu Topeli İskit ve ekibine, yüksek lisans ve tez çalışmalarım süresince hep destek olan Genel Dahiliye Bilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Şerife Gül Öz'e, Prof. Dr. Gülay Sain Güven'e, Genel Dahiliye Bilim Dalı öğretim üyeleri ve Bölüm 75 Akut Bakım sorumluları Prof. Dr. Mine Durusu Tanrıöver ve Sayın Doç. Dr. Lale Özışık'a, Genel Dahiliye Bilim Dalı çalışanlarına, İç Hastalıkları ABD araştırma görevlilerine,

Bana desteğini hiçbir zaman esirgemeyen ve zamanlarından aldığım sevgili eşim, çocuklarım ve aileme,

Sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

## ÖZET

**Çalık Başaran, N., Ağır influenza virüs infeksiyonu görülen kişilerde IRF7 gen mutasyonu varlığının araştırılması, Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü İmmünoloji Programı Yüksek Lisans Tezi, Ankara, 2019.** Bu çalışma ağır influenza infeksiyonu olan erişkinlerde lenfosit alt gruplarının dağılımı ve altta yatan IRF7 gen mutasyonu varlığının araştırılması amaçlamıştır. İnfluenza infeksiyonu atak döneminde solunum yetmezliği olan ve influenza infeksiyonu tespit edilen, İç Hastalıkları servislerine yatırılan 32 hastadan araştırmaya dahil edilmiştir. Hastaların median yaşı 67 (26-96) idi ve 21'i kadındı; 13'ü yoğun bakım ünitesinde izlendi; 5'ine invaziv, 13'sine non-invaziv mekanik ventilasyon uygulandı. Median yatış süresi 11.5 (4-56) gündü ve 3 hasta exitus oldu. Median lökosit sayısı 7000 /ml (3200-26000) ve median lenfosit sayısı 948 /ml (92-3078) idi. 16 hastanın hem T hem B lenfosit alt gruplarının analizi flowsitometri yöntemi ile yapıldı. Sanger yöntemi ile IRF7 gen analizi sonucunda 3 hastada iki farklı polimorfizm tespit edildi; K179E (rs1061502) ve H195L (rs139709725). T ve B lenfosit alt gruplarındaki değişiklik influenza infeksiyonunda beklendiği yönde görülmekle birlikte altta yatan hastalıklarına da bağlı olabilir. Hastaların ileri yaş ve komorbiditelerinin varlığı ağır influenza infeksiyonuna yatkınlık yaratabilir. İncelenen bu hastalarda IRF7 geninde influenza virüs infeksiyonuna yatkınlık yarattığı tanımlanmış bir mutasyon tespit edilememiştir.

**Anahtar Kelimeler:** influenza infeksiyonu, interferon regulator factor 7, IRF7

Bu çalışma Hacettepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmiştir.



**ABSTRACT**

**Çalık Başaran, N., Investigation of IRF7 gene mutation in people with severe influenza virus infection, Hacettepe University Graduate School of Health Sciences Immunology Master Thesis, Ankara, 2019.** This study aimed to investigate the distribution of lymphocyte subgroups and the potential presence of underlying IRF7 gene mutation in adults with severe influenza infection. We included 32 patients who had influenza infection with respiratory failure hospitalized in the Internal Medicine Departments during the influenza season in this study. The median age of the patients was 67 (26-96) years, and 21 were women; 13 were followed up in the intensive care unit; five patients underwent invasive and 13 patients underwent non-invasive mechanical ventilation. Median hospitalization time was 11.5 (4-56) days and 3 patients died. The median leukocyte count was 7000 / ml (3200-26000) and the median lymphocyte count was 948 / ml (92-3078). Both T and B lymphocyte subsets of 16 patients were analyzed by flow cytometry. Two different polymorphisms were detected in 3 patients by IRF7 gene analysis by Sanger method; K179E (rs1061502) and H195L (rs139709725). The changes in T and B lymphocyte subgroups can be explained by influenza infection, but may also be due to underlying diseases. Advanced age and presence of comorbidities may predispose to severe influenza infection. No mutation was identified in the IRF7 gene known to be proning to susceptible to influenza virus infection in these patients.

**Keywords:** influenza infection, interferon regulatory factor 7, IRF7

This study was supported by Hacettepe University Scientific Research Projects Coordination Unit.

## İÇİNDEKİLER

ONAY SAYFASI	iii
YAYIMLAMA VE FİKRİ MÜLKİYET HAKLARI BEYANI	iv
ETİK BEYAN	v
TEŞEKKÜR	vi
ÖZET	vii
ABSTRACT	viii
İÇİNDEKİLER	ix
SİMGELER ve KISALTMALAR	xi
ŞEKİLLER	xv
TABLolar	xvi
1.GİRİŞ	1
2.GENEL BİLGİLER	3
2.1. Virüsün yapısı	3
2.2. Epidemiyoloji	8
2.2.1. Epidemik İnfluenza	10
2.2.2. Pandemik İnfluenza	10
2.2.3. Antijenik Varyasyonlar	11
2.2.4. İnfluenza Virüslerinin Rezervuarı	12
2.3. Patogenez	13
2.3.1. İnfluenza virüsünün bulaşması	13
2.3.2. Hücresel Patogenez	13
2.3.3. Virüsün Yayılımı	14
2.3.4. Histopatoloji	14
2.4. Patofizyoloji	15
2.5. Klinik Bulgular	16
2.5.1. Komplikasyonsuz İnfluenza	16
2.5.2. İnfluenza Komplikasyonları	17
2.6. İnfluenza Virüs İnfeksiyonuna Karşı İmmün Sistem Cevabı	20
2.6.1. İnfluenza Virüs İnfeksiyonuna Karşı Doğal İmmünite	21
2.6.2. İnfluenza Virüs İnfeksiyonuna Karşı Adaptif İmmünite	39

2.6.3. İnfluenza Virüsünün Konak İmmün Taramasından Kaçışı	46
2.6.4. Primer İmmünyetmezlikler ve İnfluenza Virüs İnfeksiyonu	48
2.6.5. İnfluenza Virüs İnfeksiyonu Sonrası Bakteriyel Pnömoni Gelişme Mekanizmaları	49
2.7. Solunum Yetmezliği	52
3. GEREÇ ve YÖNTEM	54
3.1. Olguların Seçimi ve Araştırmaya Dahil Edilmesi	54
3.2. Laboratuvar Çalışmaları	55
3.2.1. Olgu DNA'larının Eldesi ve IRF7 Gen Analizi	55
3.2.2. Akım Sitometri	60
4. BULGULAR	64
4.1. Olguların Demografik ve Klinik Özellikleri	64
4.2. Olguların B ve T lenfosit Alt Grup Analiz Sonuçları	74
4.3. Olguların IRF7 Gen Analizi Sonuçları	80
5. TARTIŞMA	84
6. SONUÇ ve ÖNERİLER	89
7. KAYNAKLAR	91
8. EKLER	
EK 1: Tez Çalışması ile İlgili Etik Kurul İzni	
EK 2: Turnitin ekran Görüntüsü	
EK3: Digital Makbuz	
9. ÖZGEÇMİŞ	

**SİMGELER ve KISALTMALAR**

<b>25HC</b>	25-hidroksi kolesterol
<b>ABD</b>	Amerika Birleşik Devletleri
<b>AF</b>	Atriyal fibrilasyon
<b>ARDS</b>	Akut respiratuar distres sendromu
<b>BALT</b>	Bronş-assosiye lenfoid dokunun
<b>CARD</b>	N-terminal caspase recruitment domain
<b>CCL-2</b>	C-C motif kemokin ligand-2
<b>CD</b>	Cluster of differentiation
<b>CH25H</b>	Kolesterol 25-hidroksilaz
<b>CLR</b>	C-tip lektin reseptörleri
<b>CRP</b>	C-reaktif protein
<b>CTL</b>	Sitotoksik T hücreleri
<b>DH</b>	Dendritik hücre
<b>DM</b>	Diabetes mellitus
<b>DNA</b>	Deoksiribonükleik asit
<b>DSÖ</b>	Dünya Sağlık Örgütü
<b>dsRNA</b>	Çift iplikli Ribonükleik asit
<b>ESR</b>	Eritrosit sedimentasyon hızı
<b>FEV1</b>	1.saniyedeki zorlu ekspiratuar hacim
<b>FVC</b>	Zorlu vital kapasite
<b>GFR</b>	Glomerüler filtrasyon hızı
<b>GM-CSF</b>	Granülosit-monosit koloni stimüle edici faktör
<b>GrA</b>	Granzim A
<b>GrB</b>	Granzim B
<b>HA</b>	Hemaglutinin
<b>HT</b>	Hipertansiyon
<b>ICL</b>	Innate lenfoid hücreler

<b>Id2</b>	İnhibitör of DNA binding 2
<b>IFITM</b>	İnterferon-induced transmembrane protein ailesi
<b>IFNLR</b>	IFN ligand reseptörleri
<b>IFN<math>\lambda</math></b>	İnterferon lambda
<b>IKKE</b>	Serin-treonin kinaz kappa epsilon
<b>IL</b>	İnterlökin
<b>IRF3</b>	İnterferon regülatör faktör 3
<b>IRF7</b>	İnterferon regülatör faktör 7
<b>ISGF3</b>	İnterferon-stimulated gene factor 3
<b>ISRE</b>	IFN-stimule response element
<b>İAV</b>	İnfluenza A virüsü
<b>İBV</b>	İnfluenza B Virüsü
<b>İFN<math>\alpha/\beta</math></b>	İnterferon Alfa/ Beta
<b>İMV</b>	İnvaziv mekanik ventilasyon
<b>iNOS2</b>	İnducible nitrik oksid sentaz
<b>JAK</b>	Janus-kinaz
<b>KAH</b>	Koroner arter hastalığı
<b>KBH</b>	Kronik böbrek hastalığı,
<b>KKY</b>	Konjestif kalp yetmezliği
<b>KOAH</b>	Kronik obstruktif akciğer hastalığı
<b>LTi</b>	Lenfoid doku <i>induced</i>
<b>M</b>	Matriks
<b>MAİT</b>	Mukoza asosiye invariant T hücreler
<b>MAVS</b>	<i>Mitochondrial antiviral signaling</i>
<b>MCP-1</b>	Monosit kemoatraktan protein-1
<b>MDSH</b>	Myeloid kökenli supresör hücreler
<b>MHC</b>	Majör histokompatibilite kompleksi
<b>MM</b>	Multiple myelom
<b>Mo-DH</b>	Monosit-kökenli dendritik hücreler

<b>Mx</b>	<i>Myxovirus</i> direç geni
<b>Myd88</b>	Myeloid diferansiyasyon faktörü 88
<b>NA</b>	Nöraminidaz
<b>NEP</b>	Nükleer eksport protein
<b>NF-KB</b>	Aktif B hücreleri nükleer <i>kappa-light-chain-enhancer</i>
<b>NIMV</b>	Non-invaziv mekanik ventilasyon
<b>NK</b>	<i>Natural Killer</i> , doğal öldürücü
<b>NLR</b>	<i>Nod-like</i> reseptörler
<b>NLRP3</b>	<i>NOD-like receptor family pyrin domain containing 3</i>
<b>NP</b>	Nükleoprotein
<b>NS</b>	<i>Non-structural</i> , yapısal olmayan
<b>OAS-TNase</b>	Oligoadenilat sentaz ve ribonükleaz
<b>PA</b>	Asidik Polimeraz
<b>PAAC</b>	Posteroanterior akciğer grafisi
<b>PaCO<sub>2</sub></b>	Parsiyel karbondioksit basıncı
<b>PAMP</b>	Patojen ilişkili moleküler paternler
<b>PaO<sub>2</sub></b>	Parsiyel oksijen basıncı
<b>PB</b>	Polimeraz protein
<b>PBS</b>	<i>Phosphate buffered saline</i>
<b>PCR</b>	Polimeraz zincir reaksiyonu
<b>pDH</b>	Plasmositoid dendritik hücreler
<b>PİY</b>	Primer immün yetmezlik
<b>PKR</b>	Protein kinaz R
<b>PMNL</b>	Polimorfonükleer lökositler
<b>PRR</b>	Patern tanıma reseptörleri
<b>RCC</b>	Renal cell carcinoma
<b>RIG-I</b>	Retinoik asit-indüklenen gen-1
<b>RNA</b>	Ribonükleik asit
<b>RNP</b>	Viral ribonükleoproteinler

<b>RSV</b>	Respiratuar sinsityal virüs
<b>S.aureus</b>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<b>S.pneumoniae</b>	<i>Streptococcus pneumonie</i>
<b>SA</b>	Sialik asit
<b>SLE</b>	Sistemik lupus eritematozus
<b>STAT</b>	<i>Signal transducer and activator of transcription</i>
<b>TEMRA</b>	Efektör hafıza T <sub>RA</sub>
<b>Th</b>	T <i>helper</i> - yardımcı T
<b>TLR</b>	<i>Toll</i> -benzeri reseptörleri
<b>TNF-<math>\alpha</math></b>	Tümör nekrozis faktor- alfa
<b>TRAIL</b>	TNF-aracılı <i>apoptosis-inducing ligand</i>
<b>Treg</b>	Regülatör T lenfosit
<b>TRIM25</b>	<i>Tripartite motif containing 25</i>
<b>VEGF-A</b>	Vasküler endotelyal büyüme faktörü A
<b>VKİ</b>	Vücut kütle indeksi
<b>ZAP</b>	<i>Zinc finger antiviral protein</i>

## ŞEKİLLER

Şekil	Sayfa
2.1. İnfluenza virüsünün yapısı.	4
2.2. İnfluenza virüsünün hücre içine girişinden sonraki doğal immün sistem sinyal mekanizmaları.	25
2.3. İnfluenza virüsünün hücre içine girişinden sonraki doğal immün sistem sinyal mekanizmalarında yer alan antiviral moleküller.	28
2.4. İnfluenza virüsüne karşı etkili olan immün sistem hücreleri.	37
2.5. İnfluenza virüs infeksiyonu sırasında doğal ve adaptif immün cevap basamakları.	46
2.6. Ciancinelli ve arkadaşları tarafından tanımlanan <i>compound</i> heterozigot IRF7 gen mutasyonu.	49
2.7. İnfluenza virus infeksiyonu sonrasında bakteriyel pnömoniye yatkınlığın gelişme mekanizmaları.	51
4.1. Interferon regulatory faktör 7 geninin genomik organizasyonunun şematik gösterimi.	82
4.2. 1 ve 22 No'lu olguların IRF7 geninde saptanan variant.	82
4.3. 29 No'lu olgunun IRF7 geninde saptanan variant.	83



## TABLOLAR

<b>Tablo</b>	<b>Sayfa</b>
2.1. İnfluenza A, B ve C virüsleri arasındaki farklılıklar.	5
2.2. İnsanlarda ve bazı konaklarda tanımlanmış Hemaglutinin ve Nöraminidaz tipleri.	6
2.3. İnfluenza A virüsünün proteinleri ve işlevleri.	7
2.4. İnfluenza virüs enfeksiyonuna bağlı komplikasyon gelişme riski artmış kişiler.	9
2.5. Tarihteki pandemileri ile ilişkili influenza A suşları.	11
3.1. PCR protokolü.	56
3.2. Dizi Analizi PCR Protokolü.	57
3.3. IRF7 geni için tasarlanan primer dizileri.	59
3.4. B hücre alt gruplarının yüzey belirteçleri.	61
3.5. T hücre alt gruplarının yüzey belirteçleri.	62
4.1. Olguların hastaneye başvuru anındaki klinik özellikleri.	66
4.2. Olguların hastaneye başvuru anındaki klinik özellikleri, olgu bazında.	67
4.3. Olguların başvuru anındaki laboratuvar sonuçları, kullanılan antibakteriyel ilaçlar.	71
4.4. Olguların lenfosit alt gruplarının dağılımı.	75
4.5. Olguların B Lenfosit alt gruplarının dağılımı.	77
4.6. Olguların CD4 + T lenfosit alt gruplarının dağılımı.	78
4.7. Olguların CD8 + T lenfosit alt gruplarının dağılımı.	79
4.8. Olguların IRF 7 gen analizi sonuçları.	81

## 1. GİRİŞ

İnfluenza virüs infeksiyonu (grip), dünyada epidemiler ve pandemiler yaparak tarihler boyunca hastalık ve ölümlere yol açan bir infeksiyondur (1). Ülkemizin de içinde olduğu kuzey yarı kürede her yıl Aralık-Mart aylarındaki influenza sezonunda yoğun hastane başvuruları, hastane yatışları ve ölümler görülmektedir. Virüsün sık değişkenlik gösteren yapısı nedeniyle kalıcı ve çok etkili bir korunma yöntemi geliştirilemediği için geçmişte olduğu gibi gelecekte de influenza virüs infeksiyonu sorun olmaya devam edecektir.

Özellikle küçük çocuklar, yaşlılar ve kronik hastalığı olan kişilerin infeksiyona ve komplikasyonlara yatkın olduğu literatürde iyi tanımlanmıştır. Ancak bazen sağlıklı erişkinlerde de ağır influenza infeksiyonları ve komplikasyonları yaşanmaktadır (2). Bir grup araştırmacı tarafından, 2015 yılında, ağır influenza enfeksiyonu geçiren bir çocukta ve aile bireylerinde yapılan genetik ve fonksiyonel çalışmalarla interferon regülatör faktör 7 (IRF7) geninde fonksiyon kaybına yol açan bir mutasyonun özellikle influenza virüs infeksiyonuna yatkınlık yarattığı tanımlanmıştır. Buradan hareketle, IRF7 eksikliği, primer immün yetmezlikler içerisinde doğrudan influenza virüs infeksiyonuna karşı duyarlılığın olduğu ilk tek gen hastalığı olarak kabul edilmiştir ve primer immün yetmezlikler sınıflamasında yerini almıştır (3).

Erişkinlerde primer immün yetmezlikler giderek daha sık karşımıza çıkmaktadır. Bunun nedenleri, çocukluk çağında tanı almış ve gelişen tedavi seçenekleriyle erişkin hayata ulaşmış hasta sayısının artması ve erişkin hayatta tanı konulan hasta sayısının artmasıdır. Tanı olanaklarının ve farkındalığın artması sonucu erişkinlerde daha hızlı ve daha sık primer immün yetmezlik tanısı konulabilmektedir. Özellikle influenza virüs infeksiyonu açısından bakıldığında, genetik yatkınlığı olan bireylerin tespit edilmesi, mevsimsel influenza aşılması, infeksiyonlu bireylerle temas durumunda profilaksi veya hastalık şüphesinde tedavi için erken antiviral ilaç başlanması

gibi basit önlemlerle kişilerin sağlıklarının korunmasına olanak sağlayacaktır. Bu sayede komplikasyonlar ve ölümlerin önüne geçilebilecektir.

Bu çalışmada, ağır influenza virüs infeksiyonu geçiren erişkin hastalarda infeksiyon sırasında immünolojik durumun değerlendirilmesi ve IRF7 gen analizlerinin araştırılması amaçlanmıştır.

## 2. GENEL BİLGİLER

İnfluenza ya da “grip”, tüm dünyada mevsimsel salgınların görüldüğü influenza virüsünün yol açtığı bir enfeksiyondur. Mevsimsel salgınların ötesinde tüm dünyada milyonlarca ölümlle sonuçlanan küresel salgınlara da yol açmaktadır.

### 2.1. Virüsün yapısı

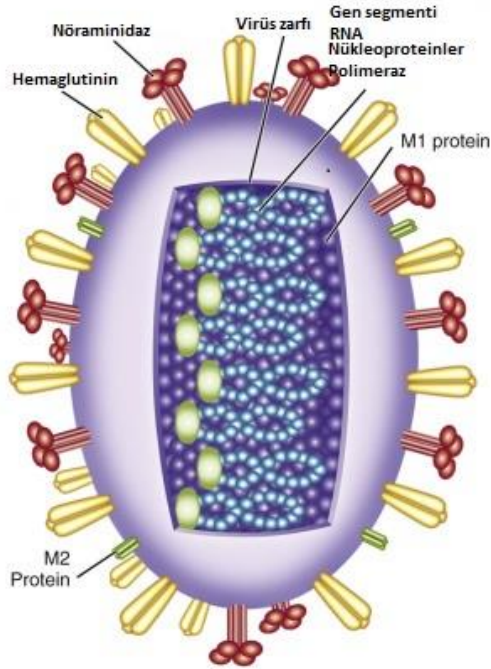
İnfluenza virüsü *orthomyxoviridae* ailesinin bir üyesidir. Zarflı, negatif kutuplu, tek sarmallı bir RNA virüsüdür ve 80-120 nm çapındadır (Şekil 2.1). Nükleokapsid ve matriks proteinlerine göre İnfluenza A, B ve C virüsleri (Tablo 2.1) şeklinde üç farklı tipe ayrılmaktadır (4).

Zarf yüzeyinde çıkıntı şeklinde Nöraminidaz (NA) ve Hemaglutinin (HA) glikoproteinleri bulunmaktadır ve virüslerin antijenik alt tiplendirmesi bu yapılara göre yapılmaktadır. Tanımlanmış 9 NA ve 18 HA alt tip mevcuttur (Tablo 2.2). İnsanlarda influenza A ve B virüsleri yaygın hastalığa yol açmaktadır. İnfluenza C virüsünün çocuklarda solunum yolu enfeksiyonuna yol açabildiği ve erişkinlerde az sayıda vakaların olduğu bildirilmiştir (1). İnfluenza A virüslerinin insanlarda hastalık yapan üç hemaglutinin (H1, H2 ve H3) ve iki nöraminidaz (N1 ve N2) alt tipi tanımlanmıştır (5). İnfluenza A virüslerinin en önemli özellikleri antijenik değişiklikler göstermesidir. Virüs antijeninde minör değişiklik olması “antijenik drift” olarak adlandırılmaktadır ve epidemilerden sorumlu tutulmaktadır. Virüs antijeninde olan majör değişiklikler ise “antijenik shift” olarak adlandırılmaktadır ve pandemilerden sorumludur (6, 7).

İnfluenza virüslerinin isimlendirmesinde influenza tipi, ilk olarak izole edildiği yerin adı, suş numarası ve izole edildiği yıl kullanılmaktadır. İnfluenza A virüsleri için HA ve NA alt tipi olarak da verilir. Örnek: A/California/7/2009 (H1N1)(1).

Virüsün HA yapısı, konak hücrenin solunum yolu epitel hücreleri üzerindeki sialik asit yapısına tutunmakta ve membran füzyonunda görev almaktadır. Bu enfeksiyonun başlaması için önemlidir. NA yapısı, virüsün infektivitesinde önemli rol oynamaktadır; hücre yüzeyindeki sialik asit bağlarını kırarak virionların konak hücre içine girmesini

sağlamakta ve agregasyonu önlemektedir. Üçüncü bir integral membran proteini M2 proteindir ve zarf üzerinde az miktarda bulunmaktadır. M1 proteini zarfın içindeki matriksdir ve virüsün stabilitesini sağladığı düşünülmektedir. Zarf yapının içinde birbirinden fiziksel olarak bağımsız 8 nükleokapsit segmenti bulunmaktadır. Bu nükleokapsitlerin her birinde tek sarmallı RNA, bir ucunda viral nükleoprotein yapı ve 3 polimeraz protein bulunmaktadır (PB1, PB2 ve PA). Virüsün bu iç proteinleri çapraz reaksiyon gösteren, virüse özgü sitotoksik T lenfositlerin (CTL) önemli hedefidir. Yapısal olmayan (*non-structural*) iki viral protein, NS1 ve NS2 veya nükleer eksport protein (NEP), enfekte hücrelerin içerisinde bulunmaktadır. Bu viral protein yapılarının özellikleri ve görevleri Tablo 2.3’de verilmiştir (6).



**Şekil 2.1.** İnfluenza virüsünün yapısı. (1 No’lu kaynaktan uyarlanmıştır)

**Tablo 2.1.** İnfluenza A, B ve C virüsleri arasındaki farklılıklar (1 No'lu kaynaktan uyarlanmıştır).

	<b>İnfluenza A</b>	<b>İnfluenza B</b>	<b>İnfluenza C</b>
<b>Genetik yapı</b>	8 gen segmenti, 10 viral protein, M2	8 gen segmenti, 11 viral protein, NB	7 gen segmenti, 9 viral protein, HEF
<b>Konak</b>	İnsan, domuz, at, kuş, deniz memelileri	Sadece insanlar	İnsan ve domuzlar
<b>Epidemiyoloji</b>	Antijenik shift ve drift	Antijenik drift, birden fazla varyant bir arada dolaşımında olabilir	Antijenik drift, çok sayıda varyant
<b>Klinik</b>	Genç bireylerde ölümün fazla olduğu geniş çaplı salgınlara (pandemi) yol açar	Pandemi görülmez, yaşlı ve yüksek riskli bireylerde ağır hastalık tablosu	Mevsimsel değişiklik göstermeyen hafif hastalık

HEF: *hemagglutinin esterase-fusion protein*



**Tablo 2.3.** İnfluenza A virüsünün proteinleri ve işlevleri (1 No'lu kaynaktan uyarlanmıştır).

RNA segment numarası	Gen ürünü adı	Protein adı	İşlevi
1	PB1	Polimeraz kompleks 1	RNA transkriptaz
2	PB2	Polimeraz kompleks 2	Kapak bağlanması, endonukleotik kırılma
3	PA	Asidik polimeraz	Bilinmiyor
4	HA	Hemaglutinin	Hücre membranına virüsün tutunması, membran füzyonu
5	NA	Nöraminidaz	Hücre yüzeyinden sialik asidin kırılmasını sağlar, membrandan salınır, agregasyonu önler
6	NP	Nükleoprotein	RNA enkapside eder, transkripsiyon ve replikasyonu düzenler
7	M	Matriks	Virüs <i>core</i> çevreler, nükleer transportu kontrol eder
	M2	Matriks 2	İyon kanalı, <i>uncoating</i> için gerekli
8	NS1	<i>Non-structural 1</i>	Tip 1 interferonu antagonize eder, nükleustan mRNA transportunun düzenlenmesinde yer alabilir
	NEP (NS2)	Nükleer eksport protein	Yeni oluşan RNP lerin nükleustan sitoplazmaya transportu

RNA: ribonükleik asit; RNP: ribonükleoprotein



## 2.2. Epidemiyoloji

İnfluenza epidemileri artmış morbidite ve mortalite ile sonuçlanmaktadır. Pnömoni ölümlerin en önemli nedenidir. Epidemiler sırasında hastane yatışları da belirgin artış gösterir. Epidemiler kış ve bahar aylarında zirve yapan şekilde her yıl görülmektedir. İnfluenza A virüsleri baskın olduğunda daha fazla mortalite beklenmektedir. Amerika Birleşik Devletleri'nde (ABD) her yıl 50.000'den fazla ölümün ve 200.000 üzerinde hastane yatışının influenza infeksiyonuna bağlı olduğu ve influenza nedeniyle yıllık toplam sağlık harcamalarının 10 milyar dolar olduğu tahmin edilmektedir (8-10). "Techumseh Community Healt Study" verilerine göre ABD'de her yıl 20 yaşından küçüklerde 13.8-16 milyon solunum yolu hastalığının, yaşlılarda 4.1-4.5 milyon solunum yolu hastalığının influenzaya bağlı olduğu tahmin edilmektedir (11). Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) 50 yılı aşkın süredir Küresel İnfluenza Sürveyans Programı yürütmektedir ve tüm dünyada her iki yarı kürede influenza yıllık aktivitesini takip etmektedir. DSÖ verilerine göre 290.000- 650.000 solunum yolu hastalığına bağlı ölümün influenza nedeniyle olduğunu tahmin edilmektedir (12). Ülkemizde Sağlık Bakanlığı Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü Bulaşıcı Hastalıklar Daire Başkanlığı tarafından influenza aktivitesi haftalık olarak takip edilmektedir (13).

İnfluenza infeksiyonu gençlerde daha sık görülürken yaşlılarda ölüm hızı daha yüksektir. Mortalite ve morbidite Tablo 2.4'de verilen risk gruplarında çok daha yüksektir (14, 15). İnfluenza nedeni ile hastane yatışları komplikasyon riski yüksek olan yaşlılar ve ko-morbid hastalığı olan bireylerde yoğun olmakla birlikte, genç, sağlıklı görünen ve üretken hayattaki bireylerde de yüksektir. Komplike olmamış bir influenza virüs infeksiyonu, özellikle hastalıkla ilişkili yorgunluk ve halsizlik nedeniyle ortalama 5-6 gün iş gücü kaybına neden olmaktadır.

**Tablo 2.4.** İnfluenza virüs infeksiyonuna bağlı komplikasyon gelişme riski artmış kişiler (14 No'u kaynaktan uyarlanmıştır).

5 yaş ve altındaki çocuklar; özellikle 2 yaş altı en riskli
65 yaş ve üzerindeki bireyler
Gebe kadınlar veya postpartum 2 hafta içindeki kadınlar
Bakım evlerinde yaşayanlar
Saf Amerika ve Alaska ırkı
<p><b>Aşağıdaki tıbbi durumlara sahip bireyler:</b></p> <p>Astım</p> <p>Nörolojik ve nörogelişimsel bozukluğu olanlar (beyin, spinal kord, periferik sinir hastalıkları veya kas hastalıkları olanlar; serebral palsi, epilepsi, mental retardasyon gibi, orta veya ağır düzeyde gelişme geriliği olanlar, musküler distrofi ve spinal kord hasarı olanlar)</p> <p>Kronik akciğer hastalığı (kronik obstrüktif akciğer hastalığı, kistik fibrozis)</p> <p>Kalp hastalığı (konjenital kalp hastalığı, konjestif kalp yetmezliği, koroner arter hastalığı)</p> <p>Kan hastalıkları (orak hücreli anemi)</p> <p>Endokrin bozukluklar (diabetes mellitus)</p> <p>Böbrek hastalıkları</p> <p>Karaciğer hastalıkları</p> <p>Metabolik hastalıklar (kalıtsal metabolik bozukluklar ve mitokondri hastalıkları)</p> <p>Hastalıklara (HİV, AIDS, kanser) veya ilaçlara (kronik glukokortikoid kullanımı) ikincil bağışıklık sistemi baskılanması</p> <p>19 yaşından küçük, uzun süreli aspirin tedavisi altındaki çocuklar</p> <p>Morbid obezite (Vücut kütle indeksi(VKİ)<math>\geq</math>40 kg/m<sup>2</sup>)</p>

### 2.2.1. Epidemik influenza

Epidemi, bölgesel hastalık salgınıdır. ABD'nin Teksas eyaletinde 1976 yılında bir influenza A suşu (A/Victoria/75/H3N2-benzeri virüs) ile ortaya çıkan epidemi örnek verilebilir. Epidemi ani başlangıçlı, 2-3 hafta içerisinde zirve yapmış ve 5-6 hafta sürmüştür. Öncelikle çocuklar arasında solunum yolu hastalığı şeklinde başlamış ve sonra erişkinlerde grip-benzeri hastalık taboları bildirilmiştir. Sonrasında pnömoni, kronik obstrüktif akciğer hastalığı alevlenmesi veya kalp yetmezliği nedeniyle hastane başvuruları ve yatışlarının arttığı görülmüştür (16). Bir epidemide toplumda aşılınmamış bireylerde beklenen atak hızı %10-20 iken risk gruplarında atak hızı %40-50 olduğu tahmin edilmektedir (17).

Epidemiler genellikle soğuk kış aylarında görülür. Kuzey yarı kürede Ekim-Nisan ayları arasında, Güney yarı kürede Mayıs- Eylül ayları arasında görülürken, tropikal bölgelerde tüm yıl boyu görülebilir. Mevsimsel değişikliklerin nedeni çok net olarak açıklığa kavuşmasa da, virüsün bulaşmasındaki değişikliklerden kaynaklandığı düşünülmektedir (18). Ortamın virüsün yaşamını sürdürmesi için uygun hale gelmesi ve kapalı, kalabalık ortamlarda virüsün kişiler arasında bulaşmasının epidemilere ortam hazırladığı öne sürülmektedir (19).

Genellikle epidemilerden bir influenza suşu sorumlu olmaktadır. Ancak bazen farklı iki A suşu, bir A ve bir influenza B suşu veya influenza ile solunum sinsityal virüsü (RSV) birlikte epidemilerde etken olabilmektedir. Bazen de epidemilerin sonunda yeni bir suş ile ikinci bir pik görülmekte ve bir sonraki yıl influenza mevsiminde baskın olacak suş olduğu düşünülmektedir ve “herald dalgası” olarak adlandırılmaktadır (20).

### 2.2.2. Pandemik İnfluenza

Pandemi yeni bir influenza virüs suşundan kaynaklanan, hızlı bir şekilde tüm dünyaya yayılan çok ciddi salgınlardır. Pandeminin özellikleri başladığı alandan hızla küresel bir yayılma göstermesi, tipik mevsimsel dağılımın dışında gelişmesi, tüm yaş gruplarında yüksek atak hızının olması, sağlıklı genç erişkinlerde artmış mortalite hızının

olması ve ana salgının öncesi ve sonrasında çok sayıda hastalık dalgalanması göstermesidir. Pandemilerin zamanlaması öngörülemez ancak gelecek nesilleri de etkileyeceği düşünülmektedir. Yeryüzünde tespit edilmiş influenza pandemileri Tablo 2.5’ de gösterilmiştir (1, 21). 1977 yılından bu güne kadar H1N1 ve H3N2 alttipleri ve influenza B virüsleri bir arada dolaşımda bulunmaktadır (22).

**Tablo 2.5.** Tarihteki pandemileri ile ilişkili influenza A suşları (1 No’lu kaynaktan uyarlanmıştır)

Yıl	Salgın
1510	Tarihçilerin kabul ettiği ilk influenza pandemisi
1889-1890	H2N8
1918-1919	İspanyol gribi (H1N1)
1957-1958	Asya gribi (H2N2)
1968-1969	Hong-Kong gribi (H3N2)
1977-1978	H1N1
2009-2010	Domuz gribi (H1N1)

### 2.2.3. Antijenik Varyasyonlar

İnfluenza virüslerinin eşsiz ve en önemli özelliği antijenik değişimler göstermesidir. Virüsün antijen yapısındaki değişiklikler varyant suşlarla enfeksiyona yol açar ve popülasyonda bu varyant virüs suşlarına karşı immün cevap yok denecek kadar az görülmektedir. Antijenik değişimler HA ve NA glikoproteinlerinde büyük veya küçük miktarda olabilir. Bu değişimler influenza enfeksiyonunun yıllardır bir sağlık sorunu olarak devam etmesinden sorumludur.

**Antijenik drift (kayma):** Virüsün HA/NA yapısında ortaya çıkan hafif antijen değişikliklerdir ve her yıl veya birkaç yılda bir görülmektedir. Virüse karşı oluşan antikorlar yeni ortaya çıkan antijenik varyantları vahşi suşlar kadar nötralize edemediği zaman immünolojik seleksiyon ortaya çıkmakta ve yeni varyant suş epidemilerde baskın

hale gelmektedir (23). Drift (kayma) mekanizması genelde antijenik bölgelerden birinde veya daha fazlasında amino asit değişikliklerinin birikmesi sonucunda oluşmaktadır. Bu mekanizma HA için gösterilmiştir ve NA için de böyle olduğu düşünülmektedir (24).

**Antijenik şift (sapma):** Anijenik şift daha farklı bir mekanizma ile gelişmektedir. Antijenik şift sonucu ortaya çıkan virüs varyantları toplumda immün sistemin hiç karşılaşmadığı yeni virüslerdir. Bu yeni virüsün HA veya NA serolojileri birbirinden çok farklıdır ve farklı tanımlanmaktadır. Toplumda immün sistemin hiç karşılaşmadığı yeni bir HxNx virüsü dolaşıma girdiğinde pandemik influenza meydana gelmektedir. Yeni virüsle karşılaşan toplumda immün sistemleri cevap veren kişilerin sayısı giderek artmaktadır. Zaman içerisinde bu suşta da driftler (kayma) ve şiftler (sapma) meydana gelerek yeni epidemik ve pandemik influenza suşları ortaya çıkmaktadır (1).

#### 2.2.4. İnfluenza Virüslerinin Rezervuarı

İnfluenza virüsleri kuşlar, deniz memelileri, domuzlar, atlar gibi hayvanlarda bulunmaktadır ve bu hayvanlarda enfeksiyona yol açmaktadır. Kuşlarda çok daha fazla influenza suşu tanımlanmıştır. Kuşlarda tanımlanan bu suşların hepsi insanlarda çoğalma kabiliyetine sahip değildir. Kuşlarda ve insanlarda bulunan influenza virüslerinin arasındaki etkileşim sırasında yeniden düzenlenme ile (reassortment) kuşlardaki virüs, insanda hastalık yapabilme kabiliyeti kazanmaktadır. Yeniden düzenlenme için bir ara-konakta, örneğin domuzlarda, insan ve kuş influenza virüslerinin bir arada bulunması ve etkileşmesi gerekmektedir (25). Kuş virüslerinin insan virüsü haline gelmesinin diğer bir mekanizması, kuş virüslerinin domuzlarda adaptasyon yeteneği kazanarak insanda enfeksiyon yapabilir hale gelmesidir. Bunun nedeni, domuzların solunum yolu epitelinde hem insan hem kuşların solunum yolu epitelinde bulunan  $\alpha 2 \rightarrow 3$  ve  $\alpha 2 \rightarrow 6$  sialik asit-galaktoz bağlarının varlığıdır (26). Bir diğer mekanizma da herhangi bir ara-konakta yeniden düzenlenme veya adaptasyon olmadan, kuşlara özgü virüsün doğrudan insana geçmesi şeklindedir (27).

## **2.3. Patogenez**

### **2.3.1. İnfluenza virüsünün bulaşması**

İnfluenza virüsü, infekte olmuş bireyin solunum yolu sekresyonlarından öksürme, hapşırma veya konuşma sırasında damlacık veya aerosoller yoluyla başka bireylere bulaşır. Bir infekte birey çok kısa zamanda çok fazla kişiye virüsü bulaştırabilir. Damlacık boyutları büyük olduğu için havada çok fazla asılı kalmaz ve uzağa gidemez, bu nedenle bulaşma için enfeksiyonlu bireyle yakın mesafede temas etmek önemlidir. Ancak daha küçük parçacık olan aerosoller havada daha uzun süre asılı kalabilmekte ve daha uzak mesafelere ulaşabilmektedir.

### **2.3.2. Hücresel patogenez**

Virüs solunum yolu epiteline ulaştığında kolumnar epitel hücrelere tutunmakta ve hücrelere penetre olmaktadır. Virüs hücre içine girdikten sonra viral çoğalma başlamaktadır. Konak hücrenin protein sentezi çeşitli aşamalarda durmakta ve yeni sentezlenen hücresel mRNA'lar yıkılmakta ve translasyonu durmaktadır. İnfluenza virüsünün asidik polimeraz (PA) proteini, hücredeki protein yıkımını hızlandırmaktadır (28). Kritik hücresel proteinlerin kaybı hücre ölümüne yol açmaktadır. Ayrıca, konak hücreleri, infekte olduktan sonra nükleer DNA'larının parçalanması ile apoptoza uğramaktadır. Virüsün apoptoza tetikleemesinin virüs replikasyonu sırasında ortaya çıkan çift sarmallı RNA ile indüklenen Fas antijeni ile bağlantılı olduğu düşünülmektedir (29). Ayrıca influenza A virüsünün PB1-F2 tarafından kodlanan bir proteininin apoptoza indüklediği bildirilmiştir (30).

Hücreler ölmeden önce çok sayıda virüs açığa çıkmaktadır. Hücre dışına salınan yeni virionlar hızla komşu hücreleri infekte eder ve bu şekilde birçok solunum yolu hücresinde virüs çoğalıp hücre ölümü gerçekleşir. Bulaştıktan sonra hastalığın gelişmesine kadar geçen inkübasyon süresi bulaşan virüs miktarına bağlı olarak 18-72 saat sürmektedir (31).

İnfluenza virüsü polimorfonükleer lökositler (PMNL), lenfositler ve monositleri (periferik mononükleer hücreleri) de infekte etmektedir. Bu hücrelerin infekte olması virüs çoğalması ile sonuçlanmaz ancak hücre fonksiyonları önemli ölçüde bozulmaktadır ve enfeksiyonun komplikasyonları ile ilişkilendirilmiştir: polimorfonükleer lökosit (PMNL) kemotaksisi ve fagositozunda bozulma ve mononükleer hücrelerin çoğalması ve ko-stimülasyonunda azalmaya yol açtığı gösterilmiştir (32). Bu bozukluklara, HA, NA ve nükleoprotein gibi viral proteinlerin aracılık ettiği bildirilmiştir (33).

### **2.3.3. Virüsün Yayılımı**

Solunum yolu örneklerinde bulunan virüs miktarı özel bir patern sergiler. Virüs, solunum yolu örneklerinde hastalık başlangıcından hemen önce yani 24 saat içerisinde tespit edilebilir, 24-48 saat içerisinde hızla zirveye ulaşır ve daha sonra hızla düşer. Hastalığın 5-10. gününden sonra tespit edilemez. Ancak küçük çocuklarda immün sistem cevapları daha zayıf olduğundan virüsün yayılma (*shedding*) miktarı ve süresi daha fazladır (34).

Hastalığın şiddetinin virüs miktarı ile orantılı olduğu deneysel oluşturulan influenza vakalarında gösterilmiştir. Klinik tabloda sistemik belirtiler yoğun olmasına rağmen virüs sadece solunum yolu epitelinde çoğalmaktadır. Sistemik belirtilerin daha çok infekte olmuş hücrelerden ve aktive lenfositlerden salınan tip 1 interferon, tümör nekrozis faktör ve interlökin-6 gibi güçlü sitokin cevabı nedeniyle geliştiği düşünülmektedir (34, 35).

### **2.3.4. Histopatoloji**

Komplike olmamış influenza vakalarında larinks, trakea ve bronşlarda inflamasyon ve ödem görülür (36). Histopatolojik olarak kolumnar epitelde vakuolizasyon, hücre kaybı ve silli kolumnar epitel yapısının bazal hücre tabakasına kadar döküldüğü görülmektedir (37). Epitel hücreleri içinde viral antijen tespit edilebilir. Epitel hasarına lenfosit ve histiyositler başta olacak şekilde hücre infiltrasyonu eşlik eder. Otopsi vakalarında, bronş mukozasında ülserasyon ve soyulma (*sloughing*), kanama odakları,

hiyalin membran oluşumu ve az sayıda PMN infiltrasyonunun olduğu nekrotik trakeobronşit görüldüğü bildirilmiştir (38).

### 2.3. Patofizyoloji

Altta yatan bir hastalığı olmayan kişilerde ortaya çıkan komplike olmamış influenza vakalarında bile solunum fonksiyon bozukluğu görülmektedir. Solunum fonksiyon bozuklukları zorlu akım hızlarında azalma, hava yolları direncinde, özellikle küçük hava yollarında (<2 cm) direnç artışı, bronkoprovokasyona yanıt artışı, karbonmonoksit difüzyon kapasitesinde bozukluk ve alveoler-arterial oksijen gradientinde artış şeklindedir (39). Klinik düzelmenin ardından solunum fonksiyon bozuklukları haftalarca sürebilmektedir. Astım veya kronik obstrüktif akciğer hastalığı (KOAH) olan hastalarda zorlu vital kapasite (FVC) ve 1.saniyedeki zorlu ekspiratuar hacim (FEV1) akut bir azalma göstermektedir. Bu bireyler hava kirliliği ile bronkokonstriksiyona da oldukça duyarlı hale gelmektedirler (40).

İnfeksiyonun nadir görülen ve kötü bir komplikasyonu primer viral pnömonidir. Virüs komşuluk yoluyla üst solunum yolundan veya inhalasyon yoluyla akciğerlere ulaşmaktadır. Trakeit, bronşit ve bronşiolit görülmektedir. Normal silli epitel hücrelerin kaybı, submukozal hiperemi, fokal kanama alanları, ödem, hücre infiltrasyonu, alveoler boşlukta nötrofil ve mononükleer hücre ve fibrin birikimi, alveoler ödem, alveol içine kanama, hyalin membran gelişimleri influenza virüs infeksiyonu olan olgularda görülmektedir.

Bakteri süperinfeksiyonu influenza infeksiyonunun en iyi bilinen komplikasyonudur. Virüsle infekte olmuş epitel hücrelerinin klerens mekanizması bozulmuş ve bakterilerin epitel hücrelerine tutunması kolaylaşmıştır. Ayrıca influenza infeksiyonu bakterilerin tutunmasını sağlayan hücre yüzey reseptörlerini artırmaktadır. Tüm bu değişiklikler ile yukarıda tanımlanan hücresel fonksiyon bozuklukları da bakteri infeksiyonlarının artmasına yol açmaktadır.



## 2.4. Klinik bulgular

İnfluenza infeksiyonunun şiddeti ve klinik bulguları influenza suşlarına ve hastaların kişisel farklılıklarına göre değişiklik göstermektedir. Komplike olmayan influenza infeksiyonunda ani başlayan ateş, baş ağrısı, yaygın kas ağrısı, ses kısıklığı, boğaz ağrısı ve kırgınlık görülmektedir (41-43). İnkübasyon süresi ortalama 2 (1-4) gündür (44). Bu belirtilerin yanında kuru öksürük, boğaz ağrısı, burun akıntısı gibi solunum yolu semptomları da görülebilmektedir. Ateşsiz soğuk algınlığı tablosundan sistemik tutulumun ön planda olup solunum sistem belirti ve bulgularının olmadığı bir tabloya kadar değişkenlik gösterebilmektedir. Özellikle yaşlı hastalarda solunum sistemi belirtileri olmadan iştahsızlık, yorgunluk, güçsüzlük ve dengesizlik (*dizziness*) gibi daha sili klinik görülebilmektedir (15, 45).

### 2.5.1. Komplikasyonsuz İnfluenza

Ateş sıklıkla 37.8 - 40°C arasındadır ancak daha yüksek seviyelere de çıkabilmektedir. Tipik olarak yüksek ateş 3 gün içerisinde düzelmektedir ancak bazı olgularda 4-8 güne kadar uzayabilmektedir. Çocuklarda daha yüksek ateş ve daha sık gastrointestinal belirtiler görülebilmektedir (1, 15, 45). Hastalığın klinik tablosu ve şiddeti farklı influenza virüs tiplerine göre de farklılık gösterebilmektedir. Örneğin, influenza A H3N2 suşu ile infeksiyon sırasında parotitis vakaları bildirilmişken İnfluenza A H1N1 veya İnfluenza B ile infeksiyonlarda parotitise rastlanmamıştır (46, 47).

Fizik muayenede ateş, yüzde ve gözlerde kızarıklık, gözlerde sulanma, berrak burun akıntısı, burun ve boğazda kızarıklık, hafif büyümüş, hassas servikal lenfadenopati saptanabilmektedir. Pnömoni eşlik etmiyorsa akciğer muayenesi normal olabileceği gibi hastaların %20 kadarında yer yer ronküs veya lokalize raller duyulabilmektedir (1).

Laboratuvar bulguları influenza tanısında çok yardımcı değildir. Başlangıçta lökosit sayısı normal veya düşüktür. Lökosit sayısının >15 000 / $\mu$ l olması bakteriyel süperenfeksiyon varlığını desteklemektedir.

Komplike olmayan influeza 2-5 gün içerisinde düzelmektedir. Bazı vakalarda uzamış yorgunluk hali görülebilir, postinfluenza astenisi, haftalarca sürebilmektedir (1).

### 2.5.2. İnfluenza komplikasyonları

İnfluenza infeksiyonunun en sık komplikasyonu pnömonidir, kas ve santral sinir sistemi gibi diğer komplikasyonlar da görülmektedir.

**Pnömoni:** İnfluenzanın en önemli komplikasyonudur ve özellikle yüksek risk grubundaki kişilerde ortaya çıkmaktadır (Tablo 2-4) (48). Primer viral pnömoni, sekonder bakteriyel pnömoni veya ikisi bir arada görülebilmektedir.

**Primer influenza pnömonisi:** Primer influenza pnömonisi virüs infeksiyonunun doğrudan akciğeri etkilemesiyle oluşur. Akut influenza tablosunda hasta düzelmez, semptom ve bulgular devamlılık arzeder veya artarsa primer influenza pnömonisi akla gelmelidir. Yüksek ateş, nefes darlığı ve siyanoz ortaya çıkabilmektedir (36).

Primer viral pnömoni, influenzanın daha az görülen ancak en ciddi komplikasyonudur. Daha çok sol atrial basınç artışı olan, kronik akciğer hastalıkları olan ve bazen de sağlıklı genç bireylerde geliştiği bildirilmiştir (49).

Tipik radyolojik bulgusu bilateral retiküler/retikülonodüler opasiteler ile birlikte konsolidasyon görülmesidir. Nadiren özellikle alt loblarda fokal konsolidasyon alanları görülebilmektedir. Yüksek çözünürlüklü bilgisayarlı tomografi ile multifokal peribronkovasküler veya subplevral konsolidasyon ve/veya buzlu cam dansiteleri görülebilmektedir (50).

**Sekonder bakteriyel pnömoni:** Sekonder bakteriyel pnömoni influenza infeksiyonunun sık görülen önemli bir komplikasyonudur. Özellikle 65 yaş ve üzeri bireylerde önemli mortalite ve morbidite nedeni olarak bildirilmektedir (51).

Sekonder bakteriyel pnömoninin en önemli klinik bulgusu, akut influenza belirtileri düzeldikten bir süre sonra ortaya çıkan yüksek ateş ve solunum yolu semptomlarıdır. İnfluenza infeksiyonu sonrasında 4-14 gün süren bir iyilik halinin ardından öksürük, pürülan balgam gibi semptomların eşlik edebildiği yüksek ateş sekonder bakteriyel pnömoniyi akla getirmelidir. Beraberinde radyolojik olarak akciğerde infiltrasyon alanları görülmektedir.

İnfluenza virüsü trakobronşial epiteli etkilemekte ve doğrudan hücrelerde azalma ve silia kaybına yol açmaktadır (1). İnfluenza virüsü ile *Streptococcus pneumoniae* arasında sinerjiyi gösteren bir deneysel çalışmada, nöraminidaz aktivite seviyesi, *S.pneumoniae* tutunması ve invazyonu ile bağlantılı bulunmuştur (52). Başka bir çalışmada da, virüs nöraminidaz yapısının konak hücrede glikokonjugatlarından sialik asidi ayırdığı ve serbest kalan şekerin nazofarenkste pnömokok kolonilerinin çoğalmasına yol açtığı gösterilmiştir. Bu olayların akciğerde bakteri infeksiyonuna yatkınlık yarattığı ve sekonder bakteriyel pnömoniye yol açtığı düşünülmektedir (53). İnfluenza sonrası bakteriyel pnömoniye zemin hazırlayan immün mekanizmalar ilgili bölümde daha detaylı tartışılacaktır.

Sekonder bakteriyel pnömoni olgularında en sık izole edilen patojen mikroorganizmaların *S.pneumoniae* (%48) ve *Staphylococcus aureus* (%19) olduğu bildirilmiştir (54). Bu mikroorganizmalardan başka *Haemophilus influenzae*, *Streptococcus pyogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Moraxella catarrhalis* ve *Escherichia coli* kaynaklı pnömoniler de bildirilmiştir (54). İnfluenza infeksiyonu sonrasında *S.aureus* nedeni gelişen pnömonilerde metisiline dirençli *S.aureus* infeksiyonlarının da arttığına dikkat çekilmektedir (55).

**Mikst viral ve bakteriyel pnömoni:** Hem viral hem de bakteriyel pnömoni özelliklerine sahip hastalarda görülebilir. Bu hastaların bir kısmında hastalığın giderek ilerlemesi veya geçici bir iyileşmeyi takibeden bir kötüleşme görülür. İnfluenza virüsü ve bakteriyel patojenler balgamda görülür. Akciğer grafisinde pulmoner infiltrasyonlar bulunur.

**Miyozit ve rabdomiyoliz:** İnfluenza infeksiyonunun diğer önemli komplikasyonları miyozit ve rabdomiyolizdir. Genellikle çocuklarda görülmektedir (56). Miyalji, influenza vakalarında önemli bir bulgudur ancak gerçek miyozit nadiren görülmektedir. Miyozit patogenezi tam olarak anlaşılmamıştır ancak etkilenmiş kaslarda influenza virüsü varlığına ait kanıtlar mevcuttur (57). Akut miyozitin en önemli göstergesi etkilenen kaslarda özellikle bacaklarda artmış hassasiyet olmasıdır. En ağır vakalarda,

kaslarda şişlik ve batak görülür. Artmış serum kreatin fosfokinaz düzeyleri belirgin olarak yüksektir ve miyoglobüri ile buna bağlı akut renal yetmezlik bildirilmiştir (58, 59).

**Kalp komplikasyonları:** Ciddi kardiyak komplikasyonlar influenza infeksiyonu olan vakalarda görülebilmektedir.

Elektrokardiyografik (EKG) değişiklikleri: İnfluenza hastalarında görülen EKG değişiklikleri doğrudan influenza virüsünün kalp üzerindeki etkilerine değil altta yatan kalp hastalığına bağlıdır. Geçici EKG değişiklikleri altta yatan kalp hastalığı olmayan bireylerde de görülebilir (60).

Akut miyokard enfarktüsü: Birçok çalışmada influenza infeksiyonu ile akut miyokard enfarktüsü arasında bir ilişki gösterilmiştir (61, 62).

Miyokardit ve perikardit: İnfluenzanın nadir komplikasyonlarıdır. Miyokardda infeksiyon etkeni saptanmamıştır (63).

**Santral sinir sistemi tutulumu:** İnfluenza infeksiyonu sırasında ensefalopati, ensefalit, transverse myelit, aspetik menenjit ve Guillain Barre sendromu bildirilmiştir (64, 65).

**Toksik şok sendromu:** *S.aureus* ve akut influenza infeksiyonu sırasında toksik şok sendromu tanımlanmıştır. Daha çok influenza B ilişkili olduğu bildirilmiştir (66).

## 2.5. İnfluenza Virüs İnfeksiyonuna Karşı İmmün Sistem Cevabı:

İnfluenza konakta akut infeksiyona yol açmakta ve immun sistemin tüm kısımlarını aktive eden immun reaksiyonlar kaskadını başlatmaktadır. İnfluenza virüs infeksiyonu sırasında immün sistemin cevabı konusunda yapılan çalışmalar çoğunlukla influenza A virüsü (İAV) ile yapılmıştır.

Doğal (*innate*) immün cevap, virüsün kontrolü (replikasyonun ve antijen yükünün sınırlanması) ve adaptif immün sistemin aktivasyonu ve düzenlenmesinde kritik role sahiptir (8). İnfeksiyon sırasında ani başlayan klinik belirti ve bulguların doğal immün cevap sırasında ortaya çıkan sitokinler (interferon,  $IFN\alpha/\beta$ ), nötrofillerin veya doğal öldürücü hücrelerin (NK) aktivasyonu nedeniyle olduğu düşünülmektedir. Doğal immün sistemin aşırı aktivasyonu komplikasyon gelişme riski yüksek ko-morbiditeli hastalarda influenza-ilişkili erişkin respiratuar distres sendromu gelişmesine yol açabilmektedir (8). Doğal immün cevap, adaptif immün cevabın oluşması için gereklidir. Doğal immün cevap hızlı yanıtta sorumlu iken, adaptif immün cevabın oluşması için birkaç gün gerekmektedir.

Doğal immün hücreler üzerinde bulunan eş-uyaran (ko-stimulatör) moleküller aracılığıyla adaptif immün cevap başlatılmakta ve sonuçta antijene spesifik lenfositler aktive edilmektedir. Adaptif immün cevap aktivasyondan sonra viral yayılımı sınırlar, virüsü temizler ve uzun dönemde aynı virüsle yeniden infeksiyona direnç sağlayacak uzun-ömürlü bir hafıza cevabı oluşturur.

İnfluenza alt tipleri arasında çapraz-koruma çok nadiren saptanmıştır. Alt tipler arasında veya tip A ve B arasında çapraz koruma görülmez. İnfluenza infeksiyonu hem sistemik hem lokal antikor cevabı (humoral immünite) ve sitotoksik T hücre cevabını (hücrel immünite) aktive etmektedir. Bu özelliklerin, akut infeksiyonun iyileşmesi ve yeniden infeksiyona karşı direnç için önemli olduğu bildirilmiştir.

## 2.6.1. İnfluenza Virüs İnfeksiyonuna Karşı Doğal İmmunité

### İnfluenza virüslerinin hedefi ve konak hücresine girişi

İnfluenza A virüsleri, ilk doğal koruma bariyeri olan mukus tabakasından geçtikten sonra solunum yolu epitel hücrelerini hedeflemektedir. Mevsimsel influenza virüsleri sıklıkla üst solunum yolundaki hücrelerde çoğalmaktadır ancak özellikle pandemi yapan suşlarda olmak üzere alt hava yolu hücrelerini de etkileyebilmektedir (2). Farklı influenza suşları farklı epitel hücrelerine farklı afiniteler gösterebilmektedir, bu nedenle hastalık şiddetleri farklılık gösterebilmektedir (67). Virüsün solunum yolu epiteli ve alveoler epitel hasarına yol açması gaz alış verişinde bozulmaya ve sonuçta akut respiratuar distres sendromu (ARDS) ve hatta ölüme yol açabilmektedir (67).

İnfluenza virüsünün, solunum yolu epitel hücresindeki başlıca tutunma alanı hücre yüzeyinde bulunan sialik asit (SA, N-asetilnöraminik asit) reseptörleridir. İnsan üst solunum yolu epitelinde SA  $\alpha$ -2,6 galaktoz reseptörü bulunurken, insanda alt solunum yolu epitelinde, kuşlar ve domuzların solunum yolu epitelinde SA  $\alpha$ -2,3 galaktoz reseptörleri bulunmaktadır. İnsanda hastalık yapan influenza suşları daha çok SA  $\alpha$ -2,6 galaktoz reseptörüne bağlanmayı tercih etmektedir (68, 69). Virüsün HA yapısının globuler baş kısmında bulunan reseptör bağlayıcı bölge, solunum yolu epitelindeki SA ile birleştiğinde klatherin ve klavolin-bağlı mekanizmalar aracılığıyla endositoz gerçekleşmektedir (70, 71). Endozomun düşük pH düzeyi, virüsün M2 protein kanalının açılmasını sağlayarak virüs içine proton girişine ve viral ribonükleoproteinlerin (RNP) salınmasına ortam hazırlamaktadır (72). Serbest viral RNA, hücresel importin  $\alpha/\beta$  ile etkileşerek replikasyon için nukleus içerisine göç etmektedir (67, 73).

### İnfluenza virüsünün hücre içine girmesinden sonra doğal immün sinyal mekanizmasının aktivasyonu

İnfluenza infeksiyonu sırasında, patojen ilişkili moleküler paternler (PAMP) konaktaki patern tanıma reseptörleri tarafından tanınır. PAMP'ler çift iplikli RNA (dsRNA) bölgeleri veya 5'trifosfat grubu gibi viral ürünlerdir. Virüsü tanıyan patern

tanıma reseptörleri (PRR); retinoik asit-indüklenen gen-1 proteini (RIG-1) ve Toll-benzeri reseptörler (TLR), C-tip lektin reseptörleri (CLR), Nod-benzeri reseptörlerdir (NLR) (8, 67). Bu reseptörlerin sinyal aktivasyonu çeşitli sitokinlerin ve antiviral moleküllerin üretimini indüklemektedir.

**RIG-1** sitozolik reseptör grubudur. Hücre içinde virüs çoğalması sırasında ortaya çıkan RNA içeren 5'trifosfat motiflerini tanıyarak aktive olmaktadır. *N-terminal caspase recruitment domain* (CARD) yapısal değişikliğe uğrayarak E3 ligaz *tripartite motif containing 25* aracılığıyla (TRIM25) defosforile olmakta veya ubiquitinlenmektedir. RIG-1 CARD, mitokondri yüzeyinde bulunan *mitochondrial antiviral signaling* (MAVS) CARD ile bağlanarak, transdüksiyon sinyalini başlatmaktadır (74). Sırasıyla transkripsiyon faktörü interferon regülatör faktör 3 (IRF3) ve interferon regülatör faktör 7 (IRF7), *aktive B hücreleri nükleer kappa-light-chain-enhancer* (NF-KB) aktive olmakta ve sırasıyla Tip I IFN, proinflamatuvar sitokinler ve kemokinlerin üretimi indüklenmektedir (75). Normal şartlarda bu reseptörler hücre içerisinde az sayıda bulunurken, influenza infeksiyonları sırasında solunum yolu epitel hücreleri, makrofajlar, dendritik hücreler ve mast hücrelerinde miktarı ve aktivasyonu artmaktadır (76-79) (Şekil 2.2).

**Toll- benzeri reseptörler** 3, 7, 8 ve 9, endozom ve lizozomların yüzeyinde bulunmaktadır ve influenza A virüsü dahil çeşitli virüslerden köken alan PAMP'leri tanırlar. TLR 3, TLR7 ve TLR8'ün virüs çoğalması sırasında sitoplazmik endozomların içindeki İAV komponentlerine karşı duyarlı olduğu bildirilmiştir.

**TLR3** normalde endozomların içerisindeki dsRNA'ları tanıyabilirken, influenza virüsü ile infekte olmuş ve fagosite edilmiş hücrelerin içerisinde bulunan yabancı RNA'ları da tanıyabildiği gösterilmiştir (80, 81). Makrofaj ve dendritik hücrelerde, TLR3, TIR-domain-içeren adaptor-inducing interferon- $\beta$  ile etkileşmektedir. Bu tip etkileşimler serin-treonin kinaz kappa epsilon (IKKE) ve TBK1'in aktivasyonu ile sonuçlanmakta ve bunlar IFN- $\beta$  ekspresyonunu düzenleyecek şekilde IRF3'ü fosforile etmektedir (82).

**TLR7**, plazmasitoid dendritik hücrelerde (pDC), yüksek miktarda bulunmaktadır ve endozomların içindeki influenza virionlarının ssRNA'larını tanıyabilmektedir (83). TLR7 sinyal yolağı, adaptör protein myeloid diferansiasyon faktörü 88 (Myd88) yoluyla pDH içerisinde aktive olmakta, NF-KB veya IRF7 aktivasyonu ile sonuçlanmakta, sırasıyla, proinflamatuvar sitokinler ve tip 1 IFN ekspresyonunu indüklemektedir (76, 83). TLR7'nin, influenzaya karşı doğal immün cevap sırasında, bulunduğu hücreye özgü role sahip olduğu düşünülmektedir (8). Bazı çalışmalar pDH'lerde TLR7 aracılığıyla gelişen Tip I IFN'un influenza infeksiyonuna karşı koruyucu cevabı oluşturan önemli bir molekül olduğunu göstermektedir (76, 84).

**TLR8**, insan monosit ve makrofajlarında, ligandı olan ssRNA ile stimüle olmakta ve IL-12 üretimine yol açmaktadır. Ancak, TLR8 ve İAV infeksiyonu arasındaki ilişki henüz net tanımlanmamıştır (85).

**TLR4** reseptörlerinin, influenza virüsünü değil, influenza virüsü ile enfekte hücrelerden salınan S100A9 molekülünü tanıyabildiği, TLR4-Myd88 sinyal yolağının aktivasyonu ile proinflamatuvar cevap, hücre ölümü ve virüs patogenezi artırdığı bildirilmiştir (86, 87).

#### **NOD-benzeri reseptörler;**

*NOD-like receptor family pyrin domain containing 3* (NLRP3, kriyoprin olarak da bilinir) ve NLR apoptoz inhibitör protein 5, NLRX1, NLRC2, influenza virüsüne yanıt oluşturan NLR'ler olarak bildirilmiştir (88).

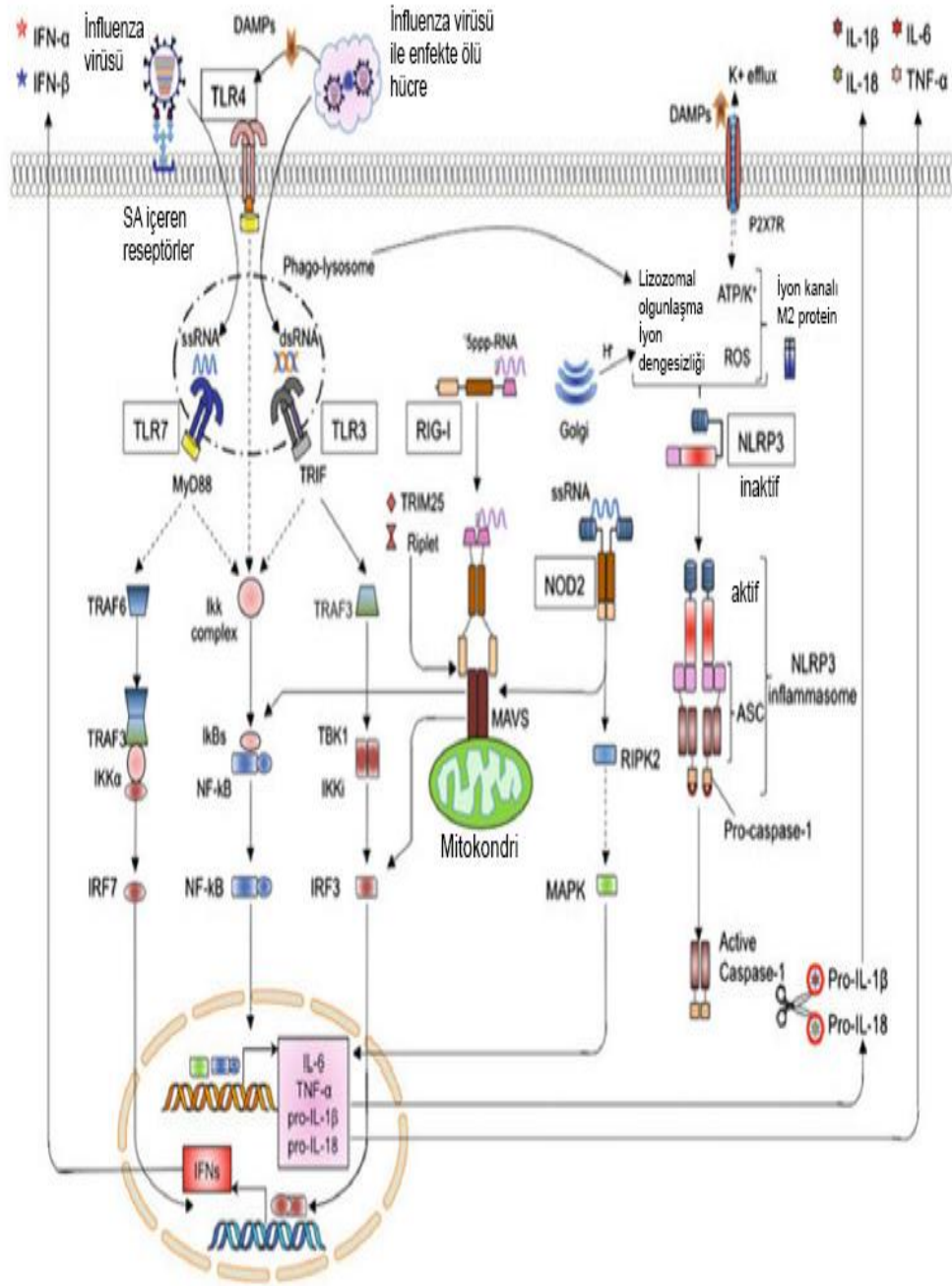
**NLRP3**, DH, makrofajlar, nötrofiller, monositler ve insan pulmoner epitel hücrelerinde bulunmaktadır (89, 90). NLRP3 inflamazomu influenza virüsü varlığında, olgun IL-1 $\beta$ / IL-18 üretimini indüklerken, NLRC2/NOD2 ve NLRX1 sinyalleri Tip 1 IFN üretimini indüklemektedir. NLRP3 aracılı IL-1 $\beta$ / IL-18 üretimi iki basamakta gerçekleşmektedir: Sinyal 1, viral RNA TLR7 tarafından tanınması ve NF-KB aktivasyonu ile başlamaktadır. Sinyal 2 için birçok mekanizma katkı sağlamakta ve hepsi yeni sentezlenen viral M2 proteini üzerinden etki etmektedir (91, 92). İnflamazom aktivasyonunun ardından pro- IL-1 $\beta$  ve pro- IL-18 klevaj ile olgun hale gelmektedir,



bunun ötesinde piroptozis olarak bilinen proinflamatuvar hücre ölümü de başlatılmaktadır (93).

**NOD2 (NLRC2)** reseptörleri, DH ve makrofajlarda, virüsün ssRNA parçalarını tanıyabilmektedir, adaptör protein MAVS aracılığıyla IRF3 aracılı Tip I IFN üretimini aktive etmektedir (94).

**NLRX1**, virüsün PB1-F2 proteinini tanımakta, makrofaj ömrünü ve Tip I IFN sinyalini artırmaktadır (95). Ayrıca NOD2 ve NLRX1 sinyallerinin, NLRP3 ve RIG-1 aracılı inflamatuvar cevabının negatif düzenleyicisi olduğu ve bu şekilde immün patolojiyi kontrol ettiği gösterilmiştir (96, 97).



**Şekil 2.2.** İnfluenza virüsünün hücre içine girişinden sonraki doğal immün sistem sinyal mekanizmaları (8 No'lu kaynaktan uyarlanmıştır).

## **İnfluenza virüs infeksiyonuna karşı doğal immünitete yer alan antiviral moleküller**

İnfluenza infeksiyonu sırasında patern tanıma reseptörleri aracılığıyla aktive olan transkripsiyon faktörleri, NF-KB, IRF3 ve IRF7, nukleusa göç etmektedirler. Nukleusta bu faktörler IFN ve proinflamatuvar sitokinleri (TNF, IL6, IL1 $\beta$ ) kodlayan genlerin transkripsiyonunu başlatmaktadırlar. Tip I IFN'lar (IFN- $\alpha$  ve IFN- $\beta$ ) ve tip III IFN'lar, (IFN $\lambda$  olarak da bilinmektedir; IFN- $\lambda$ 1, IFN-  $\lambda$ 2, IFN  $\lambda$ 3, IFN-  $\lambda$ 4) hem virüs ile infekte olmuş hem de henüz infekte olmamış hücrelerdeki antiviral cevapta önemli bir rol oynamaktadır (98). İnfluenza infeksiyonu ile tip I ve tip III IFN genleri aşırı eksprese olmaktadır (99). Bu ekspresyonu takiben, IFN- $\alpha$  ve IFN- $\beta$ , IFN $\alpha/\beta$  reseptörleri (IFNAR) ile etkileşmektedir. IFN- $\lambda$ , otokrin ve parakrin yolla IFN ligand reseptörleri (IFNLR) ile etkileşerek *Janus-kinaz (JAK) sinyal transducer and activator of transcription (STAT)* sinyal yolağını aktive etmektedir (Şekil 2.3). Fosforile olan STAT1 ve STAT2, IRF9 ile bağlanarak *interferon-stimulated gene factor 3 (ISGF3)* kompleksini oluşturmaktadır. ISGF3, nukleus içine transloke olarak *IFN-stimule response element (ISRE)* ile bağlanır, bu bağlanma ile çeşitli *IFN-stimulated genlerin (ISG)* transkripsiyonu tetiklenmektedir (100). Farklı çalışmalarda IFN $\alpha$ ,  $\beta$  ve  $\lambda$ 'nın influenza infeksiyonuna karşı önemli koruyucu etkileri olduğu kanıtlanmıştır (78, 101, 102).

*Myxovirus resistance gene* yani Mx ailesi, interferon-induced transmembrane protein ailesi (IFITM), kolesterol 25-hidroksilaz (CH25H) ve TRIM proteinleri gibi ISG'ler, influenza A virüsünün yaşam döngüsünün farklı basamaklarını hedeflediği gösterilmiştir.

**Mx** proteinleri ilk tanımlanan ISG ailesidir. Özellikle MxA virüsün nükleoproteinleri ile etkileşerek virüsün nükleus içerisine girişini, transkripsiyonunu ve replikasyonunu engelleyebilmektedir (103, 104).

**IFITM** proteinleri yeni tanımlanmış ISG ailesidir ve hücrenin membran özelliklerini (hücre adhezyonu, fluidite ve spontan kurvatürler gibi) değiştirerek virüsün girişini ilk basmakta önleyebilmektedirler (105). IFITM proteinlerinin, özellikle IFITM3,

virüs-konak hücre füzyonunu ve takiben viral tutunma ve endositozu bozarak IAV replikasyonunu sınırladığı gösterilmiştir (106, 107).

**CH25H**, diğer bir antiviral ISG, hücre membranlarının integral bir proteindir ve IFN sinyali ile artmaktadır. CH25H enzimatik aktivitesi, kolesterolü, çözünür 25-hidroksikolesterole (25HC) dönüştürerek zarflı virüslere karşı antiviral savunmada yer almakta, ayrıca viral füzyonu da bloke etmektedir (108).

**TRIM** proteinleri antiviral immünyete rol oynayan bir diğer ISG ailesidir. Bir E3 ubiquitin ligaz olan TRIM25, RIG-1'in mitokondri içine yeniden yerleşmesi ve MAVS sinyal transdüksiyonunu düzenleyerek antiviral immünyete katkı sağlamaktadır (109). TRIM22, IAV genomunun kapsül içinden çıkmasını bloke etmekte ve IAV nükleoproteinini *poli-ubikitinleyerek* parçalamaktadır. TRIM32, influzanın PB1 RNA polimerazı ile bağlanarak polimeraz aktivitesini azaltmakta ve böylece viral replikasyonu sınırlamaktadır (110).

Viral mRNA ekspresyonunu ve protein translasyonunu düzenleyen **diğer ISG'ler** çinko parmak antiviral protein (zinc finger antiviral protein, ZAP), oligoadenilat sentaz ve ribonükleaz L (OAS-TNase L), protein kinaz R (PKR) ve ISG5, virüsün mRNA seviyeleri ve protein sentezinin düzenlenmesinde rol oynamaktadır. **ZAP**'lerin, influenza virüsünün PB2 ve PA proteinlerinin ekspresyonunu inhibe ettiği, viral mRNA ekspresyonunu azalttığı ve translasyonunu bloke ettiği gösterilmiştir (111).

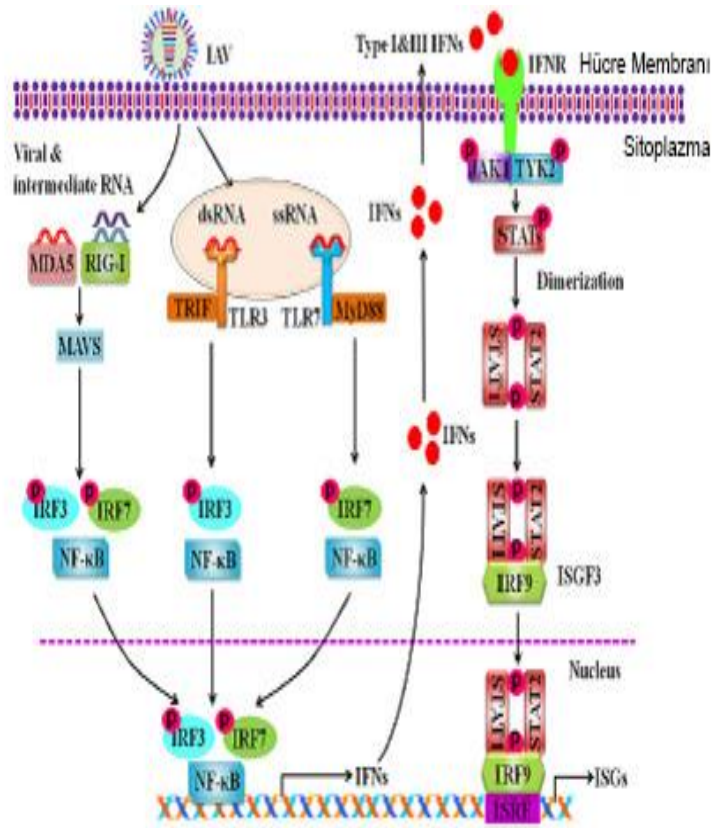
**OAS-RNase L**, konak hücrenin sitozolündeki viral RNA'ya hasar verir ve sonuçta protein sentez süresini ve viral replikasyonu durdurmaktadır (112).

**Protein kinaz R** (PKR) tüm hücre tipleri tarafından eksprese edilir ve tip I ve Tip III IFN ile ekspresyonu artmaktadır. PKR bilinen bir anti-İAV faktördür ve viral dsRNA'ya bağlanarak viral protein sentezini baskılamaktadır (113).

**ISG15** ubiquitin-benzeri bir proteindir ve viral replikasyonu, virüs salınımı ve viral proteinlerin translasyonunu önleyerek sınırlamaktadır (114).

**Viperin** aşırı ekspresyonu, influenza virüs salınımını, virüsün özel tomurcuklanma (*budding*) bölgeleri için spesifik olan lipid *raftların* üretimi ile etkileyerek sınırladığı bildirilmiştir (115).

**Tetherin**, potansiyel antiviral faktör, genç virüslerin hücreden dışarı atılmasını sınırlamakta, yeni oluşan virüs partiküllerini bağlayarak ve parçalayarak virüs çoğalmasını engellemektedir (116).



**Şekil 2.3.** İnfluenza virüsü hücre içine girişinden sonraki doğal immün sistem sinyal mekanizmalarında yer alan antiviral moleküller (67 No'lu kaynaktan uyarlanmıştır).

## **İnfluenza Virüs İnfeksiyonuna Karşı Doğal İmmünitede Yer Alan Hücreler**

### **Havayolu epitel hücreleri**

İnfluenza virüsünün ilk hedefi havayolu epitel hücreleridir. Ölümcül influenza infeksiyon vakalarının incelendiği araştırmalarda alveol epitelileri (Tip I ve tip II pnömositler), trakea, bronş, burun, farenks ve larenks epitel hücreleri ve submukozal bezlerin virüs ile infekte olduğu görülmüştür. Bu hücreler antiviral ve kemotaktik moleküller üreterek, doğal öldürücü (NK, *natural killer*) hücreler, monosit ve nötrofiller gibi doğal efektör hücrelerin hızla infeksiyon bölgesine toplanmasını sağlayarak (*recruitment*) immün cevabı başlatmaktadır. Tüm hücre tiplerinin, viral replikasyonu sınırlamak için, infekte hücreler ile etkileşme mekanizmaları kendilerine özgüdür. Virüs replikasyonunu sınırlamanın yanında antijen-spesifik immünite ve hafıza için adaptif immün cevabı başlatmaktadır. Tümör necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) ve IL-1 endotel adhezyon moleküllerini indükler, bu moleküller makrofajlar, kan kökenli dendritik hücreler (DH), doğal öldürücü hücrelerin (NK) infeksiyon alanına göçünü tetikler (1, 8).

**Solunum yolu epitel hücreleri** influenza virüsü ile infekte olduğu zaman bu hücrelerden çok sayıda infeksiyöz virüs ortama salınmaktadır. İnsanda İAV virüsüne karşı cevap olarak tip II alveoler hücreler Tip III IFN oluşturmaktadır. Diferansiye olmuş/polarize olmuş bronşial epitel hücreler ise Tip I IFN ekspresyonunu artırmaktadır (99, 117). Solunum yolu epitel hücrelerinde Tip I IFN cevabının artması influenza infeksiyonunun sınırlanması için önemli ve kritik bir basamak olarak kabul edilmektedir. Avian H5N1 influenza virüsünün tip I IFN üretimi bozması nedeniyle daha ağır infeksiyon tablosuna yol açtığı gösterilmiştir (118, 119). İlk aşamada görülen IFN- aracılı antiviral cevabın yanında epitel hücrelerinden çeşitli sitokinler ve kemokinler de salgılanmaktadır: IL-6, TNF- $\alpha$ , IL-8/CXCL8, CXCL10, CCL2, CCL5 (120, 121). Ayrıca influenza virüsü ile infekte olan epitel hücreleri koruyucu immün cevapta rol oynayacak bir seri doğal immün sistem hücrelerinin infeksiyon alanına toplanmasını sağlamaktadır. İnfluenza virüsü ile infekte olan alveol epitelinden granülosit-monosit koloni stimüle edici faktör (GM-CSF) sunulmasının, CD103+ DH ile aktive olan CD8+ T hücreleri tarafından virüsün etkin olarak temizlenmesi için şart olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur (122).

**Makrofajlar** hem dokuda yerleşimli alveoler makrofajlar hem de dolaşımdan enfeksiyon bölgesine ulaşan monositlerden köken alan makrofajlar olarak bulunmaktadır. Enfekte epitel makrofajları tarafından üretilen monosit kemoatraktan protein-1 (MCP-1 veya CCL-2) alveoler makrofajları ve monositleri CCR2 reseptörleri yoluyla enfeksiyon alanına toplamaktadır (123). Dolaşımdan gelen makrofajlar, alveoler makrofajlardan fazla sayıda ve aktif makrofaj şeklindedir (Şekil 2.4). Fagositoz kapasitelerinden dolayı virüs ile enfekte olmuş hücrelerin ve apoptotik hücrelerin temizlenmesinde kritik öneme sahip oldukları bildirilmiştir (124, 125). Fare ve domuzlarda yapılan çalışmalarda, makrofajların yokluğunda, virüs replikasyonu artmakta ve hastalık daha ağır şiddette ve mortalite ile sonuçlanmaktadır (126, 127). Monositlerden köken alan makrofajların alveoler makrofajlardan daha güçlü bir şekilde influenza virüs çoğalmasını baskıladığı ve proinflamatuvar sitokin cevabını indüklediği gösterilmiştir. Bunun yanında alveoler makrofajlardan önemli miktarda tip I IFN salgıdığı düşünülmektedir. Bu nedenlerden, influenza virüs enfeksiyonuna karşı makrofajlar erken doğal immünite yanıtında önemli bir role sahiptir.

**Monositler** insanda 3 farklı monosit alt grubu şeklinde bulunmaktadır: klasik monositler ( $CD14^{++}CD16^{-}$ ), intermediate monositler ( $CD14^{++}CD16^{+}$ ) ve *patrolling* monositler ( $CD14^{lo}CD16^{++}$ ). İnfluenza ile enfekte olmuş kişilerin nasal mukozasında ve periferik kanında çok sayıda monosit bulunmaktadır. İnfluenza virüs enfeksiyonunun ardından monositlerden CCL2 ve CXCL10 sunumu artmaktadır, ancak bunun yanında CCL2, CCL3, CCL4 ve CCL5'e karşı kemokin reseptörlerinin üretimi azaltılarak bu kemokine karşı yanıt inhibe olmakta ve bu hücrelerin enfeksiyon alanında kalması sağlanmaktadır (125). İnfluenza enfeksiyon alanında toplanan monositler makrofajlara dönüştükleri gibi monosit-kökenli dendritik hücrelere de (moDH) farklılaşabilmektedir (122, 128, 129). *İn vitro* çalışmalarda, insan monositlerinin influenza virüsleri ile prodüktif şekilde enfekte olması TNF- $\alpha$  ve GM-CSF sekresyonunu artırdığı ve hücrelerin hızlıca DH fenotipik özellikleri olan hücrelere dönüşmesini sağladığı gösterilmiştir (128). Ancak bu konuda diğer çalışmalarda çelişkili sonuçlar gösterilmiştir ve monositlerin influenza enfeksiyonundaki rolü net bir şekilde açıklanamamıştır.

**Nötrofiller** infeksiyon alanına en hızlı ulaşan hücrelerdir. Dokuda yerleşik olan makrofajlarla birlikte hücresel savunmanın ilk aşamasında yer almaktadırlar. İnsan ve fare çalışmaları göstermiştir ki, nötrofiller influenza virüslerini fagosite etmektedir (130). Yine fare modellerinde influenza virüsünün çoğalmasını ve yayılmasını kontrol ettiği gösterilmiştir (131). Ayrıca nötrofiller influenza virüsle infekte olmuş apoptotik hücreleri fagosite ederek de virüsün temizlenmesinde rol oynamaktadır (124). Fare modellerinde nötrofillerin antiviral etkilerinin önemi gösterilmiş olsa da, influenza ile infekte olmuş insanlarda infeksiyon alanında toplanmış fazla sayıdaki nötrofilin fenotipleri ve antiviral immünitadaki işlevsel etkileri tam olarak anlaşılamamıştır.

**NK hücreleri** İAV infeksiyonunu elimine eden doğal immün sistemin önemli sitotoksik lenfositleridir. İnsandaki NK hücreleri NKp30, NKp44 ve NKp46 doğal sitotoksik reseptörlerine sahiptir. Bu reseptörler virüs veya tümör ilişkili moleküllerin tanınmasında ve NK hücrelerin aktivasyonunda yer almaktadırlar (132). İnfekte olmuş hücrelerin yüzeyinde sunulan virüs HA molekülünün NKp44 ve NKp46 reseptörleri ile tanınması ve bağlanması sonucu infekte hücreleri parçaladığı gösterilmiştir (133). İnfeksiyonuna bağlı olarak dolaşımda geçici olarak NK hücre eksikliği saptanır, bunun nedeni NK hücrelerinin dolaşımdan başta akciğerler olmak üzere infeksiyon alanına hareket etmesi olarak yorumlanmaktadır. Ancak ölümle sonuçlanan influenza vakalarındaki akciğer infiltratlarında NK hücre sayısının az olduğu veya hiç olmadığı gösterilmiştir. Bu durumla benzer şekilde influenza virüsünün NK hücrelerini infekte etmesi halinde NK hücrelerinin sitotoksik fonksiyonları ve kemokin sekresyonlarının inhibe olduğu gösterilmiştir (134).

**Dendritik hücreler**, özelleşmiş antijen-sunucu hücrelerdir. İAV infeksiyonu sırasında doğal ve adaptif immün cevaba köprülük ederler. İnsanda DH alt grupları CD11c<sup>+</sup>CD123<sup>lo</sup>, myeloid konvasiyonel (mDH veya kDH) ve CD11c<sup>-</sup>CD123<sup>hi</sup> plasmositoid DH (pDH) olarak tanımlanmıştır. Normal zamanda solunum yolunda, havayolu epitel tabakasında, akciğer parankiminde, alveol alanlarında hem mDH hem pDH bulunmaktadır. mDH'lerin alt grubu olarak CD11c<sup>+</sup> mDH1 (CD11a<sup>+</sup>langerin<sup>+/+</sup>) ve CD11c<sup>+</sup>mDH2 (CD11a<sup>-</sup>langerin<sup>-</sup>) akciğerlerde saptanmıştır (135). Solunum yollarını drene



eden lenf nodlarında hem pDH hem CD1c+mDH1 hem de CD141<sup>+</sup>mDH2 bulunmaktadır. İnfluenza infeksiyonu sırasında nasal mukozada artmış sayıda mDH ve pDH'ler varken bu hücre sayıları periferik kanda azalmıştır. İnfluenza virüs infeksiyonu ile aktive olan DH'lerde (CD1c+mDH1, pDH, monosit kökenli DH) HLA-DR, HLA-ABC, CD80, CD86, CD40 ve CCR7 ekspresyonları artar. İnfluenza ile infekte farede, trakea ve akciğer interstisyel dokusunda aktive olmuş DH fenotipleri (CD103<sup>-</sup>CD11b<sup>hi</sup> kDHler, CD103<sup>+</sup>CD11b<sup>lo</sup> kDHler, CD11c<sup>lo</sup> pDHler) ile monosit derive DH'ler yer almaktadır. pDH'ler influenza virüsüne diğer tiplere kıyasla daha az duyarlıdır.

DH'ler tarafından viral antijenlerin naif ve hafıza T lenfositlerine sunulması ile adaptif immün cevap başlatılmaktadır. Naif kararlı durumda, solunum yolunda yerleşmiş DH'ler epitel hücrelerinin sıkı bağlantılarının (*tight junctions*) arasından havayolu lümenine uzanan dendritleri yolu ile sürekli olarak havayoluna ulaşan patojenleri aramaktadırlar. İnfluenza infeksiyonu sırasında, kDH'ler, CCR7 ve ligandları CCL19 ve CCL21 etkileşimi yoluyla akciğerlerden lenf nodlarına göç etmektedir (136-138). Lenf nodlarında, kDH'ler, influenza kökenli antijenleri T lenfositlere sunmaktadır (137). Enfekte olmuş DH'ler viral proteini immün peptidlere degrede etmektedirler. Sitozoldeki immün peptidler (epitoplar) endoplazmik retikuluma taşınarak burada majör histokompatibilite kompleksi (MHC) sınıf I molekülü ile bağlanmaktadır. Epitoplarla bağlanmasını takiben, MHC sınıf I molekülü, virüs spesifik CD8<sup>+</sup> sitotoksik T hücreleri (CTL) tarafından tanınması için Golgi kompleksi yoluyla, hücre membranına taşınmaktadır. Endozomlar/lizozomlar içinde degrede olan viral proteinler burada MHC sınıf II molekülü ile birleşmektedir. Bu kompleksler, CD4<sup>+</sup> T helper (Th) hücreler tarafından tanınmak için hücre membranına taşınmaktadır. Bu süreç, B hücrelerin proliferasyonu ve antikor üreten plazma hücrelerine olgunlaşmasına yol açmaktadır (139). Ek olarak, influenza infeksiyonu sırasında, DH'ler sitolitik aktivite göstermektedir ve bronş-assosiyel lenfoid dokunun (BALT) oluşmasına katkıda bulunmaktadır (140).

**Mukoza asosiyel invariant T hücreleri (MAIT)** aktive olunca proinflamatuvar sitokin üretmektedir ve sitotoksik granzim ve perforinleri artırmaktadırlar. Asıl bakteri infeksiyonlarında koruma sağladıkları bilinmekle birlikte viral infeksiyonlar,

otoimmünite ve kanserde de rol oynamaktadırlar (141). İAV infeksiyonunda kandaki sayılarının azaldığı ve aktivitelerinin arttığı, kan dolaşımından infeksiyon alanına gittikleri gösterilmiştir (142). Aktivasyonun başlıca CD14 monositlerden üretilen IL-18 aracılı olduğu gösterilmiştir. Akut influenza infeksiyonu sırasında MAİT hücre sayısında azalma olması bakterilere karşı korumada azalmaya yol açmakta ve bakteriyel superinfeksiyon riskinde artma, hastalık şiddeti ve mortalite de artmaya yol açabileceği düşünülmektedir (143).

**NKT hücreleri** heterojen bir T hücre grubudur. Bu hücreler hem NK hem T hücrelerin özelliklerini paylaşırlar. Bu hücreler, non-polimorfik CD1d molekülünü tanırlar. Bu molekül kendinden olan veya yabancı lipid ve glikolipidlere bağlanabilen bir antijen sunucu moleküldür (144). Tip I invariant NKT hücreleri ve Tip II *diverse* NKT hücreleri tanımlanmıştır.  $\alpha\beta$ TCR, CD3 ve CD56 eksprese ederler. Hayvanlarda, NKT hücrelerinin sitokin salımı (IFN- $\gamma$  ve IL-22 gibi), CD40 upregülasyonu ve DH aktivasyon yolu ile viral infeksiyon/İAV ve kanserlere karşı etkili olduğu; doğal ve adaptif immün cevabı düzenlediği gösterilmiştir (145, 146). CD40 ve CD1d aracılı etkileşimler yoluyla, influenza ile infekte insan ve hayvanlarda, influenza virüsüne bağlı gelişen myeloid kökenli supresör hücrelerin (MDSH) immüsupresif etkisini azalttığı gösterilmiştir (147).

**$\gamma\delta$ T hücreleri**, doğal ve adaptif immünitinin önemli hücreleridir ve geniş TCR çeşitliği gösterdikleri bildirilmiştir. Virüsle infekte hücreleri perforin, granzim B, granülisin salgılayarak direkt öldürür. Antijen sunucu hücrelere yardımcı olarak antijen-spesifik T hücre cevabını desteklemektedir (148, 149). İnfluenza infeksiyonunun iyileşme döneminde de etkisinin olduğu öne sürülmektedir.

**Doğal Lenfoid Hücreler (Innate Lenfoid hücreler, ICL)** dokuda yerleşimli doğal immün hücrelerdir (150). Hasar görmüş mukozadan gelen tehlike sinyalleri ile hızla aktive olmaktadır. Bir dizi sitokin salgılayarak patojenler ve tümör hücrelerini ortadan kaldırarak mukozal bütünlüğü korumaya çalışırlar. Aşırı aktive olduklarında ise patolojik doku hasarına neden olmaktadır (151, 152). Hayvanlarda ve insanlarda 3 grup hücre olarak tanımlanmıştır: IFN-  $\gamma$  üreten NK hücreler ve ILC1, IL-4/IL-5/IL-13 üreten ILC2 ve IL-17/IL-22 üreten ILC3 ve LT<sub>i</sub> (lenfoid doku *induce* hücreler) (151). Bu hücreler

konusundaki bilgiler henüz çok yenidir. Bu hücre grubunun interlökin 2R $\gamma$  ve transkripsiyonel represör *inhibitör of DNA binding 2* (Id2) bağımlı gelişme gösterdikleri bulunmuştur. Üç ana özellikleri vardır: lenfoid morfolojisinde, yeniden düzenlenmiş antijen spesifik reseptör bulundurmayan ve myeloid dendritik hücre fenotipik markerları olmayan hücrelerdir. Antijen reseptörleri sunmazlar ve kolonal seleksiyona uğramazlar.

ILC hücrelerinin Th hücrelerle ortak lenfoid progenitör hücrelerden köken aldıkları ancak gelişimlerinin farklı olduğu anlaşılmıştır. Fötal karaciğerde geliştikten sonra adhezyon molekülleri ve kemokinlerle dokulara dağılırlar. ILC hücreleri dokularda yerleştikten sonra tekrar dolaşıma girmez veya başka organlara göçmezler. Akut çevresel tehlikeler varlığında hücre havuzu yenilenir ve fenotipik transformasyon da görülür. ILC hücreleri RAG geni taşımadıklarından doğrudan aktive olabilmektedir. ILC hücreleri tehlike ile karşılaştıklarında hızlıca aktive olur, çoğalır ve çeşitli sitokinler salgılayarak tehlikeyi ortadan kaldırıp mukozal hemostazı sağlayabilirler. Ancak antijen sunucu hücreler yoluyla değil doku ortamındaki tehlike sinyalleri tarafından aktive oldukları için bu aktivasyon patolojik doku hasarına da yol açabilmektedir. Th hücrelerin aktive olması için günler veya haftalar gerekirken ILC hücreleri çok daha hızlı aktive olmaktadır (153-155). ILC hücrelerinin bir diğer özelliği de yüksek plastisite sergilemeleridir; çevre şartlarına göre fenotipleri değişkenlik gösterir. Örneğin, IL-2 ve IL12 altında ILC3 hücreleri ILC1 hücrelere transforme olabilir veya ILC2 hücreleri IL-1 $\beta$  ve IL-12 etkisi altında IL-5 ve IL-13 üretimini azaltıp IFN- $\gamma$  üretmeye başlarlar.

ILC1 hücreleri influenza enfeksiyonu varlığında aşırı miktarda IFN- $\gamma$  sentezleyebilir ve ILC2 hücreleri akciğerde inflamasyon alanında myeloid hücrelerden üretilen proinflamatuvar IL-12 ve IL-18 sitokinlerinin etkisi ile ILC2 hücreleri ILC1'e dönüşebilirler (156). Bunun yanında ILC2 hücreleri influenza enfeksiyonu sırasında amfiyoglin üreterek solunum yolu epitelinin bütünlüğünü koruma ve akciğer fonksiyonunu düzeltmekte rol oynamaktadır. Öte yandan IL-13 üreten ILC2 hücrelerinin influenza enfeksiyonu sırasında gelişen hava yolu hiper-reaktivitesinden de sorumlu olduğu ve alveoler makrofajlardan ve NKT hücrelerinden üretilen IL-33 sitokininin de ILC2 aktivasyonunda katkısı olduğu gösterilmiştir (157, 158).

ILC3 hücreleri ürettikleri IL-22 ve IL-17 aracılığıyla mukoza bariyer fonksiyonunun idamesinde önemli rol oynamaktadır. Bu sitokinler epidermal hücreleri aktive ederek antimikrobiyal moleküllerinin üretmelerini sağlayarak konak savunmasında rol oynamaktadırlar. Yapılan çalışmalarda özellikle bakteriyel ve fungal infeksiyonlara karşı savunmada önemli rol oynadıkları gösterilmiştir. Bu hücrelerin akciğer savunmasının yanı sıra sitokin profillerindeki baskınlıklara göre kronik akciğer hastalıkları gelişmesinde de rol oynadıkları çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir (150).

### **İnfluenza virüs infeksiyonuna karşı solunumsal mukozal immünite; lenfoid dokular ve immunoglobulinler.**

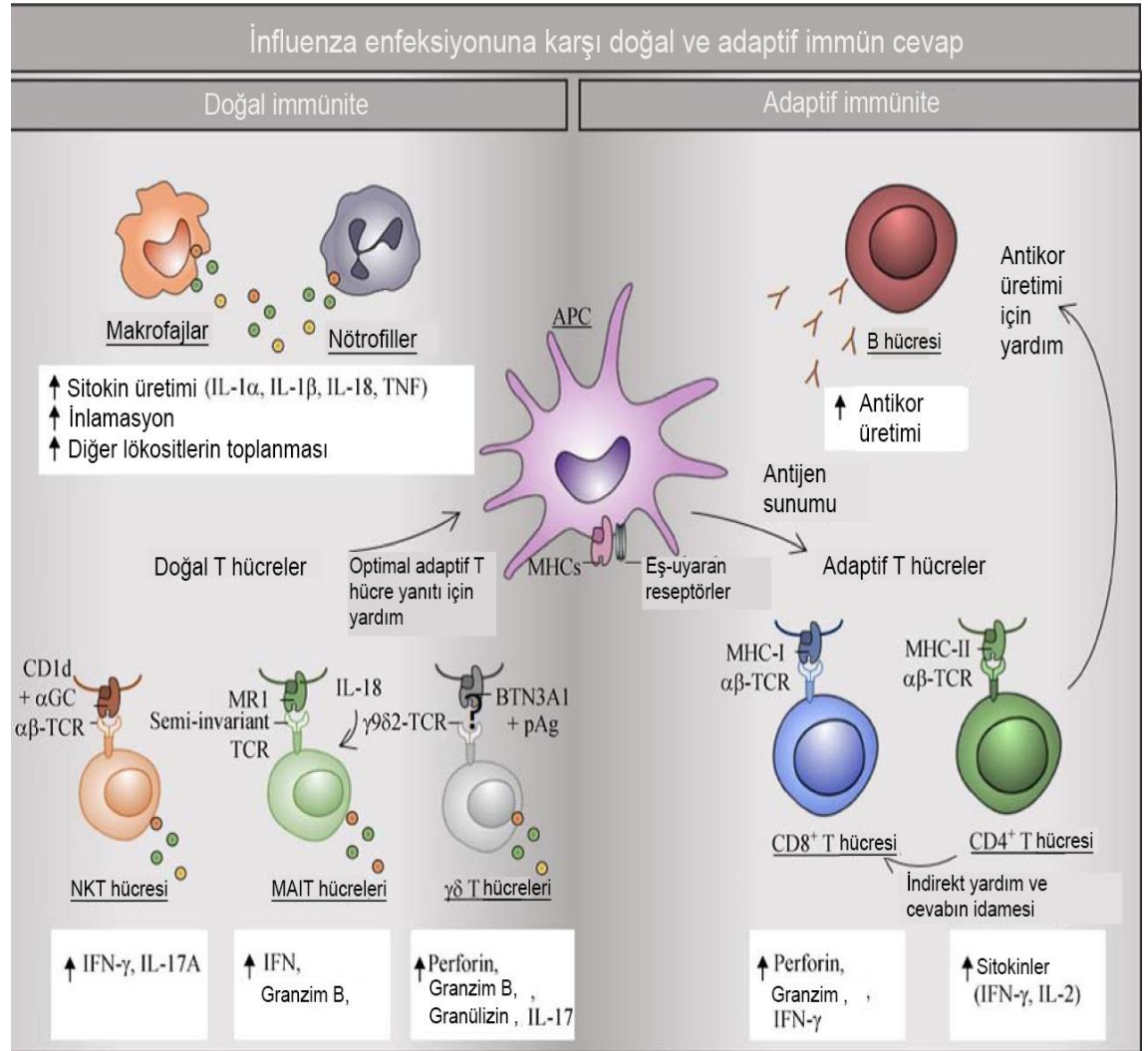
Nazal açıklıklar ve üst solunum yolu, influenza virüsünün ana giriş yerleridir ve mukozal immun sistem doğal immünitinin bir bölümü olarak infeksiyonu sınırlamak üzere ilk savunma hattını oluşturur. Sekretuar IgA ve IgM viral girişi önlemek için mukozada bulunan majör nötralize edici antikorlardır. Nazal sekresyonlar virüsün HA ve NA yapılarını nötralize eden IgA içerir. IAV primer infeksiyonu sırasında, infeksiyonu sınırlamak için üç ana Ig grubu (IgG, A ve M) mukozal sekresyonların içerisinde bulunmaktadır. IgA ve M, G tipinden daha yoğun konsantrasyonda bulunmaktadır (159, 160).

Üst solunum yolunda mukozal cevap nazofarenks asosiye lenfoid doku (NALT) tarafından indüklenmektedir. Antijenler, NALT üzerinde bulunan makrofajlar tarafından pinosite veya fagosite edildiği zaman, lokal T veya B hücreleri ile etkileşir ve çok miktarda IgA antikor-üreten öncül hücreler (IgA-AFC, *antibody forming cells*) ortaya çıkmaktadır. Bu T ve B hücreleri NALT'tan dolaşım yolu ile akciğerlere göç eder. Burada spesifik IgA-AFC'ye diferansiye olur ve antiviral antikorlar sekrete ederler (161). Bu yüzden, NALT, İAV infeksiyonuna karşı s-IgA sekresyonu için başlangıçtaki tetikleyicidir. Alt solunum yolunda mukozal immün cevap BALT içerisinde oluşur. BALT, AFC gelişimi ve mukozal s-IgA üretim alanıdır (162).

Sekretuar IgA mukozal yüzeyde bulunan primer izotiptir. Bir ajanı mukozal bariyeri geçmeden ve hücreleri infekte etmeden önce uzaklaştırma kabiliyetine sahiptir. Viral yüzeyi kaplayarak, s-IgA influenza virionlarının duyarlı hücrelere tutunmasını

önlemekte ve bu sayede konak hücreye invazyonunu inhibe etmekte ve kompleman katkısı olmadan virüsleri nötralize etmektedir (163).

Çalışmalar, s-IgA'nın İAV infeksiyonuna karşı korunmanın yanında viral varyantlarla üst solunum yolu infeksiyonlarına karşı da korumada kritik etkisi olduğunu göstermiştir. Polimerik s-IgA da influenzaya karşı savunmada önemlidir. Polimerik s-IgA'nın quaternar yapısının influenzaya karşı üst solunum yolunu korumada anahtar bir rolü olduğu ve dimerik s-IgA'dan daha fazla nötralizasyon kapasitesine sahip olduğu bilinmektedir (164).



**Şekil 2.4.** İnfluenza virüsüne karşı etkili olan immün sistem hücreleri (8 No'lu kaynaktan uyarlanmıştır).

## **İnfluenza virüs infeksiyonunda adaptif immüntenin doğal immünte ile kontrolü**

Doğal immün sistemin hücreleri, özellikle DH'ler, viral invazyonu tespit ettikten sonra adaptif immün cevabın da başlatılması için önemli role sahiptir (Şekil 2.5). DH'ler hem infeksiyon etkeninin direkt antijenini veya infekte ölü hücrelerden aldıkları ekzojen antijeni naif antijen spesifik T hücrelerine sunarlar. Solunum yolu epiteline yerleşimli DH'ler (özellikle CD103<sup>+</sup>CD11b<sup>lo</sup> kDH tipi) tip I IFN varlığında olgunlaşır ve CCR7<sup>-</sup> olarak bölgesel lenf nodlarına göç ederler. İnfeksiyonun erken evresinde bu DH'ler lenf nodlarında virüs-spesifik naif CD8<sup>+</sup> T hücrelere antijen sunumu yaparak bu hücrelerin efektör hücrelere dönüşmesini sağlar. İnfeksiyonun zirvede olduğu dönemde is CD103<sup>-</sup>CD11b<sup>hi</sup> kDH'ler lenf nodlarına göç eden majör DH'lerdir ve santral hafıza CD8<sup>+</sup> T hücrelerin oluşmasında rol oynarlar. Ayrıca solunum yolundaki doğal immün sistem hücreleri infeksiyon alanındaki efektör T hücrelerin yaşamlarını sürdürebilmeleri için de gereklidir. CD103<sup>+</sup>Cd11b<sup>lo</sup> ve CD103<sup>-</sup>CD11b<sup>hi</sup> kDH'ler lenf nodlarında naif-virüs spesifik CD4<sup>+</sup> T hücrelerin aktivasyonunda da etkilidir. İnfluenza infeksiyonunda pDH'lerin virüs spesifik primer antikor yanıtının oluşmasında önemli rolü olduğu gösterilmiştir (137, 138).

Adaptif immün yanıtın oluşmasındaki diğer önemli elemanlar PRR'lerdir. Fare çalışmalarında TLR3-TRIF yolağının ve TLR7-MyD88 ve RIG-1 sinyal yolaklarının CD4<sup>+</sup> veya CD8<sup>+</sup> T hücre veya B hücre aktivasyonunda önemli bir rolü olduğu gösterilmiştir. RIG-1 sinyaline bağlı olmayacak şekilde TLR7 sinyali ve pDH'lerdeki TLR7 sinyalinin antikor üreten hücrelerin ve virüs-spesifik antikor yanıtının oluşmasında rol aldığı hem influenza infeksiyonu hem de aşı çalışmalarında gösterilmiştir.

NLRP3 ve kaspaz1, virüs spesifik IFN- $\gamma$  sekrete eden CD4<sup>+</sup> ve CD8<sup>+</sup> T lenfositlerin aktivasyonuna, DH'lerin aktivasyonu ve lenf noduna ulaşmasında rol oynadığını destekleyen çalışmalar mevcuttur.

İnfluenza infeksiyonunda doğal immün cevabın hiperaktivasyonu (nötrofiller, monositler ve NK hücreler gibi), ARDS tablosuna yol açabilmektedir. Bu hücreler, aşırı miktarda inflamatuvar sitokinler, reaktif oksijen radikalleri, *TNF-aracılı apoptoz-inducing ligand* (TRAIL), *inducible nitrik oksid sentaz* (iNOS2) ve proinflamatuvar sitokinler salgırlar. Bu hücrelerin akciğer alanlarında fazla biriktiği ölümcül akciğer infeksiyonlarında gösterilmiştir (165, 166).

### 2.6.2. İnfluenza Virüs İnfeksiyonuna Karşı Adaptif İmmünite

T hücre ve B hücreleri İAV infeksiyonuna karşı adaptif immün cevapta anahtar rol oynar. T hücreleri başlıca CD4<sup>+</sup> T ve CD8<sup>+</sup> T hücreleri şeklindedir. CD8<sup>+</sup> T hücreleri sitotoksik T lenfositlere (CTL) diferansiye olur, viral replikasyonu sınırlamak ve virüsle infekte olmuş hücreleri öldürmek için sitokinleri ve efektör molekülleri üretirler. Bu yüzden, T hücreleri viral infeksiyonun sınırlanması için şarttır.

#### Humoral İmmün Cevap

**B hücreleri** influenza infeksiyonunda antikorlar üreterek akut solunum yolu infeksiyonlarının daha hızlı ve tam düzelmesi ile ölüm riskini azaltması ve gelecekte oluşacak infeksiyon ilişkili morbidite ve mortaliteye karşı koruma açısından önemlidir. B lenfositlerin influenza infeksiyonunda çoklu etkisi olduğu gösterilmiştir. İnfeksiyon alanında yani solunum yolunda influenza infeksiyonuna cevap olarak doğal hücrelerin benzeri B1 hücreler bölgesel lenf nodarına ulaşmaktadır. Solunum yolu epitelinde infeksiyona ikincil üretilen Tip I IFN etkisi ile infeksiyonun 2. gününde mediastinel lenf nodlarında biriken B1 hücreler IgM tipi antikorlar üretmektedir. Bu antikorlar influenza virüsünü bağlayarak kompleman aktivasyonu yapabilmektedir ve eksikliğinde influenza virüsünün temizlenmesinin azaldığı gösterilmiştir (167, 168). Ayrıca erken IgM üretimi tüm antikor üretimini düzenleyen ve hem doğal hem adaptif immüni cevabı potansiyel olarak artıran bir etki yaratmaktadır (169).

İnfluenza infeksiyonunda B hücre cevabı önemli ölçüde solunum yollarının lokal lenf nodlarında gerçekleşmektedir, dalakta çok hafif bir aktivasyon görülmektedir. İnfeksiyondan sonraki 1-2 gün içerisinde mediastinel lenf nodlarında büyüme olmaktadır.



İnfluenza antijeni taşıyan CD11b+ DH'ler bu lenf nodlarına göç eder ve burada CD4<sup>+</sup> ve CD8<sup>+</sup> T lenfositleri aktive etmektedir. Lenf nodlarının büyümesinde B hücrelerinden üretilen vasküler endotelial büyüme faktörü A (VEGF-A) molekülünün etkili olduğu bildirilmiştir. Lenf nodunda aktifleşen B hücrelerinde Tip I IFN imzası gösterilmiştir.

CD4<sup>+</sup> T hücreleri ve T hücre-derive sitokinler tarafından uyarılması sonucu B hücreleri aktive olmakta, antikor üreten hücrelere dönüşerek koruyucu antikorlar üretmektedir (170, 171). Bu antikor üretimleri erken ektrafoliküler (EF) cevap veya daha geç gelişen germinal merkez (GC) cevabı olarak görülmektedir. Lenf nodunun medullasında hızlı ve güçlü B hücre proliferasyonu ile karakterize erken ektrafoliküler cevap ile bu hücreler kısa ömürlü olan ve IgM, IgA ve IgG salgılayan hücrelere farklılaşmaktadır (172). EF cevabı influenza infeksiyonunun zirve dönemi ve düzelleme dönemi ile koreledir ve bu da hızlı, güçlü ve erken gelişen humoral cevabın virüs temizlenmesinde önemli rolü olduğunu göstermektedir (173). B lenfositlerin EF cevabı T hücre yardımı ile veya T hücre yardımı olmadan gelişebilmektedir.

Germinal merkez cevabı ise genellikle hastalık tablosu düzelden önce görülmez ve uzun ömürlü antikor üreten plazma hücreleri ve hafıza B hücreleri üreterek immünolojik hafıza oluşmasına ve idame edilmesine olanak sağlamaktadır (1, 169). Özellikle oluşan hafıza B hücreleri daha sonra influenza virüsü ile karşılaşıldığında hızlı EF cevabı veya yeni GC cevabı oluşması için önemli bir rol sergilemektedir.

B lenfositleri infeksiyon alanında tanıdığı antijenler ile lenf nodlarına gelebilir veya lenf nodunda antijen taşıyan subkapsüler makrofajlar ile etkileşebilir veya lenf nodunda *cognate* antijenleri tanıyabilir. Farklı antijenle karşılaşma yöntemlerinin B hücre cevabının kalitesi üzerine etkisi bilinmemektedir.

B hücrelerin antijene özgü aktivasyonu sonucunda genetik yeniden programlanma başlatılmaktadır; CCR7 artışı ve CXCR5 azalması yoluyla T:B sınırına doğru göç etmeleri sağlanmaktadır. Ayrıca B hücrelerinde CCL3 ve CCL4 salınması sonucunda aktive olmuş CCR5<sup>+</sup> CD4<sup>+</sup> T hücreleri ile etkileşim ve humoral immünite de artış sağlanmaktadır (174).

İnfluenza infeksiyonu hem influenza glikoproteinleri HA ve NA'ya hem de M ve NP proteinlerine karşı antikorların sistemik olarak üretilmesi ile sonuçlanmaktadır. Örnek olarak, HA-spesifik IgM, IgA ve IgG tipi immunoglobulinler, virüs inokulasyonunun 2. haftasında ortaya çıkmaktadır. Anti-NA antikorları, Anti-HA antikorlarla eş zamanlı üretilmektedir (175). Antikor titrelerindeki zirve, infeksiyondan sonra 4-7 hafta içerisinde görülmekte ve stabil bir azalma görülmektedir. Antikorlar, yeniden maruziyet olmasa bile infeksiyondan yıllar sonra hala tespit edilebilir seviyelerdedir. Anti-HA antikorlarının homolog virüsle hem hastalık hem de infeksiyona karşı koruyucu olduğu bilinmektedir. Nötralizan antikorların indüksiyonu aşı ile immünizasyonun ana hedefidir. Serum HA-inhibe eden titrelerin 1:40 ve üzerinde olması veya serum nötralize edici titrelerin 1:8 ve üzerinde olması infeksiyona karşı koruyucu olarak kabul edilmektedir. Antikorların yüksek seviyeleri yaşlı bireylerde tam koruma için gereklidir (1).

Anti-HA antikorlarının aksine, anti-NA antikorları virüs infektivitesini nötralize edemez ama bunun yerine virüsün infekte hücrelerden salınımını etkili şekilde azalttığı gösterilmiştir (1, 176). Nöraminidaz, hücresele reseptör sialik asit rezidülerini parçalar ve yeni oluşan partiküller bu bölgelere tutunmaktadır. Anti-NA antikorları hastalığa karşı koruyucudur ve virüs yayılmasının (*shedding*) ve semptomların azalmasına neden olmaktadır. İnfluenza A-M2 proteinine karşı oluşan antikorların benzer etkileri olduğu düşünülmektedir, ancak genel olarak internal antijenlere karşı gelişen antikorlar nötralize edici değildir, hızla kaybolur ve koruyucu immünitede rol oynamamaktadırlar. IgA, üst solunum yolu mukoza epitelinden geçerek viral infeksiyonu nötralize etmeye ve viral infeksiyonu temizlemeye çalışmaktadır. IgG'nin, primer olarak alt solunum yolunu korumaktan sorumlu olduğu düşünülmektedir (177, 178).

Genelde bir virüs ile infeksiyon geçiren ve virüsü temizleyen kişiler aynı virüse karşı immün hale gelirler. Ancak, aktif temizlenmeye rağmen, influenza ile tekrarlayan akut infeksiyon tabloları oluşmaktadır. Bunun nedeni, influenza virüsünün geliştirdiği antijenik değişikliklerdir.

## Hücresel İmmün Cevap

Dendritik hücreler **T lenfosit** hücre cevabını başlatmak ve devam ettirmek için merkezi bir göreve sahiptir (Şekil 2.3). Akciğerde yerleşmiş dendritik hücrelerin antijeni tanıyıp aktifleşmesi ve bölgesel lenf nodlarına göç etmesinin ardından antijeni majör histokompatibilite kompleksi (MHC) ile lenfositlere sunmaktadır (179, 180). Dendritik hücreler endojen antijenleri MHC I molekülleri ile CD8<sup>+</sup> T lenfositlere; ekzojen antijenleri MHC II molekülleri yoluyla CD4<sup>+</sup> T lenfositlere sunmaktadır. Alternatif olarak, dendritik hücreler enfekte hücrelerden alınarak kazanılan antijenleri sunabilir veya antijeni komşu dendritik hücrelere transfer edebilir ve sonra çapraz-sunum diye bilinen bir CD8<sup>+</sup> T hücre cevabı başlatabilir (181) . Antijen sunumu ile aktive olan T hücreler efektör hücre fonksiyonu kazanarak akciğerdeki infeksiyon alanına göç etmekte ve burada antiviral aktivitelerini sergilemektedir.

**CD4<sup>+</sup> T lenfositler** İAV infeksiyonuna karşı adaptif immün cevapta yer alan önemli immün hücrelerdir. CD4<sup>+</sup> T lenfositler MHC sınıf II üzerinde 12-16 amino asit uzunluğundaki viral peptid yapıları tanıyabilmektedir. Lenf nodunda aktif hale geldikten sonra efektör hücrelere farklılaşır ve infeksiyon alanına göç ederler. Bu hareket için CD62L reseptörü azalır, CCR7 ifadeleri azalır ve CD44 ve CD49d ile geçici süre CCR5 ifadeleri artar (182, 183).

CD4<sup>+</sup> T lenfositleri, İAV infeksiyonu sırasında, uyaranlarına bağlı olarak (DH'ler, epitel hücreleri ve inflamatuvar hücrelerden sekrete edilen antijenler, eş uyaran moleküller ve sitokinler) Th1 hücrelerine diferansiye olmaktadır (184, 185). CD4<sup>+</sup> T lenfositleri, ayrıca Th2, Th17, regülatör T hücreleri (Treg hücreler), foliküler helper T hücreleri ve öldürücü hücreler gibi hücrelere diferansiye olmaktadır (186).

Th1 hücreleri tarafından üretilen IL-2 ve IFN- $\gamma$ , CD8<sup>+</sup> T lenfositlerin virüs-spesifik CD8<sup>+</sup> sitotoksik T lenfositlere farklılaşmasını ve viral klerensi düzenlemektedir (187). Th1 efektör CD4<sup>+</sup> T lenfositlerinden salınan antiviral sitokinler (IFN- $\gamma$ , TNF ve IL-2) alveoler makrofajları da aktive etmektedir (188). Farelerde influenza infeksiyonunun güçlü bir Th1 cevabı indüklediği ama enfekte hayvanların akciğerinde Th2

sitokinlerinin (IL-4, IL-5, IL-6, IL-10) de bulunduğu bildirilmiştir. Koruyucu immunitenin Th1 benzeri cevapla oluştuğuna dair kanıtlar mevcuttur.

İnfluenza infeksiyonunda, CD4<sup>+</sup> yardımcı T lenfositler anti-HA ve anti-NA antikoları oluşması için B lenfositlere CD4<sup>+</sup> T lenfositlerde eksprese edilen çok sayıda eş-uyaran ligandlar B hücre aktivasyonuna ve antikor üretimine katkı sağlamaktadır (189). Th2 hücreleri, antijen sunan hücreler ve IL-4 ve IL-13 ile virüs-kökenli MHC sınıf II-ilişkili peptidleri bağlayarak B hücre cevabını artırmaktadır (190). CD4<sup>+</sup> T lenfositleri ortamdaki transkripsiyon faktörleri, TCR uyarıları, sitokin ve kemokinlerin varlığı, eşuyaran moleküllerin sinyalleri altında hafıza CD4<sup>+</sup> hücrelerine dönüşür.

Th17 ve Treg hücrelerin, İAV infeksiyonuna karşı hücreyel immün cevabı düzenlediği gösterilmiştir (191).

**CD8<sup>+</sup> T lenfositler**, antijen sunumun ardından CD4<sup>+</sup> yardımcı T lenfositlerin yardımı ile Tip 1 IFN'lar, IFN- $\gamma$ , IL-2 ve IL-12 etkileri altında sitotoksik T lenfositlere (CTL) diferansiye olmaktadır (192, 193). CTL'lerin CCR7 ekspresyonunu azalır ve CXCR3 ve CCR4 ekspresyonu artar ve bu sayede lenf nodlarından influenza ile infekte hücrelerin öldürüldüğü bölge olan akciğerlere göç etmektedirler.

CTL'ler, MHC I molekülleri, üzerinde sunulan 8-11 amino asit uzunluğunda korunmuş viral (HA, internal M, NP, PB2) proteinlerin epitoplarını tanıma kapasitesine sahiptir ve influenza virüsleri arasındaki çapraz-reaksiyonda önemli rol oynamaktadır (137, 194, 195). İnfeksiyon alanına ulaşan CTL, virüs ile infekte hücreleri hedefleyerek perforin ve granzim (GrA ve GrB) moleküllerini içeren sitotoksik granülleri oluşturmaktadır. Perforin hedef hücrelere, hücre zarı üzerinde por oluşturmak üzere bağlanır, granzimlerin pasif difüzyonunu hızlandırır ve apoptoz indüklenir. GrA, protein sentezinde yer alan virüs ve konak hücre proteinlerinin kırılmasına neden olarak virüs replikasyonunu sınırlamaktadır (196, 197). Ek olarak, CTL'ler, TNF ailesi molekülleri yoluyla infekte hücre apoptozunu indükleyebilir. Bunun için prototipler olan FAS ve TNF-related apoptosis-ligand (TRAIL) moleküllerinin FAS-FASL veya TRAIL-TRAIL-*death receptor* kompleksleri oluşmakta ve hücre apoptozu başlatılmaktadır (198).

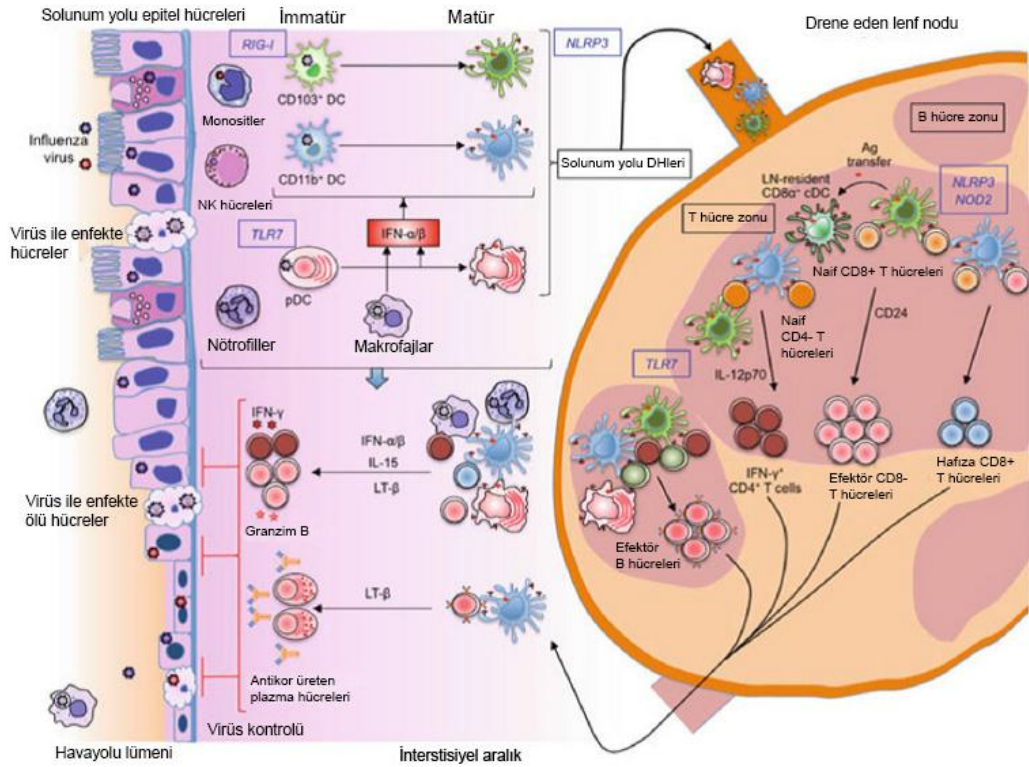
Viral infeksiyon sırasında oluşan hafıza  $CD8^+$  T lenfositleri sekonder İAV infeksiyonuna hızla cevap verebilmektedir (199). Nötralize edici antikolar, aynı İAV serotipi ile sekonder infeksiyondan korunurken, hafıza CTL'ler korunmuş İAV proteinlerindeki (NP, M1 ve PA gibi) epitoplara için spesifiktir.

Çalışmalar İAV-spesifik  $CD8^+$  T lenfositlerin murin modellerde 2 yıl kadar sürebildiklerini göstermiştir (200). Hafıza  $CD8^+$  T hücrelerinin sitotoksitesi belirgin şekilde azalmaktadır (201). Hafıza  $CD8^+$  T hücrelerinin oluşmasında otofajinin önemli bir mekanizma olduğu düşünülmektedir, otofaji eksik ise İAV infeksiyonuna karşı  $CD8^+$  T hücre hafızası oluşamadığı gösterilmiştir (202). Burun epitelindeki İAV-spesifik hafıza  $CD8^+$  T lenfositleri, virüsün üst solunum yolundan akciğere yayılımını, böylece akciğer hastalığının gelişimini önlemektedir (203). Akciğerde yerleşik hafıza  $CD8^+$  T hücreleri heterolog İAV infeksiyonuna karşı savunma yapabilmektedir. Ek olarak, akciğerde yerleşimli monositler İAV infeksiyonu sırasında akciğerde yerleşimli  $CD8^+$  T hücrelerin yerleşmesini desteklemektedir.

T lenfosit cevabının insanlarda infeksiyondan sonraki 14. gün civarında zirve yaptığı ve influenza-spesifik CTL seviyelerinin erişkinlerde virüs replikasyon süresini ve seviyesini azalttığı gösterilmiştir. İnfeksiyon sırasında oluşan hafıza  $CD8^+$  T lenfositleri yeni infeksiyon durumunda hastalık şiddeti ve düzelmenin hızlanması konusunda rol oynamaktadır.

İnfeksiyon düzeldikten sonra, immün hafıza oluşur, aynı patojenle bir sonraki infeksiyonda daha iyi kontrol sağlanmaktadır (204). Hafıza, antijen-spesifik T hücreleri ile sağlanmaktadır. Bu hücreler, naif T hücrelere oranla eş-uyaran sinyallere daha az gereksinim duymakta ve antijenik yeniden uyarılmaya daha hızlı cevap vermektedir (205). Hafıza  $CD4$  ve  $CD8^+$  T lenfosit alt grupları merkezi hafıza ( $CD62L^+ CCR7^+$ ), efektör hafıza ( $CD62L^- CCR7^-$ ) ve dokuda yerleşimli hafıza T hücreleridir. Merkezi hafıza T lenfositleri dalak, lenf nodu ve kan dolaşımında bulunur. Efektör hafıza T lenfositleri dalak ve lenf nodunda bulunur ancak gerektiğinde periferik dokulara göç edebilirler. Doku yerleşimli hafıza T lenfositleri ise periferik dokularda bulunur ve göç etmezler. İkincil viral infeksiyon anında ilk savunmayı sağlarlar ancak zaman içerisinde hızla azalır.

Merkezi hafıza ve efektör hafıza T lenfositleri ise sitokin üretimi, çoğalma ve infeksiyon alanına göç edebilme yeteneğine sahiptirler (203-204). İnflenzaya spesifik CD8<sup>+</sup> hafıza T hücrelerinin, insan akciğerinde re-enfeksiyonuna karşı erken immünolojik koruma için biriktiğine dair kanıtlar vardır (206). İlk influenza infeksiyonu sırasında virüsün temizlenmesinde CD8<sup>+</sup> T lenfositleri önemli iken, aynı virüsle yeniden infeksiyon sırasında hem CD4<sup>+</sup> hem de CD8<sup>+</sup> hafıza T lenfositleri infeksiyonun kontrolünde önemli rol oynamaktadır (205, 207).



**Şekil 2.5.** İnfluenza virüsü enfeksiyonu sırasında doğal ve adaptif immün cevap basamakları (8 No'lu kaynaktan uyarlanmıştır) .

### 2.6.3. İnfluenza Virüsünün Konak İmmün Taramasından Kaçışı

Konak immünesinden saklanmak için influenza virüsü birçok mekanizma geliştirebilmektedir. İAV enfeksiyonu çok sayıda antiviral molekül ve İSG'lerin ekspresyonunu indükleyen İFN'ların çok miktarda üretilmesine yol açmaktadır. İFN'ların güçlü antiviral aktivitelerine rağmen, virüsün İFN sinyalizasyonu baskılaması nedeniyle tam olarak İAV enfeksiyonununun kontrol edilemediği düşünülmektedir.

### **Majör İAV proteinlerinin antagonizmi**

İAV HA yapısı, İFNAR ubiquitasyonu ve degradasyonunu hızlandırmakta, bu şekilde IFNAR seviyeleri düşmekte ve İFN ile uyarılmış antiviral proteinlerin ekspresyonu baskılanmaktadır (208). İAV HA yapısında oluşan değişiklikler, örneğin, H9N2 suşunun H9A ve H0B gibi iki ayrı antijenik bölge oluşturarak humoral immüniteden kaçabildiği gösterilmiştir (209). Ayrıca bir çalışmada H5N1'in aşı ile oluşturulan immüniteden kaçmak için, HA globuler başında N-glikozilasyon alanları eklediği gösterilmiştir (210). İAV NA proteini, HA yapısının NKp46, ve NKp44 doğal sitotoksik reseptörleri tarafından tanınmasını bloke edebilmektedir ve bu sayede NKp46 aracılı eliminasyonu önler ve infekte hücrelerin NK hücreler tarafından temizlenmesini azaltabilmektedir.

İnfluenza A virüsünün NS1 yapısı en önemli IFN antagonist proteinidir, bir çok hedef üzerinde etkili olur ve konak İFN cevabını baskılanmaktadır. NS1 protein TRIM25 aracılı RIG-1 ubiquitasyonunu inhibe ederek, RIG-1 aktivasyonunu bloke edebilmektedir (211). NS1, PKR üzerine de inhibitör etkiye sahiptir, bu sayede IFN üretimi de inhibe edilerek virüs replikasyonu artmaktadır. NS1 proteini hem NF-KB hem de JAK-STAT sinyalizasyonunu bloke ederek *downstream* genlerin ekspresyonunu ve sonuçta antiviral etkinliği zayıflatmaktadır (212). NS1, STAT1, STAT2 ve STAT3 fosforilasyon seviyelerini düşürerek ve STAT2'nin nükleus içine girişini ve DNA sekansında İSG promotor bölgelerine bağlanmasını engeller ve sonuçta İSG ekspresyonu azalır (213, 214). NS1 sadece doğal immün cevap basamaklarını engellemez, DH'lerin maturasyonunu ve T hücre cevabını indüklemeye kapasitelerini etkileyerek adaptif immüniteyi de engellemektedir. NS1'in, hücresel çift sarmallı DNA'ya bağlanarak, RNA polimeraz II (Pol II) ile DNA'nın bir araya gelmesini engellediği ve sonuçta İFN ve ISG transkripsiyonunu bloke ettiği gösterilmiştir (215).

PB1-F2 proteinlerinin de MAVS ile etkileşerek, RLR-aracılı İFN sinyal yolağına karşı durdukları gösterilmiştir (216). PB2 proteininin, viral polimeraz kompleksinin bir üyesi olduğu ve İFN antagonizminde rol oynadığı gösterilmiştir. PB2 de, PB1-F2 proteininin etkisine benzer şekilde, MAVS ile etkileşerek konağın İFN antiviral



cevabından kaçabilmektedir (217). Viral M2 proteininin, TLR yolağının aktivasyonunu inhibe ederek ve konak otofajisini bloke ederek İFN üretimini inhibe ettiği öne sürülmektedir (218).

#### **2.6.4. Primer immün yetmezlikler ve influenza infeksiyonu**

İlginç olarak daha önceden tanımlanmış, ağır kombine immün yetmezlik veya agammaglobulinemi gibi ağır immün yetmezlikler dahil primer immün yetmezlikli çocuklarda ağır influenza virüs infeksiyonlarına yatkınlık görülmemiştir (219, 220). T ve B hücrelerinin influenza virüs veya aşısına karşı immünite gelişiminde önemli olmakla birlikte primer veya sekonder infeksiyonun kontrolünde kritik olmadığı düşünülmektedir (221).

GATA2 eksikliğinin yol açtığı MonoMAC sendromunda ağır influenza infeksiyonundan kaybedilen hastalar bildirilmiştir. Bu sendromda birçok lökosit alt gruplarında azalmanın yanında plazmositoid dendritik hücrelerde de (pDHler) azalma gösterilmiştir (222, 223). STAT1, IL10RB, TLR3 ve Myd88 eksikliği gibi tip I ve Tip III interferon metabolizmasında bozuklukların olduğu PİY'lerde de ağır influenza infeksiyon sıklığında artma bildirilmemiştir.

Ciancanelli ve arkadaşları tarafından 2015 yılında yayınlanan bir yazıda 2.5 yaşında, daha önceden sağlıklı olan bir çocukta, ağır influenza infeksiyonunun nedeni araştırılmıştır. Tüm genom analizi ve Sanger analizleri sonucunda IRF7 geninde iki kompond heterozigot mutasyon saptanmıştır- p.Phe410Val(F410V) ve p.Gln421X(Q421X) çocuğun her iki ebeveyn tek mutant alel için heterozigot bulunmuştur. Her iki mutasyon da fonksiyon kaybı (loss of function) mutasyonu idi. IRF7, virüslere yanıt olarak Tip I ve III interferon cevabını artıran bir transkripsiyon faktörüdür. Bu mutasyonların varlığında İAV infeksiyonu sırasında fibroblastlarda IFN 1, pDH'lerde Tip I ve III IFN üretiminin bozulduğu ve İAV replikasyonunun arttığı gösterilmiştir. Yine IRF7 mutasyonu varlığında hava yolu epitel hücrelerinde de IFN üretimindeki azalmaya bağlı influenza virus yayılımının hızlı ve fazla olduğu gösterilmiştir (3). Bu sayede insanlarda ilk defa bir genetik defektin ağır influenza virus infeksiyonuna yakınlık yarattığı gösterilmiştir. Bu tanımlamanın ardından IRF7

mutasyonu Primer İmmün Yetmezlikler sınıflaması içerisinde yerini almıştır (224). Ancak diğer İFN üretiminin bozulduğu PİY'lerin neden influenza infeksiyonuna yatkınlık yaratmadığı veya infeksiyonun şiddetine pDH'ler veya akciğerdeki hücrelerin tam olarak ne düzeyde katkı yaptığı tam olarak anlaşılamamış konulardır.

Yakın zamanda Hernandez ve arkadaşları da ağır influenza infeksiyonu olan 5 yaşında hastada otozomal resesif homozigot IRF9 eksikliğinin de influenza infeksiyonuna yatkınlık yarattığını tanımlamıştır. IRF9 eksikliğinin İFN cevabının azalmasından daha ziyade İFN'a olan yanıtta bir bozukluğa yol açtığı öne sürülmüştür (225).

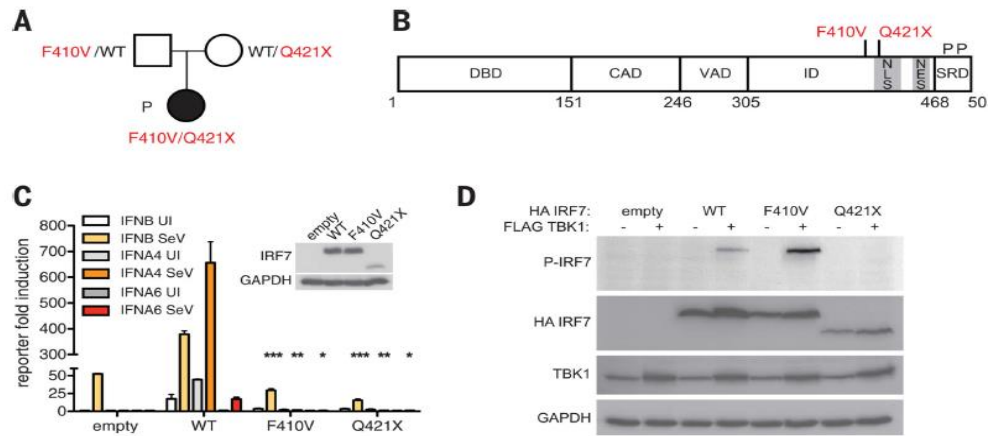


Fig. 2. Autosomal recessive IRF7 deficiency from compound heterozygous mutations

**Şekil 2.6.** Ciancinelli ve arkadaşları tarafından tanımlanan compound heterozigot IRF7 gen mutasyonu (2 No'lu kaynaktan uyarlanmıştır).

### 2.6.5. İnfluenza Virüs İnfeksiyonu Sonrası Bakteriyel Pnömoni Gelişme Mekanizmaları

İnfluenza infeksiyonu sonrası en sık görülen komplikasyon bakteriyel pnömonilerdir. Tipik olarak viral infeksiyondan sonraki 7-10 günden sonra bakteriyel pnömoni görülebilmektedir. İAV sonrası bakteri süperinfeksiyonuna yatkınlık olarak birçok mekanizma üzerinde durulmuştur (Şekil 2.7).

Özellikle viral ifeksiyonun 6-7. günlerinde bakteri ifeksiyonu varlığında akciğerde yoğun nötrofil birikimi görülmektedir. Ancak fonksiyonel olarak yetersiz olan çok sayıda nötrofil hem bakteri temizlenmesini sağlayamamakta, hem de akciğer dokusuna, muhtemelen nötrofil ekstraselüler tuzaklar (NET) oluşturma yoluya, zarar vermektedir (165, 226).

Diğer önemli bir fagositer hücre olan alveoler makrofajların sayısı da influenza ifeksiyonu sonrası azalmaktadır ve sayı yetersizliği nedeniyle özellikle ifeksiyonun 7. gününde akciğerdeki bakteriler temizlenememektedir (227). Ayrıca farklı çalışmalarda, influenza virüs ifeksiyonu ile tip II interferon sinyalinin artması sonucu makrofajlar üzerinde *scavenger* reseptörü MARCO sunumunun azaldığı, reaktif oksijen radikallerinin üretilmesinde bozulma olduğu, antimikrobiyal peptid üretimini bozulduğu gösterilmiştir ve bu mekanizmaların alveoler makrofajların bakteri öldürme kapasitelerini azalttığı ve pnömoni gelişimine katkı sağladığı düşünülmektedir (228, 229).

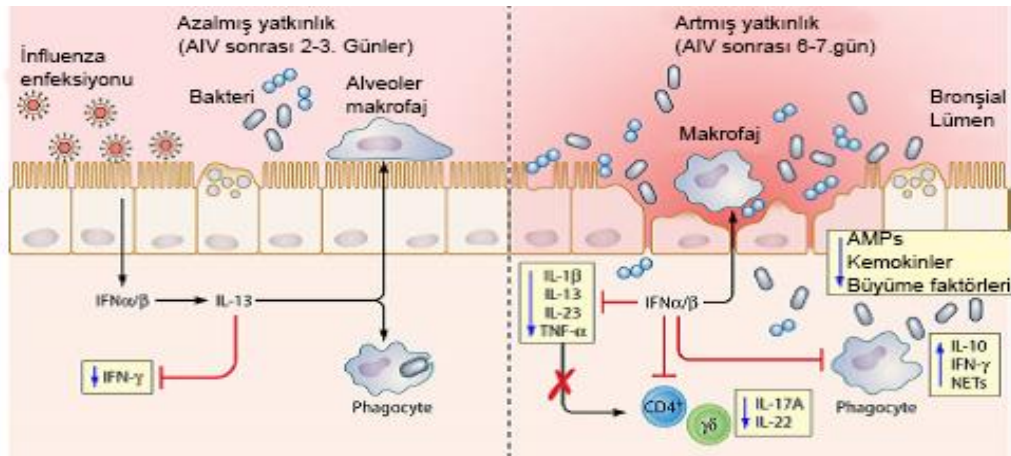
Influenza virüs ifeksiyonuna yanıt olarak oluşan Tip I İFN yanıtı nötrofillerin toplanmasını ve/veya bakterisidal kapasitelerini olumsuz etkileyebilir (230, 231). Tip I İFN sinyali, IL-23, IL-1 $\beta$ , ve tip 17 immün regülatör sitokinlerin üretilmesini inhibe ederek T-hücre aracılı immün cevabı olumsuz etkileyebilir (232, 233).

T hücrelerin influenza ifeksiyonu sonrası oluşan tip 1 cevabı, IL-12 üretimi ve IFN- $\gamma$  üretimini artması şeklindedir. Yapılan çalışmalarda antiviral Th1 sitokin cevabının IFN- $\gamma$  üretimi ve TNF- $\alpha$  azalması yoluyla bakteriyel ifeksiyona yatkınlık oluşturduğunu göstermektedir (228, 234). Tip 2 sitokin cevabında yer alan IL-13 seviyelerinde artış erken influenza ifeksiyonu döneminde bakteri ifeksiyonlarına karşı koruyucu iken 7.gün civarı IL-13 seviyelerinin düşmesi ve anti-inflamatuar IL-10 seviyelerinin artması süperifeksiyona yatkınlık yaratmaktadır (226, 235). Th 17 tipi sitokin yanıtının IL-17 ve IL-22 ile fagositer hücrelerin toplanması ve antimikrobiyal peptitlerin üretimine yol açarak bakterilerin temizlenmesini sağlamaktadır (229, 233). Ancak influenza virüs ifeksiyonu sonrası CD4<sup>+</sup> ve  $\gamma\delta$  T hücrelerinden bakteri ifeksiyonu sırasındaki IL-17 üretimi baskılanmıştır ve bu şekilde süperifeksiyona yatkınlık oluşur (236).

Tip 2 innate lenfoid hücrelerin (ILC2) IL-13 üretimi yoluyla süperinfeksiyondan koruyucu rolü olduğu öne sürülmektedir.

İnfluenza virüs infeksiyonu sonrası bakteri infeksiyonuna yatkınlık yaratan bir diğer mekanizma, solunum yolu epitelinde hasara yol açarak bakterilerin tutunmasına olanak sağlamasıdır. Virüsün nöraminidaz yapısı solunum yolu epitelindeki sialik asit rezidülerini parçalar ve özellikle pnömokokların tutunmasını sağlar. Bunun yanında influenza infeksiyonundan sonra 2-6 hafta kadar süren, makrofajların Toll-Like reseptör ligandlarında desensitizasyon olduğu ve bu nedenle nötrofil ve makrofaj kemoatraktanlarının daha az üretildiği gösterilmiştir (237).

Sonuç olarak influenza infeksiyonu hem doğal hem adaptif immün cevapta yol açtığı değişikliklerle bakteriyel süperinfeksiyona yatkınlık yaratmaktadır.



**Şekil 2.7.** İnfluenza infeksiyonu sonrasında bakteriyel pnömoniye yatkınlığın gelişme mekanizmaları (226 No'lu kaynaktan uyarlanmıştır).

## 2.6. Solunum Yetmezliği

Tanım olarak SY solunum sisteminin oksijen ve/veya karbondioksit gaz alış-verişini sağlayamayacak şekilde bozulması ile karakterize bir sendromdur (238). Yeni bir hastalık başlangıcı ile saatler ya da günler içinde gelişirse akut SY, altta yatan hastalığın ilerlemesine bağlı olarak aylar veya yıllar içinde gelişirse kronik SY olarak tanımlanabilir. Kronik solunum yetmezliği hastalarında akut kötüleşmeler görülebilir.

Pulmoner ya da non-pulmoner hastalıklar solunum mekaniğini etkileyerek solunum yetmezliğine neden olmaktadır. Burada altta yatan hastalık tedavi edilirken oksijen destek tedavi verilerek doku oksijenizasyonu sağlanmalıdır. Oksijen destek tedavinin yetersiz olduğu düşünölen solunum sıkıntısı olan hastalarda mekanik ventilasyon maske yardımı ile noninvaziv ya da endotrakeal tüp/trakeostomi kanülü ile invaziv olarak uygulanabilir. Solunum yetmezliğinin monitörizasyonu iyi yapılmalı, kritik hasta hızla kötüleşerek solunum arresti olabilir.

Akut solunum yetmezliği klinik olarak hipoksemik ve hiperkapnik solunum yetmezliği olarak tanımlansa da fizyopatolojik olarak 4 grupta incelenmektedir.

**Hipoksemik (Tip I) SY'de** arter kan gazında parsiyel oksijen basıncı ( $\text{PaO}_2$ ) < 60 mmHg iken normal ya da düşük parsiyel karbondioksit basıncı ( $\text{PaCO}_2$ ) izlenmektedir. Kardiyak ve pulmoner hastalıklarda sıklıkla Tip I solunum yetmezliği gelişmektedir. Arteriyel oksijen parsiyel basıncının ( $\text{PaO}_2$ ) 80 mmHg'nın altında olmasına hipoksemi denilirken 60 mm Hg'nın altında olmasına hipoksemik solunum yetmezliği denilmektedir. Örneğin: 30 yaşında pnömoni hastası  $\text{PaO}_2 = 70$  mmHg ise hipoksemiktir, ancak hipoksemik solunum yetmezliği yoktur. Hipokseminin derecelendirilmesi yapılabilir;

**Hafif hipoksemi:**  $60 \text{ mmHg} \leq \text{PaO}_2 < 80 \text{ mmHg}$

**Orta hipoksemi:**  $40 \text{ mmHg} \leq \text{PaO}_2 < 60 \text{ mmHg}$

**İleri hipoksemi:**  $\text{PaO}_2 < 40 \text{ mmHg}$

Doku oksijenizasyonu için hedef; PaO<sub>2</sub>: 60 mmHg ve SaO<sub>2</sub>: %90 olmalıdır. Bu değerlerin altında doku oksijenizasyonu bozulmaktadır.

**Hiperkapnik (Tip II) SY'de** arter kan gazında PaCO<sub>2</sub> ≥45 mmHg iken hasta oda havası solurken hipoksemi genellikle eşlik etmektedir. Kronik SY'de hastanın bazal PaCO<sub>2</sub> değerinde 5 mm Hg artış olması anlamlıdır. Hipoventilasyon, fizyolojik ölü boşluk solunumunda artma, V/Q dengesizliği ve karbondioksit üretiminde artmaya bağlı gelişebilir. Buradaki en önemli mekanizma yukarıda da bahsedildiği gibi hipoventilasyondur.

### **Oksijen tedavisi**

Oksijen destek tedavisinde, yüksek ve düşük akımlı sistemler kullanılmaktadır. Solunum yemezliğinin tedavisinde invaziv ve noninvaziv mekanik ventilasyon kullanılmaktadır (239). Yüksek ve düşük akımlı sistemler, hastane oksijenini akım sağlayan hazneli bir sistemle alırken mekanik ventilatörler direkt jakı ile hastanenin merkezi oksijen sistemine bağlanmaktadır. Normalde oda havasında FiO<sub>2</sub> %21 dir. Hastaya sunulan FiO<sub>2</sub> hastanın pik inspiratuvar akım hızı, oksijeni sunan sistem (oksijen konsantratörü, tüp ya da merkezi hastane oksijeni), maske özellikleri ve hastanın solunum paternine göre değişmektedir.

**Özetle**, influenza infeksiyonu yaygın görülen ve risk altındaki bireylerde ölüme yol açabilen bir infeksiyondur. İnfeksiyon ve komplikasyonlarına yatkınlık yaratacak geleneksel risklerin yanında ilk olarak bir çocuk hastada IRF7 eksikliği ile seyreden primer immün yetmezlik tanımlandı. Bu çalışma ile ağır influenza virus infeksiyonu gelişen erişkin hastalarda lenfosit alt gruplarının dağılımını tespit etmeyi ve IRF7 gen mutasyonu varlığının araştırılmasını amaçladık.

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

#### 3.1. Olguların Seçimi ve Araştırmaya Dahil Edilmesi

Bu araştırmaya Kasım 2016- Mart 2017 ve Kasım 2017-Mart 2018 yılları grip sezonlarında Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Erişkin Hastanesi İç Hastalıkları Servislerinde influenza virus enfeksiyonu olan ve solunum yetmezliği eşlik eden 32 hasta dahil edilmiştir.

İç Hastalıkları servisleri, Yoğun Bakım Üniteleri ve Akut Bakım servisinde yatmakta olan hastalardan, influenza şüphesiyle Merkez Laboratuvarına gönderilen solunum yolu örneklerinde viral panel bakılan ve influenza A veya B antijeni pozitif gelen hastalar tespit edilmiştir. Ağır influenza virus enfeksiyon tablosu olarak solunum yetmezliği olan hastalar hedeflenmiştir. Bu hastalardan, başvurularında veya enfeksiyon döneminde solunum yetmezliği olan hastalar araştırmaya davet edilmiştir. Solunum yetmezliği varlığı (tip 1 veya tip 2 solunum yetmezliği) hastaların arter kan gazı sonucuna göre veya solunum desteği ihtiyacına göre belirlenmiştir. Entübe olan veya başka nedenle bilinci kapalı olan veya iletişim kurulamayan hastaların yakınlarına araştırma ile ilgili bilgi verilmiş ve gönüllü olur formunu imzalayan ve araştırmaya katılmayı kabul edilen hastalar dahil edilmiştir. Araştırmaya 18 yaş ve üzerindeki hastalar dahil edilmiştir. Aktif kanser hastalığı olan ve/veya kemoterapi veya radyoterapi altındaki hastalar çalışmaya dahil edilmemiştir.

Araştırmaya dahil edilen hastalara demografik bilgilerini ve tıbbi bilgilerini içeren “olgu formları” doldurulmuştur. Hastaların mevcut kronik hastalıkları, almakta olduğu tedaviler, immün sistemi baskılayıcı ilaç kullanıp kullanmadıkları, kullanıyorlarsa dozları ve kullanım süreleri, hastaneye başvuru semptomları (nefes darlığı, ateş, öksürük, balgam) ve başvuru anındaki klinik tabloları, uygulanan solunum desteği çeşitleri (nasal oksijen, invaziv olmayan mekanik ventilasyon, invaziv mekanik ventilasyon), başvuru anındaki akciğer grafisi (pnömonik infiltrasyon varlığı), enfeksiyona yönelik uygulanan tedaviler (antiviral, antibiyotik), yoğun bakım ihtiyacının olup olmaması, yatış süreleri ve hastane sürecinin (ölüm, şifa ile taburculuk) nasıl sonuçlandığı kaydedilmiştir.

IRF7 gen mutasyonu aranması ve T ve B lenfosit alt gruplarının analizi amacıyla DNA eldesi ve akım sitometri ölçümleri için EDTA'lı tüpe 3 cc. kan alınmıştır.

Akım sitometri ile lenfosit alt grup analizleri aynı gün içerisinde gerçekleştirilmiştir. IRF7 gen analizi için DNA izolasyonu yapılarak örnekler -20°de dondurularak saklanmıştır.

### **3.2. Laboratuvar Çalışmaları**

Bu araştırmada, laboratuvar çalışmaları Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Çocuk İmmünoloji Bilim Dalı Laboratuvarlarında ve buradaki cihazlar kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

#### **3.2.1. Olgu DNA'larının Eldesi ve IRF7 Gen Analizi**

##### **DNA İzolasyonu**

EDTA'lı tüpler içinde bulunan hasta ve kontrollere ait kan örneklerinden, QIAGEN BioRobot EZ1 cihazında QIAGEN EZ1 DNA Blood 200µL Kit kullanılarak DNA izole edildi. Kit protokolüne uygun olarak 2 ml'lik ependorf tüpleri içine 200 µL kan pipetlendi. Pipetlemeden önce kan örnekleri homojenize edildi. Uygun EZ1 Kan kartuşları, Biorobot EZ1 kartuş yuvalarına yerleştirildi. 1,5 ml'lik DNA elüsyon tüpleri ve filtreli uçların koyulduğu uç tutucular Biorobot EZ1 cihazında bulunan yerlere uygun bir şekilde yerleştirildi. Biorobot EZ1 cihazı çalıştırılarak "Protocols" menüsünden uygun protokol seçilerek "START" tuşuna basıldı. Otomatik pürifikasyon işlemi yaklaşık 17-23 dakika sürdü. Pürifiye genomik DNA'yı içeren elüsyon tüpleri, RT-qPCR çalışması yapılana kadar -20°C'de saklandı.

##### **PCR Protokolü**

Her bir örnek tüpü için 1 µl DNA örneği (1/10 sulandırılarak alındı), 1 µl ileri primer (10 pmol), 1 µl geri primer (10 pmol), 2,5 µl buffer, 2.5 µl 25 mM MgCl<sub>2</sub>, 0.2 µl konsantrasyon 2 mM olacak şekilde dATP, dGTP, dCTP, dTTP karışımı (Fermentas, Litvanya), 0.3 µl Taq DNA Polimeraz (Fermentas, Litvanya) koyuldu. Son hacim 20 µl'ye



ddH<sub>2</sub>O ile tamamlanarak polimeraz zincir reaksiyonu gerçekleştirildi. PCR protokolü aşağıda belirtilmiştir.

**Tablo 3.1.** PCR protokolü.

Reaksiyon Aşamaları	Sıcaklık (°C)	Süre, Döngü Sayısı
İlk Denatürasyon	95	10 dakika 1
Denatürasyon	95	15 saniye
Bağlanma (Annealing)	Primere göre TM değişir	1 dakika 35
Uzama (Extension)	72	30 saniye
Son Uzama	72	5 dak 1
Soğutma	4	sonsuz –

### Agaroz Jel Elektroforezi

Agaroz, kırmızı alg cinsleri olan *Gelidium* ve *Gracilaria*'dan izole edilen doğrusal bir polisakkarittir. Agaroz sıcak suda çözündürülüp soğutulduğu zaman, polimerizasyon ile karşılıklı hidrojen bağlarının oluşumu sonucunda jel yapısına dönüşür. Bu oluşum geri dönüşümlüdür. %2'lik jel hazırlamak için 2 gr agaroz (Lonza, Rockland, USA) ve 100 ml Tris Borik EDTA (TBE) tamponu (Dr. Zeydanlı Hayat Bilimleri, Türkiye) içerisinde 3 dakika mikrodalga fırında kaynatma yolu ile çözündürüldü. Agaroz jel, Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) sonuçlarını görüntüleme amacıyla kullanıldı. Hazırlanan agaroz jele yüklenen örnekler elektriksel alanda belirli bir süre boyunca boyutlarına ve moleküler ağırlıklarına göre ayrıştırıldı.

### Dizi Analizi Protokolü

IRF7 gen analizi, tek gen analizinde altın standart olan Sanger dizi analizi yöntemi ile yapıldı. Her örnek için 4 µl BigDye (AB Austin TX 78744,USA), 3.3 pmol uygun primer (ileri veya geri), 1 µl PCR ürünü, 14 µl ddH<sub>2</sub>O 0.2'lik steril tüplere eklenerek belirtilen protokole göre ABI Prism (9700) Termal Cyclers amplifiye edildi. Dizi analizi reaksiyonu için PCR protokolü Tablo 3.2'de belirtilmiştir.

**Tablo 3.2.** Dizi Analizi PCR Protokolü

Reaksiyon Aşamaları	Sıcaklık (°C)	Süre Döngü Sayısı
Denatürasyon	96	10 saniye
Bağlanma (Annealing)	50	5 saniye 25
Uzama (Extension)	60	4 dakika
Soğutma	4	sonsuz –

### Pürifikasyon Protokolü

- 240 µl sekans bağlama tamponu 5–20 µl sekans reaksiyonu üzerine eklendi.
- *Zymo-Spin™ IB* kolonları toplama tüplerine yerleştirildi.
- 13.000 rpm'de (15,000 – 16,000 x g) 30 saniye santrifüj edildi.
- 300 µl sekans yıkama tamponu kolonlara eklendi. 13.000 rpm'de (15,000 – 16,000 x g) 30 saniye santrifüj edildi. Kolon filtrelerinin üzerine 20 µl distile su eklendi.
- Kolonlar 1,5 ml'lik mikrosantrifüj tüplerine yerleştirildi ve 13.000 rpm'de (15,000–16,000 x g) 15 saniye santrifüj edildi. Elde edilen pürifiye örnekler analiz edilene kadar karanlık ortamda tutuldu.

### **Dizi Analizi Yapılan Örneklerin Pürifikasyonu**

Dizi analizi PCR'ı biten örnekler ZymoResearch ticari kiti kullanılarak pürifiye edildi ve analizi için ABI 3130 dizi analizi cihazına 1 µl pürifiye örnek, 20 µl dH<sub>2</sub>O eklenerek yüklendi.

### **IRF7 Geni Mutasyon Taraması**

Muhtemel IRF7 gen mutasyonu olduğu düşünülen hastalardan elde edilen DNA örneklerinde uygun primerler (Tablo 3.3) kullanılarak *IRF7* genindeki görülebilecek mutasyonların varlığı araştırılmıştır. *IRF7* geninin 9 ekzonu bulunmaktadır.

**Tablo 3.3.** IRF7 geni için tasarlanan primer dizileri.

<b>EXON No</b>	<b>Forward primer</b>	<b>Reverse primer</b>	<b>Sekans boyutu</b>
1	gcccttacctcccctgttat	ggggacagaacacgtgtg	421
2	gcacacgtgttctgtccc	tgaccagagaatgttcccc	420
3	cctgccccattctctctcag	gggaaaagtcagggtgaacg	217
4	tgcttacgttcaccctgact	attctccagctccccaatcc	422
5	ggattggggagctggagaat	cccctctcacCTGTCGTTAG	248
6	agggagaggctaggatgag	ccttctgggatgcactca	286
7-1	cactcacagcttggtctcca	AGCAGTTCCTCCGTGTAGC	309
7-2	GAGCTCCCGGACCAGAAG	tctgctgagtacctggca	358
8	TCTTCCAAGGtcagtgagc	agtgaccgggtgatggc	495
9	gccatacaccgggtcact	gttcagcctggaccaatc	504

### 3.2.2. Akım Sitometri

Olgularda EDTA'lı tüplere 3 cc kan toplandı. 5 ml'lik polistren kapaksız tüplerin içine 1 ml kan ve 4 ml PBS (*phosphate buffered saline*) pipetlendi. Tüplerin ağzı parafilm ile kapatıldı. Dakikada 2000 devirde (*round per minure/RPM*) 10 dakika santrifüj edildi. Süpernatant atıldı. B hücre alt grupları için 2 farklı 5 ml'lik polistren kapaksız tüp içine 100'er µL PBS ile yıkanmış kan pipetlendi. B hücre alt grupları için 1. tüpe; PerCP-işaretli anti-CD19, APC-işaretli anti-CD27, PE-işaretli anti-IgM ve FITC-işaretli anti-IgD monoklonal antikorlarından 10'ar µL, 2. tüpe; APC-işaretli anti-CD21, FITC-işaretli anti-CD38, PerCP-işaretli anti-CD19 ve PE-işaretli anti-IgM monoklonal antikorlarından 10'ar µL pipetlendi. Vorteks ile kısa süre karıştırıldı ve 20-25 dakika oda ısısında

karanlıkta bekletildi. Daha sonra her bir tüpe 1000 µL BD-Lysing Solution eklendi. Vorteks ile kısa süre karıştırıldı ve 8-10 dakika oda ısısında karanlıkta bekletildi. Bütün tüpler 1300 RPM'de 5 dakika santrifüj edildi. Süpernatant atıldı. Bütün tüplere 1000 µL PBS eklendi. Dakikada 1050 devirde 5 dakika santrifüj edildi. Süpernatant atıldı. Bütün tüplere 1000 µL PBS eklendi. Vorteks ile kısa süre karıştırıldı. Applied Biosystems™ Attune™ Acoustic Focusing Cytometer cihazı ile değerlendirildi. Granülaritelerine ve büyüklüklerine göre lenfoid hücreler seçildi. Seçilen hücrelerin arasından CD19<sup>+</sup> olanlar seçildi. Ardından CD27 ve IgD ifadelerine göre naif B hücreler R3 kapısından, marjinal zon benzeri B hücreler R4 kapısından, izotip dönüşümü yapmış hafıza B hücreler R5 kapısından, aktif B hücreler R6 kapısından seçildi. IgD ve CD38 ifadelerine göre R7 kapısından transisyonel B hücreler ve R8 kapısından plazmablastlar seçildi. Seçilen hücrelerin yüzey belirteçleri aşağıdaki gibidir;

**Tablo 3.4.** B hücre alt gruplarının yüzey belirteçleri.

<b>B hücre altgrupları</b>	
Naif B hücre	CD19 <sup>+</sup> CD27 <sup>-</sup> IgD <sup>+</sup>
Marjinal bölge B hücre	CD19 <sup>+</sup> CD27 <sup>+</sup> IgD <sup>+</sup>
İzotip dönüşümü yapmış hafıza B hücre	CD19 <sup>+</sup> CD27 <sup>+</sup> IgD <sup>-</sup>
Transisyonel B hücre	CD19 <sup>+</sup> IgD <sup>+</sup> CD27 <sup>-</sup> CD38 <sup>++</sup>
Aktif B hücre	CD19 <sup>+</sup> CD21 <sup>low</sup> CD38 <sup>low</sup>
Plazmablast	CD19 <sup>low</sup> CD21 <sup>+</sup>

**T lenfositlerin seçilmesi:**

Olgulardan EDTA'lı tüpe 3 cc kan alındı. 5 ml'lik polistren kapaksız tüplerin içine 1 ml kan ve 4 ml PBS (*phosphate buffered saline*) pipetlendi. Tüplerin ağzı parafilm ile kapatıldı. Dakikada 2000 devirde (round per minure/RPM) 10 dakika santrifüj edildi. Süpernatant atıldı. T hücre alt grupları için 2 farklı 5 ml'lik polistren kapaksız tüp içine 100'er µL PBS ile yıkanmış kan pipetlendi. T hücre alt grupları için 1. tüpe; uygun boyaları içeren anti-CD4, anti-CCR7, anti-CR45RA 10'ar µL, 2. tüpe; anti-CD8, anti-CCR7, anti-CR45RA monoklonal antikolarından 10'ar µL pipetlendi. Vorteks ile kısa süre karıştırıldı ve 20-25 dakika oda ısısında karanlıkta bekletildi. Daha sonra her bir tüpe 1000 µL BD-Lysing Solution eklendi. Vorteks ile kısa süre karıştırıldı ve 8-10 dakika oda ısısında karanlıkta bekletildi. Bütün tüpler 1300 RPM'de 5 dakika santrifüj edildi. Süpernatant atıldı. Bütün tüplere 1000 µL PBS eklendi. Dakikada 1050 devirde 5 dakika santrifüj edildi. Süpernatant atıldı. Bütün tüplere 1000 µL PBS eklendi. Vorteks ile kısa

süre karıştırıldı. Applied Biosystems™ Attune™ Acoustic Focusing Cytometer cihazı ile değerlendirildi. Granülaritelerine ve büyüklüklerine göre lenfoid hücreler seçildi. Seçilen hücrelerin arasından CD4<sup>+</sup> olanlar seçildi. Ardından CCR7 ve CD45RA ifadelerine göre naif T hücreler R3 kapısından, Merkezi (santral) hafıza yardımcı T hücreler R4 kapısından, Effektör hafıza yardımcı T hücre R5 kapısından, T<sub>EMRA</sub> yardımcı T hücreler R6 kapısından seçildi. İkinci tüpteki CD8<sup>+</sup> hücreler seçildi ve CCR7 ve CD45RA ifadelerine göre naif T hücreler R3 kapısından, merkezi hafıza sitotoksik T hücreler R4 kapısından, efektör hafıza sitotoksik T hücreler R5 kapısından, T<sub>EMRA</sub> sitotoksik T hücreler R6 kapısından seçildi. Seçilen hücrelerin yüzey belirteçleri aşağıdaki gibidir;

**Tablo 3.5.** T hücre alt gruplarının yüzey belirteçleri.

<b>CD4+T lenfosit</b>	CD4 <sup>+</sup>
Naif yardımcı T hücre	CD4 <sup>+</sup> CCR7 <sup>+</sup> CD45RA <sup>+</sup>
Merkezi hafıza yardımcı T hücre	CD4 <sup>+</sup> CCR7 <sup>+</sup> CD45RA <sup>-</sup>
Effektör hafıza yardımcı T hücre	CD4 <sup>+</sup> CCR7 <sup>-</sup> CD45RA <sup>-</sup>
T <sub>EMRA</sub> yardımcı T hücre	CD4 <sup>+</sup> CCR7 <sup>-</sup> CD45RA <sup>+</sup>
<b>CD8+T lenfosit</b>	CD8 <sup>+</sup>
Naif sitotoksik T hücre	CD8 <sup>+</sup> CCR7 <sup>+</sup> CD45RA <sup>+</sup>
Merkezi hafıza sitotoksik T hücre	CD8 <sup>+</sup> CCR7 <sup>+</sup> CD45RA <sup>-</sup>
Effektör hafıza sitotoksik T hücre	CD8 <sup>+</sup> CCR7 <sup>-</sup> CD45RA <sup>-</sup>
T <sub>EMRA</sub> sitotoksik T hücre	CD8 <sup>+</sup> CCR7 <sup>-</sup> CD45RA <sup>+</sup>

### **Değerlendirme ve İstatistiksel Analiz**

İstatistiksel değerlendirmeler SPSS 20.0 programı kullanılarak (SPSS Inc., Chicago, Illionis) yapıldı. Tanımlayıcı istatistikler kullanıldı. Nümerik değerler ortanca (minimum-maksimum), kategorik değerler sayı ve yüzde şeklinde ifade edildi.

### **Etik Kurul İzni**

Çalışma Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu GO 17/114 karar numaralı etik kurul izni ile gerçekleştirildi ve Hacettepe Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Birimi tarafından 05.10.2017 tarihinde THD-2017-14742 numaralı proje olarak desteklendi.



## 4. BULGULAR

Kasım 2016- Mart 2017 ve Kasım 2017-Mart 2018 yılları influenza sezonlarında, influenza infeksiyonuna bağlı solunum yetmezliği nedeniyle Hacettepe Üniversitesi İç Hastalıkları Ana Bilim Dalı servislerinde izlenen 32 hasta çalışmaya dahil edildi.

### 4.1. Olguların Demografik ve Klinik Özellikleri

Hastaların median yaşı 67 (26-96) yıl idi ve 21'i kadındı; 13'ü yoğun bakım ünitesinde izlendi; 5 hastaya invaziv, 13 hastaya non-invaziv mekanik ventilasyon uygulandı. Median yatış süresi 11.5 (4-56) gündü ve 3 hasta exitus oldu (Tablo 4.1). Hastaların 29'unda en az bir kronik medikal hastalık bulunmaktaydı. En sık eşlik eden hastalıklar KOAH (13/32, %90.7), kalp hastalıkları (kalp yetmezliği ve koroner arter hastalığı) (12/32), astım (7/32) ve Diabetes mellitus (7/32) idi. Bilinen kronik hastalığı olmayan bir hasta hastane yatışı sırasında kolon adenokarsinoma tanısı aldı. Hastaların ayrıntılı klinik özellikleri Tablo 4.2'de verilmiştir.

Hastalarda influenza virus infeksiyonu solunum yolundan alınan örneklerde viral PCR bakılarak tespit edilmiştir. Araştırmaya dahil edilen olguların hepsinde İAV saptandı (Tablo 4.2). İki olguda İAV ve İBV birlikte görülürken, 1 olguda İAV, İBV ve RSV birlikteliği, 1 olguda İAV ve RSV birliği, bir olguda İAV ve Parainfluenza, bir olguda İAV ve Bocavirüs, 1 hastada İAV ve rhinovirüs birlikteliği gözlemlendi. 4 hastada FluAH1pdm09 suşu, diğer hastalarda H3 suşu gözlemlendi.

Olguların en sık hastane başvuru şikayeti nefes darlığı idi ve 31 olguda başvuru anında mevcuttu. Hastaneye başvuru sırasında 15/32 hastada ateş eşlik eden şikayet iken, öksürük ve/veya balgam olguların 19'unda mevcuttu (Tablo 4.2). Üç hastada başvuru anında veya kısa süre sonrasında kardiyopulmoner arrest mevcut idi.

Başvuru ve ilk yatış anındaki klinik tanıların dağılımı; pnömoni (21/32), dekompanse kalp yetmezliği (6/32), KOAH alevlenme (5/32) ve astım atağı (2/32) şeklindeydi. Bunların dışında genel durum bozukluğu, akut gelişen hipoksi, ishal,

kardiyopulmoner arrest de başvuru anındaki klinik tablolar arasında görüldü. Hastaların tümüne antiviral tedavi olarak oseltamivir, 4 hasta dışında tüm hastalara antibakteriyel tedavi olarak geniş spektrumlu antibiyotik başlandığı görüldü.

Hastaların akut faz cevabına bakıldığında, en sık rastlanan bulgu c-reaktif protein yüksekliği idi; 28 (%87.5) hastada yüksek ( $>0.5$ ) saptanırken, eritrosit sedimentasyon hızı 13 (%40.6) hastada yüksek ( $>20$  mm/st) saptandı. Lökositoz sadece 5 hastada dikkati çeken bulguydu. Nötropeni ( $<1500/\text{mm}^3$ ) olguların hiçbirinde yok iken olguların 18'inde lenfosit sayısı  $1500/\text{mm}^3$ 'ün altında idi. Akciğer grafisinde veya akciğer tomografisi ile infiltrasyon saptanan hasta sayısı 23 (%71.8) idi. Hastaların 10 tanesinde akut böbrek yetmezliği (Glomeruler filtrasyon hızı  $<60$  ml/dk/1.73 m<sup>2</sup>) tablosu mevcut iken sadece 2 hastada akut karaciğer hasarı mevcut idi.

Olguların 22'sinde solunum yolu örneklerinden kültür gönderilmiş olduğu tespit edildi. Bu 22 olgunun 11'inde bir mikroorganizma ürediği görüldü. Üç olguda *Candida* türleri, 2 olguda *Enteobacter* türleri, 2 olguda *Pseudomonas aeruginosa* tespit edildi. *S.pneumoniae*, *Serratia marcescens*, *Escherischia coli* ve *Acinetobacter baumannii* birer olgunun solunum yolu örneklerinde izole edildiği görüldü. Bu üremeler Tablo 4.2'de verilmiştir. Exitus olan olgular *Acinetobacter* ve *Candida* üremesi olan iki olgu idi. Exitus olan üçüncü olgunun solunum yolu kültürü yoktu.

Tablo 4.1. Olguların hastaneye başvuru anındaki klinik özellikleri

<b>Olgu sayısı toplam</b>	32	<b>Cinsiyet, sayı</b> Kadın, sayı (%) Erkek, sayı (%)	21(65,6) 11(34,4)
<b>Yaş, ortanca (minimum-maksimum), yıl</b> <b>≥65 yaş hasta sayısı, sayı (%)</b>	67 (26-96) 19 (%59)	<b>Yatış süresi, ortanca (minimum-maksimum), gün</b>	11,5 (4-56)
<b>Solunum desteği</b> Nasal-maske, sayı (%) NIMV, sayı (%) İMV, sayı (%)	14 (43,8) 13 (40,6) 5 (15,6)	<b>Başvurudaki klinik tablo</b> Pnömoni KOAH alevlenme Astım atak Dekompanse kalp yetmezliği Diğer	21 (65) 5(15,6) 2 (6,2) 6 (18,6) 3 (9,3)
<b>Sonuç</b> Exitus, sayı (%) Taburcu, sayı (%)	3 (9,3) 29(90,7)	<b>Başvuru şikayeti</b> Nefes darlığı Ateş Arrest	31 (96,8) 15 (46,8) 3(9,3)
<b>Eşlik eden hastalıklar</b> En az bir komorbid hastalık olan KOAH, sayı (%) Astım, sayı (%) DM, sayı (%) Kalp hastalığı (KAH-KKY) , sayı (%) İmmüsupresif tedavi, sayı (%)	29 (90,7) 13(40,6) 7 (21,8) 7(21,8) 12 (37,5) 3(9,3)	<b>Laboratuvar bulguları</b> ESR yüksekliği (>30 ) CRP yüksekliği (>0.5) Lökositoz (>10.000 /µl) Lökopeni (<1500/mm <sup>3</sup> ) Nötropeni (<1500/mm <sup>3</sup> ) Akciğer infiltrasyonu (PAAC ve/veya tomografi) Solunum yolu örnek kültürlerinde üreme varlığı Akut böbrek hasarı (GFR<60 ml/dk/1.73 m <sup>2</sup> ) Akut karaciğer hasarı (ALT, AST >3xÜL)	13(40,6) 28 (87,5) 5(15,6) 18 (56) 0 (0) 23 (71,8) 11/22 10 (31,2) 2 (6,2)

NIMV: non-invaziv mekanik ventilasyon, İMV: invaziv mekanik ventilasyon, KOAH: kronik obstruktif akciğer hastalığı, DM: diabetes mellitus, KAH: koroner arter hastalığı, KKY: konjestif kalp yetmezliği, ESR: eritrosit sedimentasyon hızı, CRP: c-reaktif protein; PAAC: posteroanterior akciğer grafisi, GFR: glomerüler filtrasyon hızı, ÜL; üst limit.

**Tablo 4.2.** Olguların hastaneye başvuru anındaki klinik özellikleri, olgu bazında.

Hasta no	Yaş	Komorbid hastalıklar	Oksijen desteği şekli	İnfluenza tipi	Öksürük /balgam	Klinik tablo	Solunum yolu Sekresyonu sonuçları	kültür	Sonlanım	Akciğer infiltrasyonu (akciğer grafi/BT)	Ateş
1	63	Yok	Nasal	A (H3)	-/-	İshal	<i>Serratia marcescens</i>		Sağ	Yok	Var
2	81	HT, Astm, DM, Temporal arterit, AF	NIMV	A(H3)	+/+	Pnömoni, Dekompanse kalp yetmezliği	Kültür yok		Sağ	Var	Yok
3	34	Yok	Nasal	A(H3), B	-/-	Akut hipoksi	Üreme olmadı		Sağ	Yok	Var
4	78	KKY HT KBH KAH KOAHA	Nasal	A(H3)	-/-	Dekompanse kalp yetmezliği	Kültür yok		Sağ	Var	Yok
5	65	KOAHA KKY AF RA (immünespresif)	Ventüri	A (H3), Bocavirüs	+/+	KOAHA alevlenme	Üreme olmadı		Sağ	Yok	Yok
6	82	KKY, KAH, HT, T2DM, KOAHA	Nımv	A(H3)	+/+	Pnömoni, Dekompanse kalp yetmezliği	Kültür yok		Sağ	Var	Yok

7	67	HT, Astm	Nasal	A(H3)	+/+	Pnömoni	Üreme olmadı	Sağ	Var	Var
8	89	KOAH, HT RCC (kür)	Nasal	A(H3)	+/+	Pnömoni	Üreme olmadı	Sağ	Var	Yok
9	73	Yok	Nasal	A(H3)	+/-	Pnömoni	Üreme olmadı	Sağ	Var	Var
10	83	Meme ca (kür) Tiroid papiller ca (kür) KKY HT AF Hipotiroidi	IMV	A(H3)	-/-	Pnömoni	Candida spp.	Exitus	Yok	Yok
11	94	Esansiyel trombositoz HT AF	Nasal	A(H3), B	+/-	Pnömoni	Üreme olmadı	Sağ	Var	Var
12	95	Endometrium ca(kür) Meme Ca(kür) HT Psoriatik artrit KBH	Nasal	A(H3)	+/+	Pnömoni	Üreme olmadı	Sağ	Var	Var
13	96	KOAH Demans	NIMV	A(H3)	-/-	Genel durum bozukluğu, ajitasyon	Kültür yok	Exitus	Yok	Yok
14	66	HT DM KAH AF KY	NIMV	A(H3)	-/-	Dekompanse kalp yetmezliği	Candida spp.	Sağ	Var	Yok

15	68	KOAH	IMV	A(H3)	+/+	Kardiyak arrest, septik şok	Candida spp.	Sağ	Var	Var
16	85	HT KKY AF	NIMV	A(H3)	-/-	Pnömoni	<i>Enterobacter spp.</i>	Sağ	Var	Yok
17	67	DM HT KAH	Nasal	A(H3)	+/-	Akut hipoksi	Kültür yok	Sağ	Yok	Var
18	59	Astım KOAH KAH Behçet DM Hipotiroidi	Nasal	A(H3)	+/+	Pnömoni	<i>Escherichia coli</i>	Sağ	Yok	Var
19	63	KOAH-HT	NIMV	A(H3)	-/-	KOAH alevlenme	Üreme olmadı	Sağ	Yok	Yok
20	64	DM KAH KKY	NIMV	A(H3), B, RSV	-/-	Dekompanse Kalp yetmezliği, pnömoni	Üreme olmadı	Sağ	Var	Var
21	45	Morbid obezite	IMV	A(H3)	-/-	Pnömoni/ARD S	Üreme olmadı	Sağ	Var	Var
22	51	KOAH Astım	IMV	A (FluAH1p dm09)	+/-	Pnömoni	Üreme olmadı	Sağ	Var	Var
23	26	Orak hücreli anemi	Maske	A(H3)	-/-	Solunum yetmezliği, pnömo ni	Kültür yok	Sağ	Var	Var
24	61	KOAH KKY Kolon ca (kür)	NIMV	A(FluAH1 pdm09)	+/+	Pnömoni/KOA H alevlenme	<i>Enterobacter cloaca</i>	Sağ	Var	Yok
25	85	HT	NIMV	A(FluAH1 pdm09)	+/+	Pnömoni	Kültür yok	Sağ	Yok	Var

26	75	Astım KKY HT	Nasal	A (H3), RSV	+/-	Dekompanse kalp yetmezliği, pnömoni	Kültür yok	Sağ	Var	Yok
27	86	KOAH KAH KBH AF MM(remisyon)	IMV	A (H3), Parainflue nza virüsü, RSV	+/+	Solunum yetmezliği, pnömoni	<i>Acinetobacter baumannii</i>	Exitus	Var	Yok
28	60	DM Astım HT	NIMV	A(H3)	-/-	Astım atak	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Sağ	Var	Yok
29	56	KOAH	NIMV	RSV, A(H3)	+/+	KOAH alevlenme	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	Sağ	Yok	Yok
30	46	KOAH IgA nefropatisi	NIMV	A(FluAH1 pdm09)	+/-	Dekompanse kalp yetmezliği, pnömo ni	Kültür yok	Sağ	Var	Var
31	58	KOAH	NIMV	A(H3), rh inovirüs	+/-	KOAH alevlenme- pnömoni	<i>Pseudomoans aeruginosa</i>	Sağ	Var	Yok
32	78	Astım KOAH	IMV	Parainflue nza/ A(H3)	-/-	Astım atak, pnömoni	Üreme olmadı	Sağ	Var	Yok

KOAH: kronik obstruktif akciğer hastalığı, DM: diabetes mellitus, KAH: koroner arter hastalığı, KKY: konjestif kalp yetmezliği, HT: hipertansiyon, AF: atriyal fibrilasyon, MM: multiple myelom, KBH: kronik böbrek hastalığı, RCC:renal cell carcinom, BT: bilgisayarlı tomografi.

**Tablo 4.3.** Olguların başvuru anındaki laboratuvar sonuçları, kullanılan antibakteriyel ilaçlar.

Hasta no	Lökosit	Nötrofil	Lenfosit	Hb	Trombx103 mcl	ESH	C-rp	Gfr ml/dk/1.73 m <sup>2</sup>	Serum Kreatinin (mg/dl)	ALT	AST	Ph	Pco2	P02	Anti-Viral kullanım	Antibiyotik
1	4800	2700	1200	12,5	160	34	7,33	>60	0,69	32	34	-	-	-	+	Klaritromisin
2	9100	7500	800	13,2	151	18	6,87	42	1,2	42	98	7,46	41	72	+	Meropenem
3	7600	6000	400	9,5	319	7	0,26	>60	0,72	9	23	-	-	-	+	-
4	7300	4600	2000	10	268	47	1,36	51	1,33	38	39	7,43	36,5	47	+	Sulbaktam -ampisilin, klaritromisin
5	5800	4600	900	9,3	32	33	15,6	>60	0,9	21	18	7,37	46,8	53.1	+	Piperasilin tazobaktam
6	5100	4400	300	11,6	124	40	-	>60	0,65	7	39	7,38	49	38	+	Piperasilin tazobaktam
7	6600	4800	900	15	179	47	1,71	>60	0,66	30	21	-	-	-	+	-
8	5800	3700	1600	13	209	43	5,99	47	1,05	16	51	7,40	54	46	+	Sulbaktam -ampisilin, klaritromisin
9	6100	4400	1000	13,5	126	46	12,9	60	0,6	13	28	7,40	40	54	+	Moksifloksasin
10	6600	4900	1100	12	168	90	0,78	>60	0,83	38	60	7,44	35,4	39,4	+	Sulbaktam -ampisilin, klaritromisin
11	5000	4200	400	13,7	275	30	7,52	>60	0,9	12	29	7,44	37,3	53	+	Seftriakson, klaritromisin
12	5400	4100	800	9,7	101	-	7,38	16	2,44	14	32	7,47	36,7	38	+	Sulbaktam -ampisilin,
13	16600	15300	800	10	320	-	12,7	54,3	0,89	65	168	7,32	52,7	75,4*	+	Piperasilin tazobaktam
14	8500	6000	1400	10,7	243	-	1,93	>60	0,6	13	16	7,48	36	45,6	+	Piperasilin tazobaktam
15	11200	6700	1900	15,3	137	53	34	24	2,5	2055	2862	7,13	54	98*	+	Meropenem
16	4000	2700	900	11	163	2	0,2	12,9	3,2	34	66	7,21	31	51	+	Sulbaktam -ampisilin, klaritromisin



17	6000	3800	1700	12,9	277	40	7	>60	0,8	12	19	-	-	-	+	-
18	10000	7200	2300	12,5	188	6	0,1	>60	0,74	20	13	-	-	-	+	-
19	6900	5800	700	19,5	134	-	2,46	>60	0,9	69	52	7,38	60,5	69*	+	Moksifloksasin
20	8100	5800	1400	11	269	10	3,65	54	1,36	32	35	7,40	48	35	+	Sulbaktam -ampisilin
21	10900	9800	800	10,6	105	54	7,95	27,6	2,09	56	123	7,4	29	57	+	Piperasilin tazobaktam, klaritromisin
22	20600	17800	1200	15,1	374	38	13	>60	0,46	13	18	7,30	57,7	61*	+	Levofloksasin
23	5400	4700	600	11	82	2	12,4	>60	0,59	57	63	7,44	34	29	+	Sulbaktam -ampisilin, klaritromisin
24	6500	5200	300	17,9	108	-	5,42	34	2	16	22	7,26	65,5	39	+	Sulbaktam -ampisilin, klaritromisin
25	7500	5100	1100	13,6	188	29	3,15	55	0,9	11	19	7,48	57	57	+	Sulbaktam -ampisilin, klaritromisin
26	5200	3500	700	11	201	22	1,47	35	1,45	8	14	7,42	40	58	+	Levofloksasin
27	5400	3900	700	15,7	121	27	9,2	48	1,3	33	33	7,51	38,1	53,8	+	Sulbaktam -ampisilin, klaritromisin
28	9100	6500	1900	13,2	200	11	2,05	>60	0,53	11	14	7,34	68,8	65,3	+	Moksifloksasin
29	9300	5600	2500	13,7	334	18	1,15	>60	0,75	18	12	7,36	44	66,1*	+	Klaritromisin
30	12500	10900	900	9,8	234	15	1,33	>60	0,9	13	20	7,27	56,7	63	+	Moksifloksasin
31	5200	2700	1400	18,5	153	10	4,1	>60	0,8	45	21	7,29	57,4	58,5	+	Moksifloksasin
32	8700	6900	700	14,3	207	27	2,9	>60	0,61	15	25	7,27	67,5	60	+	Piperasilin tazobaktam

ESH: eritrosit sedimentasyon hızı; c-rp: c-reaktif protein; GFR: glomerular filtrasyon hızı (ml/dk/1.73 m<sup>2</sup>); ALT: alanine aminotransferaz; AST: aspartate aminotransferaz; pO<sub>2</sub>: parsiyel oksijen basıncı; pCO<sub>2</sub>: parsiyel karbondioksit basıncı, \*mekanik ventilasyon altındaki değerler.

#### **4.2. Olguların B ve T lenfosit Alt Grup Analiz Sonuçları**

Median lökosit sayısı 7000 / $\mu$ l (3.200-26.000 / $\mu$ l) ve median lenfosit sayısı 948 / $\mu$ l (92-3078 / $\mu$ l) idi. Hastaların 30'undan B lenfosit alt grup analizi yapılırken sadece 16 hastada T lenfosit alt grup analizi akım sitometri yöntemi ile yapıldı. Hastaların lenfosit sayıları ve lenfosit alt gruplarının ortanca değerleri Tablo 4.4'de ve her bir hastanın B, CD4<sup>+</sup> ve CD8<sup>+</sup> T lenfosit alt gruplarının dağılımları Tablo 5, 6 ve 7'de ayrıntılı olarak verilmiştir.

**Tablo 4.4.** Olguların lenfosit alt gruplarının dağılımı.

Değişken	%, median (minimum- maksimum)	Absolute Sayı (/mm <sup>3</sup> ), median (minimum- maksimum)	Normal aralık %
Lökosit		7000 (3200-26000)	4400-11 000 /mm <sup>3</sup>
Lenfosit	19 (4-39)	948 (92-3078)	8-33
CD4 <sup>+</sup> T lenfosit	41 (9-49)	417 (66-963)	29,0-59,0
Naif yardımcı T lenfosit	31 (1-54)*	124(7-137)	57,1-84,9
Merkezi hafıza yardımcı T lenfosit	<b>31 (0-50)</b>	<b>101 (0-318)</b>	11,3-26,7
Efektör hafıza yardımcı T lenfosit	<b>23 (2-56)</b>	<b>58 (4-497)</b>	3,3-15,2
TEMRA Th	<b>9 (3-42)</b>	<b>26,5 (6-312)</b>	0,4-2,6
CD8 <sup>+</sup> T lenfosit	<b>31 (12 -56)</b>	<b>302(89-777)</b>	19,0-29,0
Naif sitotoksik T lenfosit	8 (1- 37)*	30,9 (3-113)	28,4-80,6
Merkezi hafıza sitotoksik T lenfosit	<b>6,8 (1- 36)</b>	18,9 (3-55)	1,0-4,5
Efektör sitotoksik T lenfosit	26,4 (8- 68)	99,4 (8-416)	6,2-29,3
TEMRA Tc	49 (14-64,9)	134 (37-435)	9,1-49,1
CD19 <sup>+</sup> B lenfosit	13 (5- 33)	227 (32-826)	10,0-31,0
Naif B lenfosit	55 (0- 80)	69 (0-461)	48,4-79,7
İzotip dönüşümü yapmış hafıza B hücre	22,4 (4- 68)	32 (4-255)	8,3-27,8
Marjinal bölge B hücre	10 (0-91)	16 (0-75)	7,0-23,8
Aktif B Lenfosit	1,85 (0,3-9,87)	2,9 (0,7-14)	1,6-10,0
Plazmoblast	2,1 (0,2-4,5)	3(1,2-11)	0,4-2,4
Transisyonel B hücre	1,75 (0,4-9,7)	2,8 (0,7-21)	0,9-5,7

\*Normalin altındaki değerleri ifade eder.

Hastaların median lenfosit alt grup değerleri sağlıklı erişkinler için referans değerler olarak bildirilen sayılarla karşılaştırılması yapıldı.

Median naif yardımcı (CD4<sup>+</sup>) T hücreleri (CD4<sup>+</sup>CCR7<sup>+</sup>CD45RA<sup>+</sup>) sayılarının azaldığı, merkezi hafıza yardımcı T hücreleri (CD4<sup>+</sup>CCR7<sup>+</sup>CD45RA<sup>-</sup>), efektör hafıza yardımcı T hücreleri (CD4<sup>+</sup>CCR7<sup>-</sup>CD45RA<sup>-</sup>) ve TEMRA yardımcı T hücrelerinin (CD4<sup>+</sup>CCR7<sup>-</sup>CD45RA<sup>+</sup>) arttığı görüldü. Olgular tek tek değerlendirildiğinde CD4<sup>+</sup> T lenfosit sayıları 3/16 olguda azalmış, naif CD4<sup>+</sup> T lenfositler 16/16 hastada azalmış, merkezi hafıza CD4<sup>+</sup> T lenfositler 7/16 olguda artmış, 3/16 olguda azalmış, efektör hafıza CD4<sup>+</sup> T lenfositler 11/16 olguda artmış, Temra CD4<sup>+</sup> T lenfositler tüm bakılan olgularda (13/13) olguda artmış olduğu görüldü.

CD8<sup>+</sup> ve merkezi hafıza sitotoksik (CD8<sup>+</sup>) T hücrelerinde (CD8<sup>+</sup> CCR7<sup>+</sup>CD45RA<sup>-</sup>) sayılarında artış görülürken, naif sitotoksik T hücre (CD8<sup>+</sup> CCR7<sup>+</sup>CD45RA<sup>+</sup>) sayılarında azalma gözlemlendi. CD8<sup>+</sup> T lenfositlerinin sayısı 9/16 olguda artmış, naif CD8<sup>+</sup> T lenfositler 13/16 olguda düşmüş, merkezi hafıza CD8<sup>+</sup> T lenfositler 11/16 olguda artmış, efektör hafıza CD8<sup>+</sup> T lenfositler 7/16 hastada artmış, Temra CD8<sup>+</sup> T lenfositler 7/16 olguda artmış olduğu görüldü.

B lenfosit ve alt gruplarının median dağılımları normal aralıkta bulundu. Olgu bazında bakıldığında CD19<sup>+</sup> B lenfositler 11/30 hastada azalmış, naif B lenfositler (CD19<sup>+</sup> CD27<sup>-</sup> IgM<sup>+</sup> IgD<sup>+</sup>) 10/30 hastada azalmış ve izotip dönüşümü yapmış hafıza (switch memory) B hücre (CD19<sup>+</sup> CD27<sup>+</sup> IgM<sup>-</sup> IgD<sup>-</sup>) sayıları 13/30 hastada artmış, marjinal zon B hücre (CD19<sup>+</sup> CD27<sup>+</sup> IgM<sup>++</sup> IgD<sup>+</sup>) sayıları 9/30 hastada azalmış, 4/30 hastada artmış olduğu görüldü. Aktif B lenfosit, plazmoblast ve transizyonel B lenfosit alt gruplar hastaların sırasıyla 14, 10 ve 8 hastadan elde edilebildi.

**Tablo 4-5.** Olguların B Lenfosit alt gruplarının dağılımı

Hasta no	Lenfosit sayısı	CD 19 %,sayı	Naif B %, sayı	İzotip dönüşümü yapmış hafıza hücre B %, sayı	Marjinal Bölge B hücre %, sayı	Aktif B %, sayı	Plazmoblast %, sayı	Transisyonel %, sayı
3	1344	20 /258	49/ 126	40/ 103	10/ 26	NA	NA	NA
4	1617	17/ 327	70/ 229	40/ 72	5/ 16	NA	NA	NA
5	1044	14/ 153	5/ 8	22/ 76	0	NA	NA	NA
6	300	NA	NA	50/ NA	NA	NA	NA	NA
7	3300	18 /575	43/ 247	35,8/ 213	14/ 80	NA	NA	NA
8	992	6/ 60	0	37/ 40	1/ 1	NA	NA	NA
9	1403	9/ 126	57/ 72	68/ 44	2/ 3	NA	NA	NA
10	1512	19/ 287	9/ 26	35/ 49	72/ 207	NA	NA	NA
11	910	7/ 64	23/ 15	17/ 22	18/ 12	NA	NA	NA
12	2584	32/ 826	3/ 24,7	35/ 33	91/ 751	NA	NA	NA
13	1040	12/ 125	60/ 75	4/ 20	13/ 16	NA	NA	NA
14	1780	8 /142	80/ 114	16/ 17	4/ 6	NA	NA	NA
15	1200	9/ 108	64/ 69	12/ 30	3/ 3	3/ 3,2	NA	NA
16	432	14/ 60	62/ 37	28/ 4	29/ 17	NA	NA	NA
17	1620	14/ 227	77/ 175	7/ 32	7/ 16	NA	NA	NA
18	1600	15/ 183	15/ 27	14/ 97	28/ 51	3/5,5	NA	NA
19	960	6/ 57	46/ 26,4	53/ 20,7	16/ 9,2	NA	NA	NA
20	2106	5/ 105	55/ 56	36/ 26	7/ 7	0,8/0,8	2,5/2,7	NA
21	1007	22/ 221	80/ 176	25/ 15	9,7/ 19	2,8/ 6	1,1/ 2,4	1,1/ 2,4
22	1586	7/ 111	65,8/ 72	7,5/ 19	14/ 15	2,6/ 2,8	2/ 2,2	1,7/ 1,88
23	1404	17/ 238	62,9/ 150	18/ 33	20,9/ 49,9	1,5/ 3,5	1/ 2,3	0,4/ 0,9
24	744	11/ 81	15/ 12	14/ 5	72/ 46	2,7/ 2,1	4,5/3,6	0,9/0,7
25	1728	13/ 224	42/ 94	9/ 80	18,9/ 42	1,4/ 3,1	3/ 6,7	1,8/ 4
26	736	7/ 515	45/ 335	35,8/ 255	14/ 104	1,7/ 8,7	2,2/ 11	4,1/ 21
27	532	6/ 32	48/ 15	34,7/ 13	3/ 1	2,2 /0,7	NA	NA
28	92	13/ 117	54,7/ 64	40/ 26,8	4,1/ 4,8	1,7/ 1,9	3,1/ 3,3	NA
29	3078	14/ 430	67/ 290	22,9/ 71	10/ 43,5	0,3/1,2	0,3/1,2	NA
30	784	10/ 78,4	77/ 60	16,5/ 5,9	12/ 9,4	NA	NA	NA
31	825	9/ 74	80,6/ 60	7,6/ 8	2,5/ 2	1,9/ 1,4	NA	5,7/ 4,2
32	2436	33/ 804	57,4/ 461	10,5/ 248	2,2/ 18	1,8/ 14	0,5/ 4	0,4/3,2

Hücre sayıları % ve hücre/mm<sup>3</sup> olarak sunulmuştur, NA: *not-applicable*.

**Tablo 4-6.** Olguların CD4<sup>+</sup> T lenfosit alt gruplarının dağılımı (16 Hasta)

Hasta no	Lenfosit sayısı	CD4+ T lenfosit %	CD4+ T lenfosit sayısı	Naif yardımcı T lenfosit %	Naif yardımcı T lenfosit, sayı	Merkezi hafıza yardımcı T lenfosit y%	Merkezi hafıza yardımcı T lenfosit sayısı	Efektör hafıza yardımcı T lenfosit Th, %	Efektör hafıza yardımcı T lenfosit sayısı	TEMRA Th, %	TEMRA Th, sayı
3	1344	35	470	54	254	26	122	2	9	NA	NA
4	1617	35	744	1	7	0	0	56	417	NA	NA
5	1044	46	430	45	194	26	112	5	21	NA	NA
15	1200	14	168	25	42	14	24	53	89	7	11,7
20	2106	45	947	23,8	350	31	293	21	189	10,3	97
21	1007	45	493	32,9	157	39	187	25	121	3,4	16,7
22	1586	49	777	49,5	240	7	52	12,5	97	12,5	97
23	1404	49	351	50,7	175	25	84	13	45	4,4	15,4
24	744	25	66	16,5	10	43	28	26	17	13,7	9
25	1728	9	639	12,4	77	50	318	33	210	4,6	29,3
26	736	37	301	24,7	74	46	138	21	64	8,0	24
27	532	41	165	19,8	33	42	70	29	48	8,6	14
28	92	31	405	30,6	121	35	141	30	121	4,3	17,4
30	784	43	337	37,7	127	25	84	15	51	22,1	74,5
31	825	43	115	37,8	44	36	42	21	24	4,9	6
32	2436	15	365	29	105	9	32	52	189	9,5	91

Th: T helper, yardımcı T lenfosit; NA: *not-applicable*

Hücre sayıları % ve hücre/mm<sup>3</sup> olarak sunulmuştur.

**Tablo 4-7.** Olguların CD8 + T lenfosit alt gruplarının dağılımı (16 Hasta)

Hasta no	Lenfosit sayısı	CD 8 %	CD8 sayı	Naif sitotoksik T lenfosit y%	Naif sitotoksik T lenfosit sayı	Merkezi hafıza sitotoksik T lenfosit %	Merkezi hafıza sitotoksik T lenfosit sayı	Efektör hafıza sitotoksik T lenfosit %	Efektör sitotoksik T lenfosit sayı	TEMRA Tc, %	TEMRA Tc, sayı
3	1344	25	336	33	111	1	3	53	178	14	47
4	1617	19	307	5	15	1	3	68	209	26	80
5	1044	17	159	7	11	3	5	39	62	50	95
15	1200	56	672	2	13	2	13	62	416	34	208
20	2106	24	504	13	60	10	45	21	105	56	282
21	1007	19	191	27	51	12	21	23,6	43	37	70
22	1586	38	602	14	83	19	114	18	108	48,9	294
23	1404	29	407	28	113	6	24	16,3	65	49,2	199
24	744	12	89	11	9	15	13	9	8	63	56
25	1728	45	777	7	54	21	155	16	124	56,5	435
26	736	33	242	1	3	7	17	38,8	93,8	52,4	125
27	532	38	202	37	75	36	73	8	16	18,4	37
28	92	33	298	8	24	9	27	41,7	121	41	121
30	784	33	258	10	26	5	13	29,2	74,8	55,7	143,7
31	825	34	262	8	21	3	9	23,4	61	64,9	170
32	2436	20	470	8	36	6	30	48,9	230	36,8	173

Hücre sayıları % ve hücre/mm<sup>3</sup> olarak sunulmuştur.

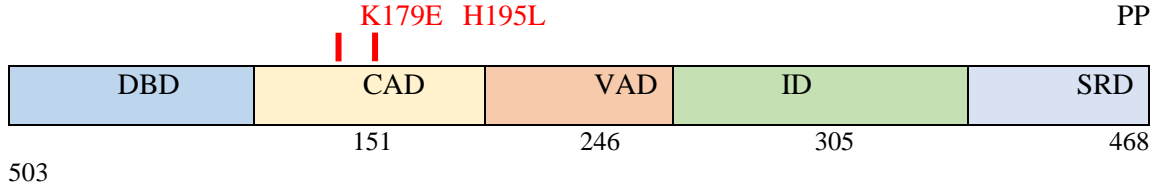
### 4.3. Olguların IRF7 Gen Analizi Sonuçları

Sanger yöntemi ile IRF7 gen analizi sonucunda 3 hastada iki farklı varyant tespit edildi; K179E (rs1061502) ve H195L (rs139709725) (Tablo 4.8) IRF7 geni 5 domainden oluşmakta ve 500 aminoasit içermektedir (Şekil 4.1). Olgularda tespit edilen ve IRF7 geninin 4. ekzonunda yer alan K179E ve N195L varyantları genin konstitüsyonel aktivasyon domaini (CAD) içerisinde yer almaktadır (3). CAD domain, IRF7'nin kırılma bölgelerini oluşturmaktadır (151-216). Bu domainde bulunan patojenik varyantlar IRF7'nin non-fonksiyonel olmasına neden olmaktadır (240). Olgularımızda tespit edilen varyantlar, Şekil 4.2 ve 4.3'de gösterilmiştir. Bu varyantların, IRF7 geninde bugüne kadar bildirilen herhangi bir fonksiyona etki göstermediği düşünülmektedir.



**Tablo 4-8.** Olguların IRF 7 gen analizi sonuçları

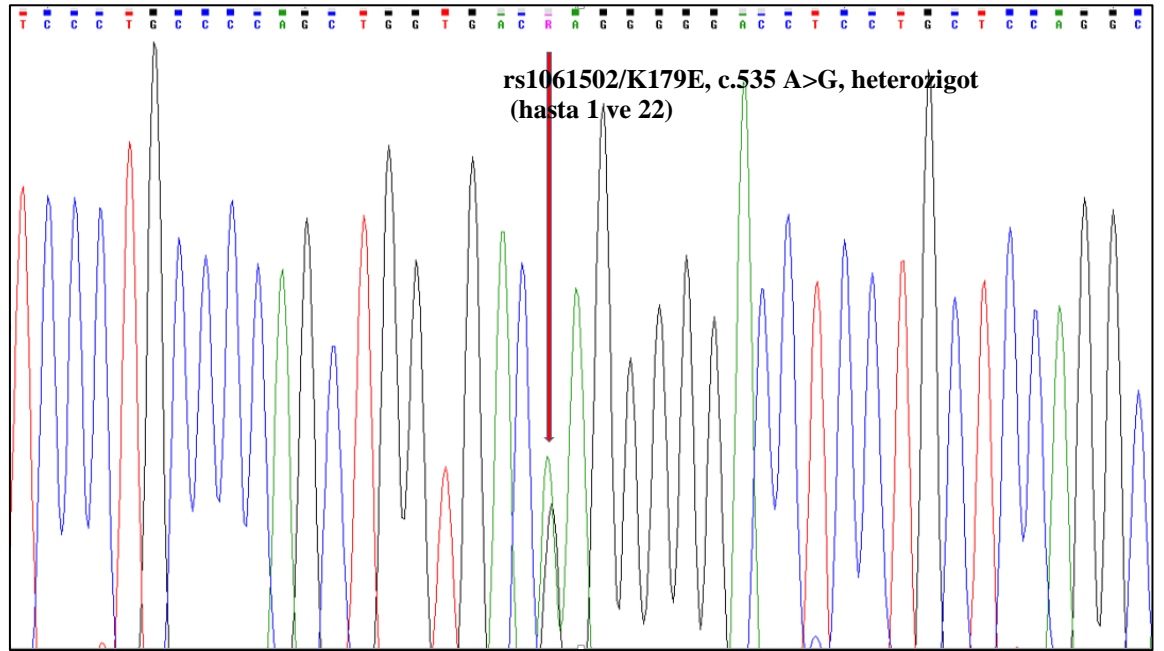
Hasta no	IRF7 Gen Mutasyonu
1	rs1061502/K179E, c.535 A>G, heterozigot
2	saptanmadı
3	saptanmadı
4	saptanmadı
5	saptanmadı
6	saptanmadı
7	saptanmadı
8	saptanmadı
9	saptanmadı
10	saptanmadı
11	saptanmadı
12	saptanmadı
13	saptanmadı
14	saptanmadı
15	saptanmadı
16	saptanmadı
17	saptanmadı
18	saptanmadı
19	saptanmadı
20	saptanmadı
21	saptanmadı
22	rs1061502/K179E, c.535 A>G, heterozigot
23	saptanmadı
24	saptanmadı
25	saptanmadı
26	saptanmadı
27	saptanmadı
28	saptanmadı
29	rs139709725/H195L, c584A>T, heterozigot
30	saptanmadı
31	saptanmadı
32	saptanmadı



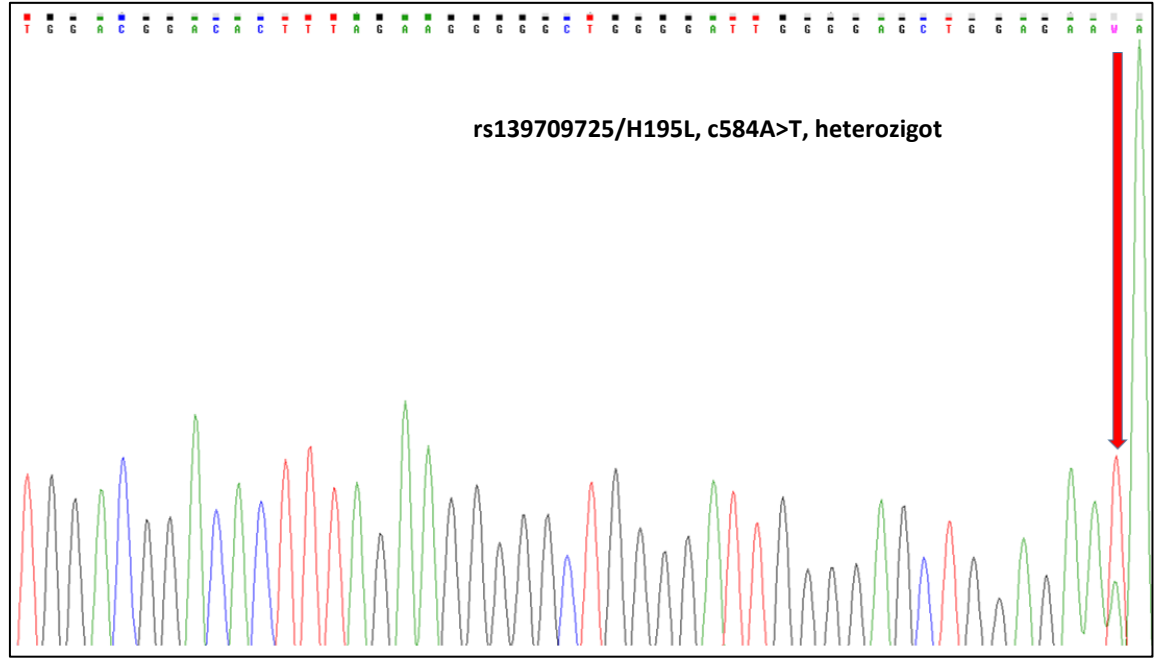
DBD: DNA- bağlayıcı domain; CAD: *constitutive* aktivasyon domain; VAD: virus aktivasyon domain;

ID: inhibitör domain; SRD: *signal response* (sinyal cevap) domain, bu kısımda potansiyel nükleer lokalizasyon sinyali (NLS) ve nükleer eksport sinyali (NES) yer almaktadır. Fosforilasyon bölümü C- terminal bölümünde yerleşimlidir. Çalışmamızda saptanan varyantların (K179E ve H195L) yerleşimi şekilde gösterilmiştir.

**Şekil 4.1.** Interferon regulatory faktör 7 geninin genomik organizasyonunun şematik gösterimi.



**Şekil 4.2.** 1 ve 22 No'lu olguların IRF7 geninde saptanan variant.



**Şekil 4.3.** 29 No'lu olgunun IRF7 geninde saptanan variant.

## 5. TARTIŞMA

Bu araştırmada Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakóltesi Hastaneleri İç Hastalıkları servis ve yoğun bakım ünitelerinde solunum yetmezliği ile yatan ve ağır influenza virus enfeksiyonu olan 32 hasta T ve B lenfosit alt grupları ve IRF7 geni yönünden değerlendirilmiştir.

Hastaların median yaşı 67 yıl idi ve yaş aralığı 26-96 yıl arasında değişmekteydi. İleri yaş, influenza enfeksiyonu ve komplikasyon gelişimi için önemli bir risk faktörü olarak tanımlanmıştır (14). Bizim alışmamızda 19 hasta, 65 yaş ve üzerinde idi. Fica ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada, influenza nedenli ağır akut solunum yolu enfeksiyonu nedeniyle yatırılan 221 hastanın yaş ortalamasının 74.1 yaş ve hastaların %75.6'sının 65 yaşın üzerinde olduğu bildirilmiştir (241). Başka bir çalışmada, H1N1 influenza ilişkili ağır solunum yolu enfeksiyonu olan 88 hastanın yaş ortalaması  $48 \pm 15$  yıl olarak bildirilmiştir (242). Bu çalışmalarda yaş ortalamalarının farklı olması, farklı influenza suşları ile olan enfeksiyonların takip edilmesi ve çalışma düzenindeki farklılıklardan kaynaklanabilir. H1N1 suşu daha genç bireylerde daha ağır enfeksiyonlarla seyrebilmektedir (242).

Bu çalışmada kadın hastalar erkeklerden daha fazla yer almaktaydı. Cinsiyet, influenza enfeksiyonu komplikasyonlarına yatkınlık yaratan kesin bir faktör olarak tanımlanmamıştır ve farklı çalışmalarda farklı sonuçlar görölmüştür. Yakın zamanda bildirilen yukarıdaki iki çalışmada kadın:erkek oranları kadın lehine bir miktar artmıştır ancak bizim çalışmamızdaki kadar belirgin fark yoktur (241,242). Ancak genç kadınlarda H5N1 ve H7N9 virüsleri ve pandemik enfeksiyonlarda hastalığın daha ağır seyrettiği, çok genç ve yaşlı erkeklerde de mevsimsel influenzanın daha şiddetli seyrettiği öne sürölmektedir (243). Cinsiyetler arasında yaşlanmanın, hormonların etkileri, spesifik transkripsiyonel, düzenleyici ve efektör farklılıkların influenza enfeksiyonuna karşı immün cevapta farklılık yaratıp yaratmadığını söylemek için ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

Çalışmadaki hastaların 29'unda (%90.7) en az bir tane eşlik eden hastalık vardı. Kronik hastalığı olmayan 3 hastadan bir tanesine yatış süresi içerisinde kolon adenokarsinom tanısı konuldu, diğer iki hastanın da yaşları 65 ve 75 idi. En sık görülen eşlik eden hastalık KOAH idi, hastaların %40'ı daha önceden KOAH tanısı ile izlenen hastalardı. Kalp hastalıkları (koroner arter hastalığı ve/veya kalp yetmezliği) 12 kişide (%37.5) mevcuttu. Diabetes mellitus 7, astım 7 hastada eşlik ediyordu. Bu hastalıkların tümü influenza virus enfeksiyonuna yatkınlığı ve komplikasyon gelişme riskini artıran kronik hastalıklar olarak tanımlanmıştır. Fica ve arkadaşlarının çalışmasında da influenza virus nedenli ağır solunum yolu enfeksiyonu geçiren hastaların %31.7'sinde KOAH, %28'inde kalp hastalığı ve %8'inde astım ve %24.4'ünde DM olduğunu bildirmişlerdir (241). Lobo ve arkadaşlarının serisinde ise H1N1 nedenli ağır solunum yolu enfeksiyonu geçirenlerin %72'sinde herhangi bir komorbid hastalık olmadığı, obezite, DM ve kardiyovasküler hastalığın en sık görülen üç hastalık grubu olduğunu bildirmişlerdir (242). Özellikle bu hastaların influenza aşılama oranlarının düşük olduğu belirtilen bu çalışmada, KOAH hastalarının nispeten az olması, H1N1 virüsünün, düşük aşılama oranları olan kişilerde daha ağır seyretme eğilimi olduğu şeklinde açıklanabilir.

Ağır influenza enfeksiyonu olan ve solunum yetmezliği olan 32 hastadan 30'unda B lenfosit alt grupları, 16'sında T lenfosit alt grupları akım sitometri yöntemi ile analiz edildi. Elde edilen sonuçlar 19 yaş ve üzeri için tanımlanmış referans değerleri ile karşılaştırıldı (244). Çalışmaya dahil edilen hastalarda naif yardımcı T hücre oranlarında azalma görülürken merkezi hafıza yardımcı T hücre, efektör hafıza yardımcı T hücre, T<sub>EMRA</sub> yardımcı T hücrelerde artış olduğu görüldü. CD8<sup>+</sup> ve merkezi hafıza sitotoksik T hücre oranlarında artma, naif sitotoksik T hücre oranlarında azalma görüldü. Diğer hücreler normal aralıkta izlendi. B hücre alt gruplarının dağılımı normal bireylerle nbenzer özellik gösterse de olgu bazında ele alındığında değişiklikler gözlemlendi. Efektör ve merkezi hafıza T hücre popülasyonunda ve naif hücre popülasyonunda azalma olması virus enfeksiyonlarına immün sistemin cevabı olarak yorumlanabilir. Literatürde, influenza enfeksiyonu sırasında lenfosit alt gruplarının incelendiği çalışmalar genellikle solunum yolunda, akciğerde ve bölgesel lenf nodlarındaki hücre alt gruplarını ele almaktadır ve bu

alanlarda efektör ve hafıza T ve B lenfositlerinin artış gösterdiğini saptamıştır (245, 246). Gonzalez ve arkadaşlarının yayınladığı bir çalışmada ise, H1N1 pdm09 ile infekte şiddetli hastalık tablosu olan hastalarda, hafif infeksiyona ve sağlıklı bireylere göre, dolaşımdaki efektör hafıza ve merkezi hafıza sitotoksik T hücrelerinde azalma olduğu gösterilmiştir (247). Bu durum, periferik dolaşımdan bu hücrelerin infeksiyon alanına göç etmesine bağlı olduğu şeklinde yorumlanmıştır. İnfluenza virüsü ile infeksiyon sırasında oluşan hafıza CD8<sup>+</sup> ve CD4<sup>+</sup> pozitif hücreler aynı virus ile tekrar karşılaşma sırasında hızlı immün cevaptan sorumludurlar. Ayrıca infeksiyon sırasında dokuda yerleşimli efektör hafıza CD4<sup>+</sup> ve CD8<sup>+</sup> T lenfositleri de bulunmaktadır. CD8<sup>+</sup> hafıza T lenfositleri, virüslerde korunmuş internal antijenleri tanıyarak sitotoksik etki göstermemtedir. Ayrıca yeni bir influenza virüsü ile infeksiyon durumunda da CD4<sup>+</sup> ve CD8<sup>+</sup> hafıza T lenfositleri virüsün korunmuş internal ve eksternal protein yapılarını tanıyarak çapraz koruma sergiler, infeksiyonu engelleyemez ama hastalığın kontrolünde ve hastalığın iyileşmesinde rolü olduğu düşünülmektedir (201, 248). Hayvan modellerinde CD8<sup>+</sup> hafıza hücrelerinin ömür boyu sürdüğü (2 yıl) gösterilmiştir. İnsanda 13 yıl kadar sürdüğünü gösteren çalışmalar olsa da infeksiyondan sonraki bir kaç yıl içinde influenza spesifik sitotoksik CD8<sup>+</sup> T lenfosit havuzunun azaldığını ve uzun ömürlü hafıza CD8<sup>+</sup> T lenfositlerin öldürme kapasiteleri veya sitolitik moleküllerinin azaldığı gösterilmiştir (249, 250).

Lam ve Baumgarth, influenza infeksiyonu sırasında hızlı B1 hücre yanıtı, 3. günden başlayan efektör hücre cevabı ve daha geç ortaya çıkan ve hafıza B lenfositlerinin oluşmasına yol açan germinal merkez (GC) cevabı olarak özetlemektedir (169). Bu nedenle, dolaşımdaki B hücre alt gruplarının dağılımı hastaların infeksiyon sürelerine göre değişiklik gösterebilmektedir.

Çalışmamızda ağır influenza infeksiyonu ve solunum yetmezliği olan hastalarda IRF7 genin 9 ekzonu dizilendi ve 32 hastadan 3 hastada tek nükleotid sinonim variant varlığı görüldü. 2 hastada rs1061502/K179E, 1 hastada rs139709725/H195L polimorfizmleri tespit edildi. Bulunan varyantlar, literatürde araştırıldı, rs1061502/K179E'nin sistemik lupus eritematozus (SLE) ve Graves hastalığı ve Graves

oftalmopatisi ile ilişkili olduğu görüldü (251, 252). Ancak bizim hastalarımızda SLE veya Graves hastalığı mevcut değildi. Diğer varyant rs139709725/H195L'in henüz literatürde herhangi bir hastalık ile ilişkisi bildirilmemiştir (gnomAD, ExAC, 1000Genomes, dbSNP very tabanları incelenmiştir). IRF7 geninin 4. ekzonunda yerleşimli bu varyantlar genin CAD domain yapısında yerleşimlidir, ancak yapılan literatür araştırmasında bu varyantların protein yapısında anlamlı bir değişiklik yaptığına dair bir bilgiye rastlanmamıştır. Çalışmamızdaki hasta sayısının sayısının az olması nedeni ile influenza enfeksiyonuna yatkınlık açısından bir etki yaratıp yaratmadığı konusunda bir yorum yapılamamaktadır. Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Ana Bilim Dalı tarafından Pediatri ABD ile yürütülen "Hacettepe Ekzom Projesi, Varyant Bilgi Bankası" projesi kapsamında elde edilen 180 Türk çocuğunun verisi içerisinde rs1061502 varyantının 0.28, ExAC veri tabanında yer alan tüm popülasyonlarda 0.27 sıklıkta olduğu, rs139709725 varyantının 180 Türk çocuğunun verisi içerisinde saptanmadığı tüm popülasyonlarda ise 0.0002 sıklıkta olduğu görüldü.

Bu çalışmayı planladığımız dönemde sadece IRF7 geninde iki compound heterozigot mutasyonun (F410V ve Q421X) influenza virus enfeksiyonuna yatkınlık yarattığı tanımlanmıştır (3). Yakın zamanda erişkin bir hastada ağır influenza virus enfeksiyonu varlığında IRF7 geninde E331V varyantı tespit edilmiştir ve bu varyantın IRF7'nin inhibitor domaininde yer aldığı ve IRF7'nin fonksiyonunda bozulmaya ve IFN üretiminde ciddi azalmaya neden olarak influenza virus enfeksiyonuna yatkınlık yarattığı bildirilmiştir (253). Yine son dönemde IRF9, RIG-1 ve TLR3 genlerindeki mutasyonlarının da ağır influenza virus enfeksiyonuna yatkınlığa neden olduğu bildirilmiştir (225, 254, 255). Otozomal resesif, IRF9 homozigot "fonksiyon kaybı" mutasyonu varlığında ISGF3 kompleksinin oluşumu sağlanamamakta ve bu nedenle virus enfeksiyonuna bağlı oluşan tip I IFN cevabına uygun şekilde yanıt verememektedir (225). Jorgensen ve arkadaşları, RIG-1 geninde iki variant tanımlanmıştır ve bu varyantların RIG-1 oligomerlerinin stabilitesini bozduğu ve 5'ppp-DNA tanıma ve bağlanma işlevinin bozulması sonucu sinyal mekanizmalarının çalışmasına engel olduğunu ileri sürmüşlerdir (256). Lim ve arkadaşları da otozomal dominant TLR3 eksikliğine yol açan iki variant

tanımlanmışlardır ve bu varyantlar sonucunda fibroblastlarda IFN- $\beta$  ve IFN- $\lambda$  yanıtının bozulduğu ve bu nedenle pulmoner epitel hücrelerin influenza A virüsüne yatkın olduğu ve bu defektin influenza ilişkili ARDS tablosuna yol açabileceği öne sürülmektedir (255).

Çalışma döneminde ağır influenza enfeksiyonu nedeniyle hastaneye yatırılan erişkin hastaların birden çok komorbid hastalıklarının olması veya ileri yaş grubu hasta olmaları dikkat çekici bir bulgudur. Her ne kadar ağır influenza enfeksiyonu için birden çok risk faktörü olsa da, bu hastalarda genetik bir yatkınlığın da ağır influenza virus enfeksiyonuna yatkınlığa neden olabilir. IRF9, RIG-1 ve TLR3 genlerinde henüz yeni tanımlanan influenzaya yatkınlık yaratan varyantların araştırılması düşünülebilir.

Geleneksel risk faktörlerinin yanında, gen analizlerinin artması ile, influenza virus enfeksiyona karşı immün cevabı etkileyen ve yatkınlık yaratan bu ve benzeri yeni patojenik varyantların giderek artacağı düşünülmektedir. Bu nedenle, özellikle bilinen bir kronik hastalık tanısı olmayan ve influenza virüsü ile ağır enfeksiyon tablosu veya solunum yetmezliği gelişen genç bireylerde olası mutasyonların araştırılması için gen analizlerinin yapılması bilime yeni katkılar sağlayacaktır. Ayrıca yatkın bireylere uygulanacak bireysel koruma önlemleri hastanın yaşamını kurtaracaktır.



## 6. SONUÇ VE ÖNERİLER

1. İnfluenza virus enfeksiyonu erişkinlerde ve çocuklarda önemli bir sağlık problemidir. Kendi kendini sınırlayan hafif bir üst solunum yolu enfeksiyonu tablosundan ağır solunum yetmezliği, ARDS ve ölüme kadar ulaşan tabloya yol açmaktadır. Bu nedenle enfeksiyon komplikasyonları açısından artmış risk faktörleri olan bireylere yıllık influenza aşılması ile korunma önerilmektedir.

2. Çalışmamızdaki hastalarda naif yardımcı T hücre oranlarında azalma görülürken merkezi hafıza yardımcı T hücre, efektör yardımcı T hücre, TEMRA yardımcı T hücrelerde artış olduğu görüldü. CD8<sup>+</sup> ve merkezi hafıza sitotoksik T hücre oranlarında artma, naif sitotoksik T hücre oranlarında azalma görüldü. Bu değişiklikler hastaların altta yatan hastalıklarına ve sağlık durumlarına bağlı olabilir. Ancak influenza virus enfeksiyonuna cevap olarak enfeksiyonun ileri dönemlerinde efektör ve hafıza CD4<sup>+</sup> ve CD8<sup>+</sup> lenfosit cevabının olduğu, bunun hem enfeksiyonun düzelmesi hem de sonraki enfeksiyonlara hızlı cevap için önemli olduğu bilinmektedir.

3. İnfluenza enfeksiyonuna yatkınlık yaratan geleneksel risk faktörlerinin yanı sıra, 2015 yılında interferon regülatör faktör 7 (IRF7) geninde iki mutasyonun influenza enfeksiyonuna yatkınlık yarattığı tanımlanmıştır. Bu çalışma ile ağır influenza virus enfeksiyonu gelişen 32 erişkinde IRF7 geni tarandı ve 3 hastada iki farklı varyant (rs1061502/K179E ve rs139709725/H195L) tespit edildi. Bu mutasyonlar IRF 7 geninin CAD domaininde yer almakta ve protein yapısında değişikliğe yol açmadığı düşünülmektedir. Ancak bunun gösterilmesi için ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

4. Çalışmamızın tasarlandığı ve başladığı günden bu yana yeni bir IRF7 varyantı, IRF9, RIG-1 ve TLR3 varyantlarının da spesifik olarak influenza virus enfeksiyonlarına yatkınlık yarattığı gösterilmiştir. Çalışmamızdaki hastalarda ağır influenza virus enfeksiyonuna IRF7 haricindeki başka mekanizmalardaki defektlerin yol açabileceği düşünülmektedir. Bunun için ileri çalışmalara gerek vardır.

5. B hücre medyan değerlerinde belirgin değişiklik olamamakla birlikte olgu bazında bakıldığında naif B hücre sayılarında azalma ve hafıza B hücrelerinde artma dikkati çekmiştir. Efektör hücre popülasyonunda ve hafıza hücrelerinde artma ve naif

hücre popülasyonunda azalma olması virus infeksiyonlarına immün sistemin cevabı olarak yorumlanabilir. Ancak hastaların mevcut sağlık durumları ve altta yatan hastalıkları da lenfosit subsetlerinde bu değişikliklere yol açmış olabilir.

**6.** İnfluenza virus infeksiyonuna yatkın bireylerin tanımlanması ve bu bireylere uygun koruyucu önlemlerin uygulanması morbidite ve mortalitenin azaltılması için evrensel bir öneridir. Geleneksel risk faktörlerinin yanında, gen analizlerinin artması ile, influenza virus infeksiyona karşı immün cevabı etkileyen ve yatkınlık yaratan tek gen defektleri tanımlanmaya devam edecek gibi gözükmektedir. Bu nedenle, ağır influenza infeksiyon tablosu gelişen bireylerde gen analizlerinin yapılması bilime yeni katkılar sağlayacaktır. Ayrıca yatkın bireylere uygulanacak bireysel koruma önlemleri hastanın yaşamını kurtaracaktır.

## 7. KAYNAKLAR

1. Treanor JJ iM, Douglas, and BennetT's Principles and Practice of Infectious Diseases 8th editin, 2015, Saunders, Elsevier.2000-2024-e7. Influenza. In: Bennet JE DR, Blaser MJ editor. Mandell,Douglas, and BennetT's Principles and Practice of Infectious Diseases. 8 ed. New York: Saunders, Elsevier; 2015. p. 2000-24-e7.
2. Taubenberger JK, Morens DM. The pathology of influenza virus infections. Annual review of pathology. 2008;3:499-522. Epub 2007/11/28.
3. Ciancanelli MJ, Huang SX, Luthra P, Garner H, Itan Y, Volpi S, et al. Infectious disease. Life-threatening influenza and impaired interferon amplification in human IRF7 deficiency. Science. 2015;348(6233):448-53. Epub 2015/03/31.
4. Bouvier NM, Palese P. The biology of influenza viruses. Vaccine. 2008;26 Suppl 4:D49-53. Epub 2009/02/21.
5. Koutsakos M, Nguyen TH, Barclay WS, Kedzierska K. Knowns and unknowns of influenza B viruses. Future microbiology. 2016;11(1):119-35. Epub 2015/12/20.
6. Medina RA. 1918 influenza virus: 100 years on, are we prepared against the next influenza pandemic? Nature reviews Microbiology. 2018;16(2):61-2. Epub 2018/01/16.
7. Tscherne DM, Garcia-Sastre A. Virulence determinants of pandemic influenza viruses. The Journal of clinical investigation. 2011;121(1):6-13. Epub 2011/01/06.
8. Pulendran B, Maddur MS. Innate immune sensing and response to influenza. Current topics in microbiology and immunology. 2015;386:23-71. Epub 2014/08/01.
9. Molinari NA, Ortega-Sanchez IR, Messonnier ML, Thompson WW, Wortley PM, Weintraub E, et al. The annual impact of seasonal influenza in the US: measuring disease burden and costs. Vaccine. 2007;25(27):5086-96. Epub 2007/06/05.
10. Mao L, Yang Y, Qiu Y, Yang Y. Annual economic impacts of seasonal influenza on US counties: spatial heterogeneity and patterns. International journal of health geographics. 2012;11:16. Epub 2012/05/19.
11. Sullivan KM, Monto AS, Longini IM, Jr. Estimates of the US health impact of influenza. American journal of public health. 1993;83(12):1712-6. Epub 1993/12/01.
12. [https://www.who.int/influenza/gisrs\\_laboratory/en/](https://www.who.int/influenza/gisrs_laboratory/en/). [May 2019].
13. [https://grip.gov.tr/depo/influenza-raporu/2018/Haftalik\\_InfluenzaGrip\\_Surveyans\\_Raporu\\_2019\\_13.\\_hafta.pdf](https://grip.gov.tr/depo/influenza-raporu/2018/Haftalik_InfluenzaGrip_Surveyans_Raporu_2019_13._hafta.pdf). [cited 2019 May].
14. risk.htm wcgfadh. [cited 2019 May].
15. Cohen YZ DR. Influenza. In: Kasper DL FA, Hauser SL, Et al editor. Harrison's Principles of Internal Medicine. 19th ed. New York McGraw Hill Book Company; 2015. p. 1209.
16. Ginsberg J, Mohebbi MH, Patel RS, Brammer L, Smolinski MS, Brilliant L. Detecting influenza epidemics using search engine query data. Nature. 2009;457(7232):1012-4. Epub 2008/11/21.

17. Monto AS, Kioumeh F. The Tecumseh Study of Respiratory Illness. IX. Occurrence of influenza in the community, 1966--1971. *American journal of epidemiology*. 1975;102(6):553-63. Epub 1975/12/01.
18. Azziz-Baumgartner E, Cabrera AM, Chang L, Calli R, Kuszniierz G, Baez C, et al. Mortality, severe acute respiratory infection, and influenza-like illness associated with influenza A(H1N1)pdm09 in Argentina, 2009. *PloS one*. 2012;7(10):e47540. Epub 2012/11/03.
19. Lowen AC, Mubareka S, Steel J, Palese P. Influenza virus transmission is dependent on relative humidity and temperature. *PLoS pathogens*. 2007;3(10):1470-6. Epub 2007/10/24.
20. Glezen WP, Couch RB, Six HR. The influenza herald wave. *American journal of epidemiology*. 1982;116(4):589-98. Epub 1982/10/01.
21. [https://www.who.int/influenza/preparedness/pandemic/GIP\\_PandemicInfluenzaRiskManagementInterimGuidance\\_Jun2013.pdf?ua=1](https://www.who.int/influenza/preparedness/pandemic/GIP_PandemicInfluenzaRiskManagementInterimGuidance_Jun2013.pdf?ua=1). 2013 [cited 2019 May].
22. Kendal AP, Schieble J, Cooney MK, Chin J, Foy HM, Noble GR. Co-circulation of two influenza A (H3N2) antigenic variants detected by virus surveillance in individual communities. *American journal of epidemiology*. 1978;108(4):308-11. Epub 1978/10/01.
23. Webster RG, Kendal AP, Gerhard W. Analysis of antigenic drift in recently isolated influenza A (H1N1) viruses using monoclonal antibody preparations. *Virology*. 1979;96(1):258-64. Epub 1979/07/15.
24. Xu X, Cox NJ, Bender CA, Regnery HL, Shaw MW. Genetic variation in neuraminidase genes of influenza A (H3N2) viruses. *Virology*. 1996;224(1):175-83. Epub 1996/10/01.
25. Kawaoka Y, Krauss S, Webster RG. Avian-to-human transmission of the PB1 gene of influenza A viruses in the 1957 and 1968 pandemics. *Journal of virology*. 1989;63(11):4603-8. Epub 1989/11/01.
26. Murphy BR, Buckler-White AJ, London WT, Harper J, Tierney EL, Miller NT, et al. Avian-human reassortant influenza A viruses derived by mating avian and human influenza A viruses. *The Journal of infectious diseases*. 1984;150(6):841-50. Epub 1984/12/01.
27. Taubenberger JK, Reid AH, Krafft AE, Bijwaard KE, Fanning TG. Initial genetic characterization of the 1918 "Spanish" influenza virus. *Science*. 1997;275(5307):1793-6. Epub 1997/03/21.
28. Sanz-Ezquerro JJ, de la Luna S, Ortin J, Nieto A. Individual expression of influenza virus PA protein induces degradation of coexpressed proteins. *Journal of virology*. 1995;69(4):2420-6. Epub 1995/04/01.
29. Takizawa T, Fukuda R, Miyawaki T, Ohashi K, Nakanishi Y. Activation of the apoptotic Fas antigen-encoding gene upon influenza virus infection involving spontaneously produced beta-interferon. *Virology*. 1995;209(2):288-96. Epub 1995/06/01.
30. Chen W, Calvo PA, Malide D, Gibbs J, Schubert U, Bacik I, et al. A novel influenza A virus mitochondrial protein that induces cell death. *Nature medicine*. 2001;7(12):1306-12. Epub 2001/12/01.

31. Jordan WS, Jr., Badger GF, Dingle JH. A study of illness in a group of Cleveland families. XVI. The epidemiology of influenza, 1948-1953. *American journal of hygiene*. 1958;68(2):169-89. Epub 1958/09/01.
32. Larson HE, Parry RP, Tyrrell DA. Impaired polymorphonuclear leucocyte chemotaxis after influenza virus infection. *British journal of diseases of the chest*. 1980;74(1):56-62. Epub 1980/01/01.
33. Cooper JA, Jr., Carcelen R, Culbreth R. Effects of influenza A nucleoprotein on polymorphonuclear neutrophil function. *The Journal of infectious diseases*. 1996;173(2):279-84. Epub 1996/02/01.
34. Hayden FG, Fritz R, Lobo MC, Alvord W, Strober W, Straus SE. Local and systemic cytokine responses during experimental human influenza A virus infection. Relation to symptom formation and host defense. *The Journal of clinical investigation*. 1998;101(3):643-9. Epub 1998/03/21.
35. Peiris JS, Yu WC, Leung CW, Cheung CY, Ng WF, Nicholls JM, et al. Re-emergence of fatal human influenza A subtype H5N1 disease. *Lancet*. 2004;363(9409):617-9. Epub 2004/02/28.
36. Martin CM, Kunin CM, Gottlieb LS, Barnes MW, Liu C, Finland M. Asian influenza A in Boston, 1957-1958. I. Observations in thirty-two influenza-associated fatal cases. *AMA archives of internal medicine*. 1959;103(4):515-31. Epub 1959/04/01.
37. Walsh JJ, Dietlein LF, Low FN, Burch GE, Mogabgab WJ. Bronchotracheal response in human influenza. Type A, Asian strain, as studied by light and electron microscopic examination of bronchoscopic biopsies. *Archives of internal medicine*. 1961;108:376-88. Epub 1961/09/01.
38. Oseasohn R, Adelson L, Kaji M. Clinicopathologic study of thirty-three fatal cases of Asian influenza. *The New England journal of medicine*. 1959;260(11):509-18. Epub 1959/03/12.
39. Little JW, Hall WJ, Douglas RG, Jr., Mudholkar GS, Speers DM, Patel K. Airway hyperreactivity and peripheral airway dysfunction in influenza A infection. *The American review of respiratory disease*. 1978;118(2):295-303. Epub 1978/08/01.
40. Utell MJ, Aquilina AT, Hall WJ, Speers DM, Douglas RG, Jr., Gibb FR, et al. Development of airway reactivity to nitrates in subjects with influenza. *The American review of respiratory disease*. 1980;121(2):233-41. Epub 1980/02/01.
41. Lau LL, Cowling BJ, Fang VJ, Chan KH, Lau EH, Lipsitch M, et al. Viral shedding and clinical illness in naturally acquired influenza virus infections. *The Journal of infectious diseases*. 2010;201(10):1509-16. Epub 2010/04/10.
42. Nicholson KG. Clinical features of influenza. *Seminars in respiratory infections*. 1992;7(1):26-37. Epub 1992/03/01.
43. Dolin R. Influenza: current concepts. *American family physician*. 1976;14(3):72-7. Epub 1976/09/01.
44. Cox NJ, Subbarao K. Influenza. *Lancet*. 1999;354(9186):1277-82. Epub 1999/10/16.
45. Matsuno O, Kataoka H, Takenaka R, Okubo F, Okamoto K, Masutomo K, et al. Influence of age on symptoms and laboratory findings at presentation in patients with influenza-associated pneumonia. *Archives of gerontology and geriatrics*. 2009;49(2):322-5. Epub 2009/01/20.

46. Elbadawi LI, Talley P, Rolfes MA, Millman AJ, Reisdorf E, Kramer NA, et al. Non-mumps Viral Parotitis During the 2014-2015 Influenza Season in the United States. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*. 2018;67(4):493-501. Epub 2018/04/05.
47. Pavia AT. Is Parotitis One More Complication of Influenza? The Ongoing Challenge of Determining Causal Associations. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*. 2018;67(4):502-3. Epub 2018/04/05.
48. Memoli MJ, Athota R, Reed S, Czajkowski L, Bristol T, Proudfoot K, et al. The natural history of influenza infection in the severely immunocompromised vs nonimmunocompromised hosts. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*. 2014;58(2):214-24. Epub 2013/11/05.
49. Lyytikainen O, Hoffmann E, Timm H, Schweiger B, Witte W, Vieth U, et al. Influenza A outbreak among adolescents in a ski hostel. *European journal of clinical microbiology & infectious diseases : official publication of the European Society of Clinical Microbiology*. 1998;17(2):128-30. Epub 1998/06/18.
50. Kim MJ, Latham AG, Krug RM. Human influenza viruses activate an interferon-independent transcription of cellular antiviral genes: outcome with influenza A virus is unique. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2002;99(15):10096-101. Epub 2002/07/13.
51. Chertow DS, Memoli MJ. Bacterial coinfection in influenza: a grand rounds review. *Jama*. 2013;309(3):275-82. Epub 2013/01/17.
52. Peltola VT, Murti KG, McCullers JA. Influenza virus neuraminidase contributes to secondary bacterial pneumonia. *The Journal of infectious diseases*. 2005;192(2):249-57. Epub 2005/06/18.
53. Siegel SJ, Roche AM, Weiser JN. Influenza promotes pneumococcal growth during coinfection by providing host sialylated substrates as a nutrient source. *Cell host & microbe*. 2014;16(1):55-67. Epub 2014/07/11.
54. Klein EY, Monteforte B, Gupta A, Jiang W, May L, Hsieh YH, et al. The frequency of influenza and bacterial coinfection: a systematic review and meta-analysis. *Influenza and other respiratory viruses*. 2016;10(5):394-403. Epub 2016/05/28.
55. Kallen AJ, Hageman J, Gorwitz R, Beekmann SE, Polgreen PM. Characteristics of *Staphylococcus aureus* community-acquired pneumonia during the 2006-2007 influenza season. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*. 2007;45(12):1655. Epub 2008/01/15.
56. Dietzman DE, Schaller JG, Ray CG, Reed ME. Acute myositis associated with influenza B infection. *Pediatrics*. 1976;57(2):255-8. Epub 1976/02/01.
57. Gamboa ET, Eastwood AB, Hays AP, Maxwell J, Penn AS. Isolation of influenza virus from muscle in myoglobinuric polymyositis. *Neurology*. 1979;29(10):1323-35. Epub 1979/10/01.

58. Abe M, Higuchi T, Okada K, Kaizu K, Matsumoto K. Clinical study of influenza-associated rhabdomyolysis with acute renal failure. *Clinical nephrology*. 2006;66(3):166-70. Epub 2006/09/26.
59. Naderi ASA, Palmer BF. Rhabdomyolysis and acute renal failure associated with influenza virus type B infection. *The American journal of the medical sciences*. 2006;332(2):88-9. Epub 2006/08/16.
60. Ison MG, Campbell V, Rembold C, Dent J, Hayden FG. Cardiac findings during uncomplicated acute influenza in ambulatory adults. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*. 2005;40(3):415-22. Epub 2005/01/26.
61. Lichenstein R, Magder LS, King RE, King JC, Jr. The relationship between influenza outbreaks and acute ischemic heart disease in Maryland residents over a 7-year period. *The Journal of infectious diseases*. 2012;206(6):821-7. Epub 2012/07/17.
62. Warren-Gash C, Bhaskaran K, Hayward A, Leung GM, Lo SV, Wong CM, et al. Circulating influenza virus, climatic factors, and acute myocardial infarction: a time series study in England and Wales and Hong Kong. *The Journal of infectious diseases*. 2011;203(12):1710-8. Epub 2011/05/25.
63. Mamas MA, Fraser D, Neyses L. Cardiovascular manifestations associated with influenza virus infection. *International journal of cardiology*. 2008;130(3):304-9. Epub 2008/07/16.
64. Fujimoto S, Kobayashi M, Uemura O, Iwasa M, Ando T, Katoh T, et al. PCR on cerebrospinal fluid to show influenza-associated acute encephalopathy or encephalitis. *Lancet*. 1998;352(9131):873-5. Epub 1998/09/22.
65. Salonen O, Koshkiniemi M, Saari A, Myllyla V, Pyhala R, Airaksinen L, et al. Myelitis associated with influenza A virus infection. *Journal of neurovirology*. 1997;3(1):83-5. Epub 1997/02/01.
66. Tolan RW, Jr. Toxic shock syndrome complicating influenza A in a child: case report and review. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*. 1993;17(1):43-5. Epub 1993/07/01.
67. Chen X, Liu S, Goraya MU, Maarouf M, Huang S, Chen JL. Host Immune Response to Influenza A Virus Infection. *Frontiers in immunology*. 2018;9:320. Epub 2018/03/21.
68. Xiong X, Martin SR, Haire LF, Wharton SA, Daniels RS, Bennett MS, et al. Receptor binding by an H7N9 influenza virus from humans. *Nature*. 2013;499(7459):496-9. Epub 2013/06/22.
69. Byrd-Leotis L, Cummings RD, Steinhauer DA. The Interplay between the Host Receptor and Influenza Virus Hemagglutinin and Neuraminidase. *International journal of molecular sciences*. 2017;18(7). Epub 2017/07/18.
70. Skehel JJ, Wiley DC. Receptor binding and membrane fusion in virus entry: the influenza hemagglutinin. *Annual review of biochemistry*. 2000;69:531-69. Epub 2000/08/31.
71. Lakadamyali M, Rust MJ, Zhuang X. Ligands for clathrin-mediated endocytosis are differentially sorted into distinct populations of early endosomes. *Cell*. 2006;124(5):997-1009. Epub 2006/03/15.

72. Fontana J, Cardone G, Heymann JB, Winkler DC, Steven AC. Structural changes in Influenza virus at low pH characterized by cryo-electron tomography. *Journal of virology*. 2012;86(6):2919-29. Epub 2012/01/20.
73. Sun X, Whittaker GR. Entry of influenza virus. *Advances in experimental medicine and biology*. 2013;790:72-82. Epub 2013/07/26.
74. Yoneyama M, Onomoto K, Jogi M, Akaboshi T, Fujita T. Viral RNA detection by RIG-I-like receptors. *Current opinion in immunology*. 2015;32:48-53. Epub 2015/01/17.
75. Loo YM, Gale M, Jr. Immune signaling by RIG-I-like receptors. *Immunity*. 2011;34(5):680-92. Epub 2011/05/28.
76. Koyama S, Ishii KJ, Kumar H, Tanimoto T, Coban C, Uematsu S, et al. Differential role of TLR- and RLR-signaling in the immune responses to influenza A virus infection and vaccination. *Journal of immunology*. 2007;179(7):4711-20. Epub 2007/09/20.
77. Graham AC, Hilmer KM, Zickovich JM, Obar JJ. Inflammatory response of mast cells during influenza A virus infection is mediated by active infection and RIG-I signaling. *Journal of immunology*. 2013;190(9):4676-84. Epub 2013/03/26.
78. Crotta S, Davidson S, Mahlakoiv T, Desmet CJ, Buckwalter MR, Albert ML, et al. Type I and type III interferons drive redundant amplification loops to induce a transcriptional signature in influenza-infected airway epithelia. *PLoS pathogens*. 2013;9(11):e1003773. Epub 2013/11/28.
79. Ohman T, Rintahaka J, Kalkkinen N, Matikainen S, Nyman TA. Actin and RIG-I/MAVS signaling components translocate to mitochondria upon influenza A virus infection of human primary macrophages. *Journal of immunology*. 2009;182(9):5682-92. Epub 2009/04/22.
80. Goubau D, Schlee M, Deddouche S, Pruijssers AJ, Zillinger T, Goldeck M, et al. Antiviral immunity via RIG-I-mediated recognition of RNA bearing 5'-diphosphates. *Nature*. 2014;514(7522):372-5. Epub 2014/08/15.
81. Schulz O, Diebold SS, Chen M, Naslund TI, Nolte MA, Alexopoulou L, et al. Toll-like receptor 3 promotes cross-priming to virus-infected cells. *Nature*. 2005;433(7028):887-92. Epub 2005/02/16.
82. Le Goffic R, Pothlichet J, Vitour D, Fujita T, Meurs E, Chignard M, et al. Cutting Edge: Influenza A virus activates TLR3-dependent inflammatory and RIG-I-dependent antiviral responses in human lung epithelial cells. *Journal of immunology*. 2007;178(6):3368-72. Epub 2007/03/07.
83. Lund JM, Alexopoulou L, Sato A, Karow M, Adams NC, Gale NW, et al. Recognition of single-stranded RNA viruses by Toll-like receptor 7. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2004;101(15):5598-603. Epub 2004/03/23.
84. Seo SU, Kwon HJ, Song JH, Byun YH, Seong BL, Kawai T, et al. MyD88 signaling is indispensable for primary influenza A virus infection but dispensable for secondary infection. *Journal of virology*. 2010;84(24):12713-22. Epub 2010/10/15.
85. Maisonneuve C, Bertholet S, Philpott DJ, De Gregorio E. Unleashing the potential of NOD- and Toll-like agonists as vaccine adjuvants. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2014;111(34):12294-9. Epub 2014/08/20.



86. Tsai WC, Lloyd RE. Cytoplasmic RNA Granules and Viral Infection. *Annual review of virology*. 2014;1(1):147-70. Epub 2014/11/03.
87. Shirey KA, Lai W, Scott AJ, Lipsky M, Mistry P, Pletneva LM, et al. The TLR4 antagonist Eritoran protects mice from lethal influenza infection. *Nature*. 2013;497(7450):498-502. Epub 2013/05/03.
88. Shaw PJ, Lamkanfi M, Kanneganti TD. NOD-like receptor (NLR) signaling beyond the inflammasome. *European journal of immunology*. 2010;40(3):624-7. Epub 2010/03/05.
89. Guarda G, Zenger M, Yazdi AS, Schroder K, Ferrero I, Menu P, et al. Differential expression of NLRP3 among hematopoietic cells. *Journal of immunology*. 2011;186(4):2529-34. Epub 2011/01/25.
90. Pothlichet J, Meunier I, Davis BK, Ting JP, Skamene E, von Messling V, et al. Type I IFN triggers RIG-I/TLR3/NLRP3-dependent inflammasome activation in influenza A virus infected cells. *PLoS pathogens*. 2013;9(4):e1003256. Epub 2013/04/18.
91. Allen IC, Scull MA, Moore CB, Holl EK, McElvania-TeKippe E, Taxman DJ, et al. The NLRP3 inflammasome mediates in vivo innate immunity to influenza A virus through recognition of viral RNA. *Immunity*. 2009;30(4):556-65. Epub 2009/04/14.
92. McAuley JL, Tate MD, MacKenzie-Kludas CJ, Pinar A, Zeng W, Stutz A, et al. Activation of the NLRP3 inflammasome by IAV virulence protein PB1-F2 contributes to severe pathophysiology and disease. *PLoS pathogens*. 2013;9(5):e1003392. Epub 2013/06/06.
93. Schroder K, Zhou R, Tschopp J. The NLRP3 inflammasome: a sensor for metabolic danger? *Science*. 2010;327(5963):296-300. Epub 2010/01/16.
94. Lupfer C, Thomas PG, Kanneganti TD. Nucleotide oligomerization and binding domain 2-dependent dendritic cell activation is necessary for innate immunity and optimal CD8+ T Cell responses to influenza A virus infection. *Journal of virology*. 2014;88(16):8946-55. Epub 2014/05/30.
95. Jaworska J, Coulombe F, Downey J, Tzelepis F, Shalaby K, Tattoli I, et al. NLRX1 prevents mitochondrial induced apoptosis and enhances macrophage antiviral immunity by interacting with influenza virus PB1-F2 protein. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2014;111(20):E2110-9. Epub 2014/05/07.
96. Allen IC, Moore CB, Schneider M, Lei Y, Davis BK, Scull MA, et al. NLRX1 protein attenuates inflammatory responses to infection by interfering with the RIG-I-MAVS and TRAF6-NF-kappaB signaling pathways. *Immunity*. 2011;34(6):854-65. Epub 2011/06/28.
97. Lupfer C, Kanneganti TD. The expanding role of NLRs in antiviral immunity. *Immunological reviews*. 2013;255(1):13-24. Epub 2013/08/21.
98. Shan S, Qi C, Zhu Y, Li H, An L, Yang G. Expression profile of carp IFN correlate with the up-regulation of interferon regulatory factor-1 (IRF-1) in vivo and in vitro: the pivotal molecules in antiviral defense. *Fish & shellfish immunology*. 2016;52:94-102. Epub 2016/03/20.
99. Wang J, Oberley-Deegan R, Wang S, Nikrad M, Funk CJ, Hartshorn KL, et al. Differentiated human alveolar type II cells secrete antiviral IL-29 (IFN-lambda 1) in response to influenza A infection. *Journal of immunology*. 2009;182(3):1296-304. Epub 2009/01/22.

100. Schneider C, Nobs SP, Heer AK, Kurrer M, Klinke G, van Rooijen N, et al. Alveolar macrophages are essential for protection from respiratory failure and associated morbidity following influenza virus infection. *PLoS pathogens*. 2014;10(4):e1004053. Epub 2014/04/05.
101. Mordstein M, Kochs G, Dumoutier L, Renauld JC, Paludan SR, Klucher K, et al. Interferon-lambda contributes to innate immunity of mice against influenza A virus but not against hepatotropic viruses. *PLoS pathogens*. 2008;4(9):e1000151. Epub 2008/09/13.
102. Davidson S, McCabe TM, Crotta S, Gad HH, Hessel EM, Beinke S, et al. IFNlambda is a potent anti-influenza therapeutic without the inflammatory side effects of IFNalpha treatment. *EMBO molecular medicine*. 2016;8(9):1099-112. Epub 2016/08/16.
103. Gao S, von der Malsburg A, Dick A, Faelber K, Schroder GF, Haller O, et al. Structure of myxovirus resistance protein a reveals intra- and intermolecular domain interactions required for the antiviral function. *Immunity*. 2011;35(4):514-25. Epub 2011/10/04.
104. Pavlovic J, Haller O, Staeheli P. Human and mouse Mx proteins inhibit different steps of the influenza virus multiplication cycle. *Journal of virology*. 1992;66(4):2564-9. Epub 1992/04/01.
105. Evans CH. Cytokines and viral anti-immune genes. *Stem cells*. 1996;14(2):177-84. Epub 1996/03/01.
106. Brass AL, Huang IC, Benita Y, John SP, Krishnan MN, Feeley EM, et al. The IFITM proteins mediate cellular resistance to influenza A H1N1 virus, West Nile virus, and dengue virus. *Cell*. 2009;139(7):1243-54. Epub 2010/01/13.
107. Garcia-Sastre A. Induction and evasion of type I interferon responses by influenza viruses. *Virus research*. 2011;162(1-2):12-8. Epub 2011/10/27.
108. Liu SY, Aliyari R, Chikere K, Li G, Marsden MD, Smith JK, et al. Interferon-inducible cholesterol-25-hydroxylase broadly inhibits viral entry by production of 25-hydroxycholesterol. *Immunity*. 2013;38(1):92-105. Epub 2013/01/01.
109. Gack MU, Shin YC, Joo CH, Urano T, Liang C, Sun L, et al. TRIM25 RING-finger E3 ubiquitin ligase is essential for RIG-I-mediated antiviral activity. *Nature*. 2007;446(7138):916-20. Epub 2007/03/30.
110. Fu B, Wang L, Ding H, Schwamborn JC, Li S, Dorf ME. TRIM32 Senses and Restricts Influenza A Virus by Ubiquitination of PB1 Polymerase. *PLoS pathogens*. 2015;11(6):e1004960. Epub 2015/06/10.
111. Tang Q, Wang X, Gao G. The Short Form of the Zinc Finger Antiviral Protein Inhibits Influenza A Virus Protein Expression and Is Antagonized by the Virus-Encoded NS1. *Journal of virology*. 2017;91(2). Epub 2016/11/04.
112. Chakrabarti A, Jha BK, Silverman RH. New insights into the role of RNase L in innate immunity. *Journal of interferon & cytokine research : the official journal of the International Society for Interferon and Cytokine Research*. 2011;31(1):49-57. Epub 2010/12/31.
113. Dauber B, Martinez-Sobrido L, Schneider J, Hai R, Waibler Z, Kalinke U, et al. Influenza B virus ribonucleoprotein is a potent activator of the antiviral kinase PKR. *PLoS pathogens*. 2009;5(6):e1000473. Epub 2009/06/13.

114. Hsiang TY, Zhao C, Krug RM. Interferon-induced ISG15 conjugation inhibits influenza A virus gene expression and replication in human cells. *Journal of virology*. 2009;83(12):5971-7. Epub 2009/04/10.
115. Wang X, Hinson ER, Cresswell P. The interferon-inducible protein viperin inhibits influenza virus release by perturbing lipid rafts. *Cell host & microbe*. 2007;2(2):96-105. Epub 2007/11/17.
116. Mangeat B, Cavagliotti L, Lehmann M, Gers-Huber G, Kaur I, Thomas Y, et al. Influenza virus partially counteracts restriction imposed by tetherin/BST-2. *The Journal of biological chemistry*. 2012;287(26):22015-29. Epub 2012/04/12.
117. Chan RW, Yuen KM, Yu WC, Ho CC, Nicholls JM, Peiris JS, et al. Influenza H5N1 and H1N1 virus replication and innate immune responses in bronchial epithelial cells are influenced by the state of differentiation. *PloS one*. 2010;5(1):e8713. Epub 2010/01/22.
118. Hsu AC, Barr I, Hansbro PM, Wark PA. Human influenza is more effective than avian influenza at antiviral suppression in airway cells. *American journal of respiratory cell and molecular biology*. 2011;44(6):906-13. Epub 2010/08/14.
119. Zeng H, Goldsmith C, Thawatsupha P, Chittaganpitch M, Waicharoen S, Zaki S, et al. Highly pathogenic avian influenza H5N1 viruses elicit an attenuated type I interferon response in polarized human bronchial epithelial cells. *Journal of virology*. 2007;81(22):12439-49. Epub 2007/09/15.
120. Chan MC, Cheung CY, Chui WH, Tsao SW, Nicholls JM, Chan YO, et al. Proinflammatory cytokine responses induced by influenza A (H5N1) viruses in primary human alveolar and bronchial epithelial cells. *Respiratory research*. 2005;6:135. Epub 2005/11/15.
121. Yu WC, Chan RW, Wang J, Travanty EA, Nicholls JM, Peiris JS, et al. Viral replication and innate host responses in primary human alveolar epithelial cells and alveolar macrophages infected with influenza H5N1 and H1N1 viruses. *Journal of virology*. 2011;85(14):6844-55. Epub 2011/05/06.
122. Unkel B, Hoegner K, Clausen BE, Lewe-Schlosser P, Bodner J, Gattenloehner S, et al. Alveolar epithelial cells orchestrate DC function in murine viral pneumonia. *The Journal of clinical investigation*. 2012;122(10):3652-64. Epub 2012/09/22.
123. Herold S, von Wulffen W, Steinmueller M, Pleschka S, Kuziel WA, Mack M, et al. Alveolar epithelial cells direct monocyte transepithelial migration upon influenza virus infection: impact of chemokines and adhesion molecules. *Journal of immunology*. 2006;177(3):1817-24. Epub 2006/07/20.
124. Hashimoto Y, Moki T, Takizawa T, Shiratsuchi A, Nakanishi Y. Evidence for phagocytosis of influenza virus-infected, apoptotic cells by neutrophils and macrophages in mice. *Journal of immunology*. 2007;178(4):2448-57. Epub 2007/02/06.
125. Hoeve MA, Nash AA, Jackson D, Randall RE, Dransfield I. Influenza virus A infection of human monocyte and macrophage subpopulations reveals increased susceptibility associated with cell differentiation. *PloS one*. 2012;7(1):e29443. Epub 2012/01/13.

126. Tate MD, Brooks AG, Reading PC. Inhibition of lectin-mediated innate host defences in vivo modulates disease severity during influenza virus infection. *Immunology and cell biology*. 2011;89(3):482-91. Epub 2010/10/13.
127. Tate MD, Pickett DL, van Rooijen N, Brooks AG, Reading PC. Critical role of airway macrophages in modulating disease severity during influenza virus infection of mice. *Journal of virology*. 2010;84(15):7569-80. Epub 2010/05/28.
128. Cao W, Taylor AK, Biber RE, Davis WG, Kim JH, Reber AJ, et al. Rapid differentiation of monocytes into type I IFN-producing myeloid dendritic cells as an antiviral strategy against influenza virus infection. *Journal of immunology*. 2012;189(5):2257-65. Epub 2012/08/03.
129. Lin KL, Suzuki Y, Nakano H, Ramsburg E, Gunn MD. CCR2+ monocyte-derived dendritic cells and exudate macrophages produce influenza-induced pulmonary immune pathology and mortality. *Journal of immunology*. 2008;180(4):2562-72. Epub 2008/02/06.
130. Brandes M, Klauschen F, Kuchen S, Germain RN. A systems analysis identifies a feedforward inflammatory circuit leading to lethal influenza infection. *Cell*. 2013;154(1):197-212. Epub 2013/07/06.
131. Fujisawa H. Inhibitory role of neutrophils on influenza virus multiplication in the lungs of mice. *Microbiology and immunology*. 2001;45(10):679-88. Epub 2002/01/05.
132. Mendelson M, Tekoah Y, Zilka A, Gershoni-Yahalom O, Gazit R, Achdout H, et al. NKp46 O-glycan sequences that are involved in the interaction with hemagglutinin type 1 of influenza virus. *Journal of virology*. 2010;84(8):3789-97. Epub 2010/02/12.
133. van Helden MJ, Zaiss DM, Sijts AJ. CCR2 defines a distinct population of NK cells and mediates their migration during influenza virus infection in mice. *PloS one*. 2012;7(12):e52027. Epub 2012/12/29.
134. Guo H, Kumar P, Moran TM, Garcia-Sastre A, Zhou Y, Malarkannan S. The functional impairment of natural killer cells during influenza virus infection. *Immunology and cell biology*. 2009;87(8):579-89. Epub 2009/09/02.
135. Haniffa M, Shin A, Bigley V, McGovern N, Teo P, See P, et al. Human tissues contain CD141hi cross-presenting dendritic cells with functional homology to mouse CD103+ nonlymphoid dendritic cells. *Immunity*. 2012;37(1):60-73. Epub 2012/07/17.
136. Heer AK, Harris NL, Kopf M, Marsland BJ. CD4+ and CD8+ T cells exhibit differential requirements for CCR7-mediated antigen transport during influenza infection. *Journal of immunology*. 2008;181(10):6984-94. Epub 2008/11/05.
137. GeurtsvanKessel CH, Willart MA, van Rijt LS, Muskens F, Kool M, Baas C, et al. Clearance of influenza virus from the lung depends on migratory langerin+CD11b- but not plasmacytoid dendritic cells. *The Journal of experimental medicine*. 2008;205(7):1621-34. Epub 2008/07/02.
138. McGill J, Van Rooijen N, Legge KL. Protective influenza-specific CD8 T cell responses require interactions with dendritic cells in the lungs. *The Journal of experimental medicine*. 2008;205(7):1635-46. Epub 2008/07/02.

139. van der Vries E, Collins PJ, Vachieri SG, Xiong X, Liu J, Walker PA, et al. H1N1 2009 pandemic influenza virus: resistance of the I223R neuraminidase mutant explained by kinetic and structural analysis. *PLoS pathogens*. 2012;8(9):e1002914. Epub 2012/10/03.
140. GeurtsvanKessel CH, Willart MA, Bergen IM, van Rijt LS, Muskens F, Elewaut D, et al. Dendritic cells are crucial for maintenance of tertiary lymphoid structures in the lung of influenza virus-infected mice. *The Journal of experimental medicine*. 2009;206(11):2339-49. Epub 2009/10/08.
141. Wang H, Hogquist KA. How MAIT cells get their start. *Nature immunology*. 2016;17(11):1238-40. Epub 2016/10/21.
142. van Wilgenburg B, Scherwitzl I, Hutchinson EC, Leng T, Kurioka A, Kulicke C, et al. MAIT cells are activated during human viral infections. *Nature communications*. 2016;7:11653. Epub 2016/06/24.
143. McCullers JA. The co-pathogenesis of influenza viruses with bacteria in the lung. *Nature reviews Microbiology*. 2014;12(4):252-62. Epub 2014/03/05.
144. Bendelac A, Savage PB, Teyton L. The biology of NKT cells. *Annual review of immunology*. 2007;25:297-336. Epub 2006/12/08.
145. Kok WL, Denney L, Benam K, Cole S, Clelland C, McMichael AJ, et al. Pivotal Advance: Invariant NKT cells reduce accumulation of inflammatory monocytes in the lungs and decrease immune-pathology during severe influenza A virus infection. *Journal of leukocyte biology*. 2012;91(3):357-68. Epub 2011/10/18.
146. Paget C, Ivanov S, Fontaine J, Blanc F, Pichavant M, Renneson J, et al. Potential role of invariant NKT cells in the control of pulmonary inflammation and CD8+ T cell response during acute influenza A virus H3N2 pneumonia. *Journal of immunology*. 2011;186(10):5590-602. Epub 2011/04/15.
147. De Santo C, Salio M, Masri SH, Lee LY, Dong T, Speak AO, et al. Invariant NKT cells reduce the immunosuppressive activity of influenza A virus-induced myeloid-derived suppressor cells in mice and humans. *The Journal of clinical investigation*. 2008;118(12):4036-48. Epub 2008/11/27.
148. Nussing S, Sant S, Koutsakos M, Subbarao K, Nguyen THO, Kedzierska K. Innate and adaptive T cells in influenza disease. *Frontiers of medicine*. 2018;12(1):34-47. Epub 2018/01/21.
149. Bonneville M, Scotet E. Human Vgamma9Vdelta2 T cells: promising new leads for immunotherapy of infections and tumors. *Current opinion in immunology*. 2006;18(5):539-46. Epub 2006/07/28.
150. Cheng H, Jin C, Wu J, Zhu S, Liu YJ, Chen J. Guards at the gate: physiological and pathological roles of tissue-resident innate lymphoid cells in the lung. *Protein & cell*. 2017;8(12):878-95. Epub 2017/03/09.
151. Spits H, Cupedo T. Innate lymphoid cells: emerging insights in development, lineage relationships, and function. *Annual review of immunology*. 2012;30:647-75. Epub 2012/01/10.
152. Karta MR, Broide DH, Doherty TA. Insights into Group 2 Innate Lymphoid Cells in Human Airway Disease. *Current allergy and asthma reports*. 2016;16(1):8. Epub 2016/01/10.

153. Spits H, Di Santo JP. The expanding family of innate lymphoid cells: regulators and effectors of immunity and tissue remodeling. *Nature immunology*. 2011;12(1):21-7. Epub 2010/11/30.
154. Eberl G, Colonna M, Di Santo JP, McKenzie AN. Innate lymphoid cells. *Innate lymphoid cells: a new paradigm in immunology*. *Science*. 2015;348(6237):aaa6566. Epub 2015/05/23.
155. Fan DC, Wang XD, Wang CS, Wang Y, Cao FF, Zhang L. Suppression of Immunotherapy on Group 2 Innate Lymphoid Cells in Allergic Rhinitis. *Chinese medical journal*. 2016;129(23):2824-8. Epub 2016/12/03.
156. Silver JS, Kearley J, Copenhaver AM, Sanden C, Mori M, Yu L, et al. Inflammatory triggers associated with exacerbations of COPD orchestrate plasticity of group 2 innate lymphoid cells in the lungs. *Nature immunology*. 2016;17(6):626-35. Epub 2016/04/26.
157. Chang YJ, Kim HY, Albacker LA, Baumgarth N, McKenzie AN, Smith DE, et al. Innate lymphoid cells mediate influenza-induced airway hyper-reactivity independently of adaptive immunity. *Nature immunology*. 2011;12(7):631-8. Epub 2011/05/31.
158. Gorski SA, Hahn YS, Braciale TJ. Group 2 innate lymphoid cell production of IL-5 is regulated by NKT cells during influenza virus infection. *PLoS pathogens*. 2013;9(9):e1003615. Epub 2013/09/27.
159. Mazanec MB, Coudret CL, Fletcher DR. Intracellular neutralization of influenza virus by immunoglobulin A anti-hemagglutinin monoclonal antibodies. *Journal of virology*. 1995;69(2):1339-43. Epub 1995/02/01.
160. Murphy BR, Clements ML. The systemic and mucosal immune response of humans to influenza A virus. *Current topics in microbiology and immunology*. 1989;146:107-16. Epub 1989/01/01.
161. Zuercher AW, Coffin SE, Thurnheer MC, Fundova P, Cebra JJ. Nasal-associated lymphoid tissue is a mucosal inductive site for virus-specific humoral and cellular immune responses. *Journal of immunology*. 2002;168(4):1796-803. Epub 2002/02/02.
162. Mikhak Z, Strassner JP, Luster AD. Lung dendritic cells imprint T cell lung homing and promote lung immunity through the chemokine receptor CCR4. *The Journal of experimental medicine*. 2013;210(9):1855-69. Epub 2013/08/21.
163. Lin HC, Chiu HF, Ho SC, Yang CY. Association of influenza vaccination and reduced risk of stroke hospitalization among the elderly: a population-based case-control study. *International journal of environmental research and public health*. 2014;11(4):3639-49. Epub 2014/04/05.
164. Van TT, Miller J, Warshauer DM, Reisdorf E, Jernigan D, Humes R, et al. Pooling nasopharyngeal/throat swab specimens to increase testing capacity for influenza viruses by PCR. *Journal of clinical microbiology*. 2012;50(3):891-6. Epub 2011/12/30.
165. Narasaraju T, Yang E, Samy RP, Ng HH, Poh WP, Liew AA, et al. Excessive neutrophils and neutrophil extracellular traps contribute to acute lung injury of influenza pneumonitis. *The American journal of pathology*. 2011;179(1):199-210. Epub 2011/06/28.
166. Aldridge JR, Jr., Moseley CE, Boltz DA, Negovetich NJ, Reynolds C, Franks J, et al. TNF/iNOS-producing dendritic cells are the necessary evil of lethal influenza virus infection.

Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. 2009;106(13):5306-11. Epub 2009/03/13.

167. Baumgarth N, Herman OC, Jager GC, Brown L, Herzenberg LA, Herzenberg LA. Innate and acquired humoral immunities to influenza virus are mediated by distinct arms of the immune system. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. 1999;96(5):2250-5. Epub 1999/03/03.

168. Choi YS, Baumgarth N. Dual role for B-1a cells in immunity to influenza virus infection. The Journal of experimental medicine. 2008;205(13):3053-64. Epub 2008/12/17.

169. Lam JH, Baumgarth N. The Multifaceted B Cell Response to Influenza Virus. Journal of immunology. 2019;202(2):351-9. Epub 2019/01/09.

170. Sealy R, Surman S, Hurwitz JL, Coleclough C. Antibody response to influenza infection of mice: different patterns for glycoprotein and nucleocapsid antigens. Immunology. 2003;108(4):431-9. Epub 2003/04/02.

171. Sangster MY, Riberdy JM, Gonzalez M, Topham DJ, Baumgarth N, Doherty PC. An early CD4+ T cell-dependent immunoglobulin A response to influenza infection in the absence of key cognate T-B interactions. The Journal of experimental medicine. 2003;198(7):1011-21. Epub 2003/10/01.

172. MacLennan IC, Toellner KM, Cunningham AF, Serre K, Sze DM, Zuniga E, et al. Extrafollicular antibody responses. Immunological reviews. 2003;194:8-18. Epub 2003/07/09.

173. Kavalier J, Caton AJ, Staudt LM, Gerhard W. A B cell population that dominates the primary response to influenza virus hemagglutinin does not participate in the memory response. European journal of immunology. 1991;21(11):2687-95. Epub 1991/11/01.

174. Damdinsuren B, Zhang Y, Khalil A, Wood WH, 3rd, Becker KG, Shlomchik MJ, et al. Single round of antigen receptor signaling programs naive B cells to receive T cell help. Immunity. 2010;32(3):355-66. Epub 2010/03/17.

175. Murphy BR, Kasel JA, Chanock RM. Association of serum anti-neuraminidase antibody with resistance to influenza in man. The New England journal of medicine. 1972;286(25):1329-32. Epub 1972/06/22.

176. Johansson BE, Bucher DJ, Kilbourne ED. Purified influenza virus hemagglutinin and neuraminidase are equivalent in stimulation of antibody response but induce contrasting types of immunity to infection. Journal of virology. 1989;63(3):1239-46. Epub 1989/03/01.

177. Palladino G, Mozdzanowska K, Washko G, Gerhard W. Virus-neutralizing antibodies of immunoglobulin G (IgG) but not of IgM or IgA isotypes can cure influenza virus pneumonia in SCID mice. Journal of virology. 1995;69(4):2075-81. Epub 1995/04/01.

178. Renegar KB, Small PA, Jr., Boykins LG, Wright PF. Role of IgA versus IgG in the control of influenza viral infection in the murine respiratory tract. Journal of immunology. 2004;173(3):1978-86. Epub 2004/07/22.

179. Legge KL, Braciale TJ. Accelerated migration of respiratory dendritic cells to the regional lymph nodes is limited to the early phase of pulmonary infection. Immunity. 2003;18(2):265-77. Epub 2003/02/22.

180. Silver ML, Guo HC, Strominger JL, Wiley DC. Atomic structure of a human MHC molecule presenting an influenza virus peptide. *Nature*. 1992;360(6402):367-9. Epub 1992/11/26.
181. Belz GT, Smith CM, Eichner D, Shortman K, Karupiah G, Carbone FR, et al. Cutting edge: conventional CD8 alpha+ dendritic cells are generally involved in priming CTL immunity to viruses. *Journal of immunology*. 2004;172(4):1996-2000. Epub 2004/02/07.
182. Brown DM, Lee S, Garcia-Hernandez Mde L, Swain SL. Multifunctional CD4 cells expressing gamma interferon and perforin mediate protection against lethal influenza virus infection. *Journal of virology*. 2012;86(12):6792-803. Epub 2012/04/12.
183. McKinstry KK, Strutt TM, Kuang Y, Brown DM, Sell S, Dutton RW, et al. Memory CD4+ T cells protect against influenza through multiple synergizing mechanisms. *The Journal of clinical investigation*. 2012;122(8):2847-56. Epub 2012/07/24.
184. Magram J, Connaughton SE, Warriar RR, Carvajal DM, Wu CY, Ferrante J, et al. IL-12-deficient mice are defective in IFN gamma production and type 1 cytokine responses. *Immunity*. 1996;4(5):471-81. Epub 1996/05/01.
185. Pape KA, Khoruts A, Mondino A, Jenkins MK. Inflammatory cytokines enhance the in vivo clonal expansion and differentiation of antigen-activated CD4+ T cells. *Journal of immunology*. 1997;159(2):591-8. Epub 1997/07/15.
186. Zhu J, Paul WE. Peripheral CD4+ T-cell differentiation regulated by networks of cytokines and transcription factors. *Immunological reviews*. 2010;238(1):247-62. Epub 2010/10/26.
187. Stuber E, Strober W. The T cell-B cell interaction via OX40-OX40L is necessary for the T cell-dependent humoral immune response. *The Journal of experimental medicine*. 1996;183(3):979-89. Epub 1996/03/01.
188. Szabo SJ, Kim ST, Costa GL, Zhang X, Fathman CG, Glimcher LH. A novel transcription factor, T-bet, directs Th1 lineage commitment. *Cell*. 2000;100(6):655-69. Epub 2000/04/13.
189. Swain SL, McKinstry KK, Strutt TM. Expanding roles for CD4(+) T cells in immunity to viruses. *Nature reviews Immunology*. 2012;12(2):136-48. Epub 2012/01/24.
190. Lamb JR, Eckels DD, Phelan M, Lake P, Woody JN. Antigen-specific human T lymphocyte clones: viral antigen specificity of influenza virus-immune clones. *Journal of immunology*. 1982;128(3):1428-32. Epub 1982/03/01.
191. Mukherjee S, Vipat VC, Mishra AC, Pawar SD, Chakrabarti AK. Pandemic (H1N1) 2009 influenza virus induces weaker host immune responses in vitro: a possible mechanism of high transmissibility. *Virology journal*. 2011;8:140. Epub 2011/03/29.
192. Pipkin ME, Sacks JA, Cruz-Guilloty F, Lichtenheld MG, Bevan MJ, Rao A. Interleukin-2 and inflammation induce distinct transcriptional programs that promote the differentiation of effector cytolytic T cells. *Immunity*. 2010;32(1):79-90. Epub 2010/01/26.
193. Whitmire JK, Tan JT, Whitton JL. Interferon-gamma acts directly on CD8+ T cells to increase their abundance during virus infection. *The Journal of experimental medicine*. 2005;201(7):1053-9. Epub 2005/04/06.



194. Rangel-Moreno J, Carragher DM, de la Luz Garcia-Hernandez M, Hwang JY, Kusser K, Hartson L, et al. The development of inducible bronchus-associated lymphoid tissue depends on IL-17. *Nature immunology*. 2011;12(7):639-46. Epub 2011/06/15.
195. Lawrence CW, Ream RM, Braciale TJ. Frequency, specificity, and sites of expansion of CD8+ T cells during primary pulmonary influenza virus infection. *Journal of immunology*. 2005;174(9):5332-40. Epub 2005/04/22.
196. van Domselaar R, Bovenschen N. Cell death-independent functions of granzymes: hit viruses where it hurts. *Reviews in medical virology*. 2011;21(5):301-14. Epub 2011/06/30.
197. Andrade F. Non-cytotoxic antiviral activities of granzymes in the context of the immune antiviral state. *Immunological reviews*. 2010;235(1):128-46. Epub 2010/06/12.
198. Allie SR, Randall TD. Pulmonary immunity to viruses. *Clinical science*. 2017;131(14):1737-62. Epub 2017/07/02.
199. van Gisbergen KP, Klarenbeek PL, Kragten NA, Unger PP, Nieuwenhuis MB, Wensveen FM, et al. The costimulatory molecule CD27 maintains clonally diverse CD8(+) T cell responses of low antigen affinity to protect against viral variants. *Immunity*. 2011;35(1):97-108. Epub 2011/07/19.
200. Valkenburg SA, Venturi V, Dang TH, Bird NL, Doherty PC, Turner SJ, et al. Early priming minimizes the age-related immune compromise of CD8(+) T cell diversity and function. *PLoS pathogens*. 2012;8(2):e1002544. Epub 2012/03/03.
201. Grant EJ, Quinones-Parra SM, Clemens EB, Kedzierska K. Human influenza viruses and CD8(+) T cell responses. *Current opinion in virology*. 2016;16:132-42. Epub 2016/03/15.
202. Puleston DJ, Zhang H, Powell TJ, Lipina E, Sims S, Panse I, et al. Autophagy is a critical regulator of memory CD8(+) T cell formation. *eLife*. 2014;3. Epub 2014/11/12.
203. Pizzolla A, Nguyen THO, Smith JM, Brooks AG, Kedzieska K, Heath WR, et al. Resident memory CD8(+) T cells in the upper respiratory tract prevent pulmonary influenza virus infection. *Science immunology*. 2017;2(12). Epub 2017/08/08.
204. Ahmed R, Gray D. Immunological memory and protective immunity: understanding their relation. *Science*. 1996;272(5258):54-60. Epub 1996/04/05.
205. Woodland DL, Scott I. T cell memory in the lung airways. *Proceedings of the American Thoracic Society*. 2005;2(2):126-31. Epub 2005/08/23.
206. de Bree GJ, van Leeuwen EM, Out TA, Jansen HM, Jonkers RE, van Lier RA. Selective accumulation of differentiated CD8+ T cells specific for respiratory viruses in the human lung. *The Journal of experimental medicine*. 2005;202(10):1433-42. Epub 2005/11/23.
207. Woodland DL. Cell-mediated immunity to respiratory virus infections. *Current opinion in immunology*. 2003;15(4):430-5. Epub 2003/08/06.
208. Xia C, Vijayan M, Pritzl CJ, Fuchs SY, McDermott AB, Hahm B. Hemagglutinin of Influenza A Virus Antagonizes Type I Interferon (IFN) Responses by Inducing Degradation of Type I IFN Receptor 1. *Journal of virology*. 2015;90(5):2403-17. Epub 2015/12/18.

209. Peacock T, Reddy K, James J, Adamiak B, Barclay W, Shelton H, et al. Antigenic mapping of an H9N2 avian influenza virus reveals two discrete antigenic sites and a novel mechanism of immune escape. *Scientific reports*. 2016;6:18745. Epub 2016/01/08.
210. Herve PL, Lorin V, Jouvion G, Da Costa B, Escriou N. Addition of N-glycosylation sites on the globular head of the H5 hemagglutinin induces the escape of highly pathogenic avian influenza A H5N1 viruses from vaccine-induced immunity. *Virology*. 2015;486:134-45. Epub 2015/10/04.
211. Gack MU, Albrecht RA, Urano T, Inn KS, Huang IC, Carnero E, et al. Influenza A virus NS1 targets the ubiquitin ligase TRIM25 to evade recognition by the host viral RNA sensor RIG-I. *Cell host & microbe*. 2009;5(5):439-49. Epub 2009/05/21.
212. Li X, Yu Z, Sun W, Chen Q, Wang T, Yang S, et al. [Effect of Deletion of the Carboxyl Terminal of the NS1 Protein on Pathogenicity of the Influenza B Virus]. *Bing du xue bao = Chinese journal of virology*. 2015;31(4):404-9. Epub 2015/11/04.
213. Jia D, Rahbar R, Chan RW, Lee SM, Chan MC, Wang BX, et al. Influenza virus non-structural protein 1 (NS1) disrupts interferon signaling. *PloS one*. 2010;5(11):e13927. Epub 2010/11/19.
214. Anastasina M, Le May N, Bugai A, Fu Y, Soderholm S, Gaelings L, et al. Influenza virus NS1 protein binds cellular DNA to block transcription of antiviral genes. *Biochimica et biophysica acta*. 2016;1859(11):1440-8. Epub 2016/10/21.
215. Fernandez-Sesma A, Marukian S, Ebersole BJ, Kaminski D, Park MS, Yuen T, et al. Influenza virus evades innate and adaptive immunity via the NS1 protein. *Journal of virology*. 2006;80(13):6295-304. Epub 2006/06/16.
216. Varga ZT, Ramos I, Hai R, Schmolke M, Garcia-Sastre A, Fernandez-Sesma A, et al. The influenza virus protein PB1-F2 inhibits the induction of type I interferon at the level of the MAVS adaptor protein. *PLoS pathogens*. 2011;7(6):e1002067. Epub 2011/06/23.
217. Iwai A, Shiozaki T, Kawai T, Akira S, Kawaoka Y, Takada A, et al. Influenza A virus polymerase inhibits type I interferon induction by binding to interferon beta promoter stimulator 1. *The Journal of biological chemistry*. 2010;285(42):32064-74. Epub 2010/08/12.
218. Munz C. Influenza A virus lures autophagic protein LC3 to budding sites. *Cell host & microbe*. 2014;15(2):130-1. Epub 2014/02/18.
219. Gennery AR, Cant AJ. Diagnosis of severe combined immunodeficiency. *Journal of clinical pathology*. 2001;54(3):191-5. Epub 2001/03/17.
220. Al-Herz W, Bousfiha A, Casanova JL, Chatila T, Conley ME, Cunningham-Rundles C, et al. Primary immunodeficiency diseases: an update on the classification from the international union of immunological societies expert committee for primary immunodeficiency. *Frontiers in immunology*. 2014;5:162. Epub 2014/05/06.
221. Ciancanelli MJ, Abel L, Zhang SY, Casanova JL. Host genetics of severe influenza: from mouse Mx1 to human IRF7. *Current opinion in immunology*. 2016;38:109-20. Epub 2016/01/14.
222. Pasquet M, Bellanne-Chantelot C, Tavitian S, Prade N, Beaupain B, Larochelle O, et al. High frequency of GATA2 mutations in patients with mild chronic neutropenia evolving to

MonoMac syndrome, myelodysplasia, and acute myeloid leukemia. *Blood*. 2013;121(5):822-9. Epub 2012/12/12.

223. Bigley V, Haniffa M, Doulatov S, Wang XN, Dickinson R, McGovern N, et al. The human syndrome of dendritic cell, monocyte, B and NK lymphoid deficiency. *The Journal of experimental medicine*. 2011;208(2):227-34. Epub 2011/01/19.

224. Bousfiha A, Jeddane L, Picard C, Ailal F, Bobby Gaspar H, Al-Herz W, et al. The 2017 IUIS Phenotypic Classification for Primary Immunodeficiencies. *Journal of clinical immunology*. 2018;38(1):129-43. Epub 2017/12/12.

225. Hernandez N, Melki I, Jing H, Habib T, Huang SSY, Danielson J, et al. Life-threatening influenza pneumonitis in a child with inherited IRF9 deficiency. *The Journal of experimental medicine*. 2018;215(10):2567-85. Epub 2018/08/26.

226. Rynda-Apple A, Robinson KM, Alcorn JF. Influenza and Bacterial Superinfection: Illuminating the Immunologic Mechanisms of Disease. *Infection and immunity*. 2015;83(10):3764-70. Epub 2015/07/29.

227. Ghoneim HE, Thomas PG, McCullers JA. Depletion of alveolar macrophages during influenza infection facilitates bacterial superinfections. *Journal of immunology*. 2013;191(3):1250-9. Epub 2013/06/28.

228. Sun K, Metzger DW. Inhibition of pulmonary antibacterial defense by interferon-gamma during recovery from influenza infection. *Nature medicine*. 2008;14(5):558-64. Epub 2008/04/29.

229. Robinson KM, McHugh KJ, Mandalapu S, Clay ME, Lee B, Scheller EV, et al. Influenza A virus exacerbates *Staphylococcus aureus* pneumonia in mice by attenuating antimicrobial peptide production. *The Journal of infectious diseases*. 2014;209(6):865-75. Epub 2013/09/28.

230. Shahangian A, Chow EK, Tian X, Kang JR, Ghaffari A, Liu SY, et al. Type I IFNs mediate development of postinfluenza bacterial pneumonia in mice. *The Journal of clinical investigation*. 2009;119(7):1910-20. Epub 2009/06/03.

231. Nakamura S, Davis KM, Weiser JN. Synergistic stimulation of type I interferons during influenza virus coinfection promotes *Streptococcus pneumoniae* colonization in mice. *The Journal of clinical investigation*. 2011;121(9):3657-65. Epub 2011/08/16.

232. Robinson KM, Choi SM, McHugh KJ, Mandalapu S, Enelow RI, Kolls JK, et al. Influenza A exacerbates *Staphylococcus aureus* pneumonia by attenuating IL-1beta production in mice. *Journal of immunology*. 2013;191(10):5153-9. Epub 2013/10/04.

233. Kudva A, Scheller EV, Robinson KM, Crowe CR, Choi SM, Slight SR, et al. Influenza A inhibits Th17-mediated host defense against bacterial pneumonia in mice. *Journal of immunology*. 2011;186(3):1666-74. Epub 2010/12/24.

234. Small CL, Shaler CR, McCormick S, Jeyanathan M, Damjanovic D, Brown EG, et al. Influenza infection leads to increased susceptibility to subsequent bacterial superinfection by impairing NK cell responses in the lung. *Journal of immunology*. 2010;184(4):2048-56. Epub 2010/01/20.

235. Robinson KM, Kolls JK, Alcorn JF. The immunology of influenza virus-associated bacterial pneumonia. *Current opinion in immunology*. 2015;34:59-67. Epub 2015/02/28.
236. Li C, Yang P, Sun Y, Li T, Wang C, Wang Z, et al. IL-17 response mediates acute lung injury induced by the 2009 pandemic influenza A (H1N1) virus. *Cell research*. 2012;22(3):528-38. Epub 2011/10/26.
237. Didierlaurent A, Goulding J, Patel S, Snelgrove R, Low L, Bebien M, et al. Sustained desensitization to bacterial Toll-like receptor ligands after resolution of respiratory influenza infection. *The Journal of experimental medicine*. 2008;205(2):323-9. Epub 2008/01/30.
238. Rodriguez-Roisin R, Roca J. Mechanisms of hypoxemia. *Intensive care medicine*. 2005;31(8):1017-9. Epub 2005/07/30.
239. David Jf, Richard, M.S. The evaluation, diagnosis, and treatment of the adult patient with acute hypercapnic respiratory failure. 2017 [cited 2018 May ]; Post, KJS (Ed):[
240. Lei X, Xiao X, Xue Q, Jin Q, He B, Wang J. Cleavage of interferon regulatory factor 7 by enterovirus 71 3C suppresses cellular responses. *Journal of virology*. 2013;87(3):1690-8. Epub 2012/11/24.
241. Fica A, Sotomayor V, Fasce R, Dabanch J, Soto A, Charpentier P, et al. Severe acute respiratory infections (SARI) from influenza in adult patients in Chile: the experience of a sentinel hospital. *Revista panamericana de salud publica = Pan American journal of public health*. 2019;43:e1. Epub 2019/05/17.
242. Lobo SM, Watanabe ASA, Salomao MLM, Queiroz F, Gandolfi JV, de Oliveira NE, et al. Excess mortality is associated with influenza A (H1N1) in patients with severe acute respiratory illness. *Journal of clinical virology : the official publication of the Pan American Society for Clinical Virology*. 2019;116:62-8. Epub 2019/05/20.
243. Gounder AP, Boon ACM. Influenza Pathogenesis: The Effect of Host Factors on Severity of Disease. *Journal of immunology*. 2019;202(2):341-50. Epub 2019/01/09.
244. Schatorje EJ, Gemen EF, Driessen GJ, Leuvenink J, van Hout RW, van der Burg M, et al. Age-matched reference values for B-lymphocyte subpopulations and CVID classifications in children. *Scandinavian journal of immunology*. 2011;74(5):502-10. Epub 2011/08/06.
245. Boyden AW, Frickman AM, Legge KL, Waldschmidt TJ. Primary and long-term B-cell responses in the upper airway and lung after influenza A virus infection. *Immunologic research*. 2014;59(1-3):73-80. Epub 2014/05/20.
246. Takahashi Y, Onodera T, Adachi Y, Ato M. Adaptive B Cell Responses to Influenza Virus Infection in the Lung. *Viral immunology*. 2017;30(6):431-7. Epub 2017/07/01.
247. Gonzalez Y, Juarez E, Carranza C, Sada E, Pedraza-Sanchez S, Torres M. Diminished effector and memory CD8+ circulating T lymphocytes in patients with severe influenza caused by the AH1N1 pdm09 virus. *Virology*. 2017;500:139-48. Epub 2016/11/07.
248. Gotch F, McMichael A, Smith G, Moss B. Identification of viral molecules recognized by influenza-specific human cytotoxic T lymphocytes. *The Journal of experimental medicine*. 1987;165(2):408-16. Epub 1987/02/01.

249. van de Sandt CE, Hillaire ML, Geelhoed-Mieras MM, Osterhaus AD, Fouchier RA, Rimmelzwaan GF. Human Influenza A Virus-Specific CD8+ T-Cell Response Is Long-lived. *The Journal of infectious diseases*. 2015;212(1):81-5. Epub 2015/01/15.
250. Stambas J, Doherty PC, Turner SJ. An in vivo cytotoxicity threshold for influenza A virus-specific effector and memory CD8(+) T cells. *Journal of immunology*. 2007;178(3):1285-92. Epub 2007/01/24.
251. Yao Q, An X, Zhang J, Mu K, Li L, Song R, et al. IRF7 Gene Variations Confer Susceptibility to Autoimmune Thyroid Diseases and Graves' Ophthalmopathy. *International journal of endocrinology*. 2019;2019:7429187. Epub 2019/02/19.
252. Lin LH, Ling P, Liu MF. The potential role of interferon-regulatory factor 7 among Taiwanese patients with systemic lupus erythematosus. *The Journal of rheumatology*. 2011;38(9):1914-9. Epub 2011/06/03.
253. Thomsen MM, Jorgensen SE, Gad HH, Storgaard M, Gjedsted J, Christiansen M, et al. Defective interferon priming and impaired antiviral responses in a patient with an IRF7 variant and severe influenza. *Medical microbiology and immunology*. 2019. Epub 2019/06/07.
254. Thomsen MM, Jorgensen SE, Storgaard M, Kristensen LS, Gjedsted J, Christiansen M, et al. Identification of an IRF3 variant and defective antiviral interferon responses in a patient with severe influenza. *European journal of immunology*. 2019. Epub 2019/06/30.
255. Lim HK, Huang SXL, Chen J, Kerner G, Gilliaux O, Bastard P, et al. Severe influenza pneumonitis in children with inherited TLR3 deficiency. *The Journal of experimental medicine*. 2019. Epub 2019/06/21.
256. Jorgensen SE, Christiansen M, Ryo LB, Gad HH, Gjedsted J, Staeheli P, et al. Defective RNA sensing by RIG-I in severe influenza virus infection. *Clinical and experimental immunology*. 2018;192(3):366-76. Epub 2018/02/18.

## 8. EKLER

### EK- 1: Tez Çalışması ile İlgili Etik Kurul İzni



**T.C.**  
**HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ**  
Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu

Sayı : 16969557 – 345

Konu : ARAŞTIRMA PROJESİ DEĞERLENDİRME RAPORU

**Toplantı Tarihi** : 28 ŞUBAT 2017 SALI  
**Toplantı No** : 2017/06  
**Proje No** : GO 17/114 (Değerlendirme Tarihi: 07.02.2017)  
**Karar No** : GO 17/114- 12

Üniversitemiz Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı öğretim elemanlarından Uzm. Dr. Nursel Çalık BAŞARAN' ın sorumlu araştırmacı olduğu, Prof. Dr. F. İlhan TEZCAN ve Uzm. Dr. Çağman Sun TAN ile birlikte çalışacakları, Uzm. Dr. Nursel Çalık BAŞARAN' ın yüksek lisans tezi olan, GO 17/114 kayıt numaralı, "Ağır İnfluenza Virüs İnfeksiyonu Görülen Kişilerde Irf7 Gen Mutasyonu Varlığının Araştırılması" başlıklı proje önerisi araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş olup, etik açıdan uygun bulunmuştur.

- |   |  |
|---|--|
| 1. Prof. Dr. Nurten AKARSU (Başkan)     | 10 Prof. Dr. Oya Nuran EMİROĞLU (Üye)      |
| 2. Prof. Dr. Sevda F. MÜFTÜOĞLU (Üye)   | 11 Yrd. Doç. Dr. Özay GÖKÖZ (Üye)          |
| 3. Prof. Dr. M. N. SARA (Üye)           | 12. Doç. Dr. Gözde GİRGİN (Üye)            |
| 4. Prof. Dr. Necdet SAĞLAM (Üye)        | 13. Doç. Dr. Fatma Visal OKUR (Üye)        |
| İZİNLİ                                  | İZİNLİ                                     |
| 5. Prof. Dr. Hatice Doğan BUZOĞLU (Üye) | 14. Yrd. Doç. Dr. Can Ebru KURT (Üye)      |
| İZİNLİ                                  |  |
| 6. Prof. Dr. R. Köksal ÖZGÜL (Üye)      | 15. Yrd. Doç. Dr. H. Hüsrev TURNAGÖL (Üye) |
| 7. Prof. Dr. Ayşe Lale DOĞAN (Üye)      | 16. Öğr. Gör. Dr. Müge DEMİR (Üye)         |
| 8. Prof. Dr. Elmas Ebru YALÇIN (Üye)    | 17. Öğr. Gör. Meltem ŞENGELEN (Üye)        |
| 9. Prof. Dr. Mintaze Kerem GÜNEL (Üye)  | 18. Av. Meltem ONURLU (Üye)                |

## EK- 2: Turnitin Ekran Görüntüsü

# AĞIR İNFLUENZA VİRÜS İNFEKSİYONU GÖRÜLEN KİŞİLERDE IRF7 GEN MUTASYONU VARLIĞININ ARAŞTIRILMASI

ORIJINALLIK RAPORU

%8

BENZERLİK ENDEKSİ

%7

İNTERNET  
KAYNAKLARI

%1

YAYINLAR

%5

ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

BİRİNCİL KAYNAKLAR

1

www.openaccess.hacettepe.edu.tr:8080  
İnternet Kaynağı

%5

2

Submitted to Hacettepe University  
Öğrenci Ödevi

<%1

3

febrilnotropeni.net  
İnternet Kaynağı

<%1

4

Submitted to Konya Necmettin Erbakan  
University  
Öğrenci Ödevi

<%1

5

www.researchgate.net  
İnternet Kaynağı

<%1

6

link.springer.com  
İnternet Kaynağı

<%1

7

anneoluncaanladim.net  
İnternet Kaynağı

<%1

8

aofdersler.com

*J. Z. K.*

## EK-3: Dijital Makbuz

[Skip to Main Content](#)



### Dijital Makbuz

Bu makbuz ödevinizin Turnitin'e ulaştığını bildirmektedir. Gönderiminize dair bilgiler şöyledir:

Gönderinizin ilk sayfası aşağıda gönderilmektedir.

Gönderen: Nursel Çalık Başaran  
Ödev başlığı: nursel2  
Gönderi Başlığı: AĞIR İNFLUENZA VİRÜS İNFEKSİY..  
Dosya adı: tez-turnitiniÅşin-12.09.2019.docx  
Dosya boyutu: 1.83M  
Sayfa sayısı: 90  
Kelime sayısı: 17,919  
Karakter sayısı: 117,579  
Gönderim Tarihi: 12-Eyl-2019 04:29ÖS (UTC+0300)  
Gönderim Numarası: 1171404021

#### 1. GİRİŞ

İnfluenza virüs enfeksiyonu (grip), dünyada epidemiler ve pandemiler yapacak türde birçok hastalık ve ölümlere yol açan bir enfeksiyondur (1). Ölkemizin de içinde olduğu kırıy 2010 yılında her yıl Aralık-Mart aylarındaki influenza sezonunda yoğun hastane başvuruları, hastane yatışları ve ölümler görülmektedir. Virüsün sık değişkenlik gösteren yapısı nedeniyle kalıcı ve çok etkili bir koruma yöntemi geliştirilmediği için geçmişte olduğu gibi gelecekte de influenza virüs enfeksiyonu sorun olmaya devam edecektir.

Özellikle küçük çocuklar, yaşlılar ve kronik hastalığı olan kişilerin enfeksiyona ve komplikasyonlara yakını olduğu literatürde iyi tanınlanmıştır. Ancak bucaı sıklıkla enfeksiyonda da ağır influenza enfeksiyona ve komplikasyonlara yakınılanlarda (2). Her grip sezonunda tanınlan. 2015 yılında, ağır influenza enfeksiyonu yaşayan bir çocukta ve nite biryazında yapılan genetik ve fonksiyonel çalışmalarla interferon reseptörüne fakile 7 (IRF7) geninde fonksiyon kaybına yol açan bir mutasyonun mevcude influenza virüs enfeksiyona yakınılık yarattığı tanınlanmıştır. Bundan hareketle, IRF7 eksikliği, primer immün yetencizlikler içerisinde doğrudan influenza virüs enfeksiyona karşı duyarlılığı olduğu ilk sık görü hastalık olarak kabul edilmiştir ve primer immün yetencizlikler tanınlanmasında yerini almıştır (3).

Enfeksiyonda primer immün yetencizlikler genetik daha sık karşınıza çıkmaktadır. Bunun nedeni, çocukluk çağında tanı alması ve gelişen tedavî seçenekleriyle erişkin hayata ulaşması hasta sayısının artması ve erişkin hayatta tanı konulan hasta sayısının artmasıdır. Tanı olmalarının ve farkındalığın artması sonucu erişkinlerde daha fazla ve daha sık primer immün yetencizlik tanısı konulabilmektedir. Özellikle influenza virüs enfeksiyona açısından bakıldığında, genetik yakınılığı olan bireylerin tespit edilmesi, mevsimsel influenza ağırtması, enfeksiyona karşı kalıcı koruma durumunda profilaksi veya hastalık şüphesinde tedavisi için erken antiviral ilaç kullanması gibi hasta ölümlerle kişilerin sağlanması konularında önemli sağlayacaktır. Bu sıklıkla komplikasyonlarda ve ölümlerin önüne geçilebilecektir.



## 9. ÖZGEÇMİŞ

### I-Kişisel Bilgiler

**Soyadı:** Çalık Başaran

**Adı:** Nursel

**Tc Kimlik No:** 42436991446

**Doğum Tarihi ve Yeri:** 11/09/1975, Erzincan

**Uyruğu:** TC

**Adres:** Kuru Mahallesi. Çelikkent Sitesi. A1 Blok D:4 Çayyolu/Çankaya, Ankara

**Telefon: Ev:** 0312 2408699

**Cep:** +90 533 5632368

**E-Mail:** [nurselcbasaran@gmail.com](mailto:nurselcbasaran@gmail.com)

**Ünvanı:** Dr. Öğretim Üyesi

### II- Eğitimi:

Derece	Bölüm/Program	Üniversite	Yıl
Tezli Yüksek Lisans	Pediyatrik Temel Bilimler/ İmmünoloji	HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ	2015-
Uzmanlık Sonrası Fellowship	İç Hastalıkları İnfeksiyon Hastalıkları Ünitesi	HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ	2009
Tıpta Uzmanlık	İç Hastalıkları	HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ	2005
Lisans/Yüksek Lisans	Tıp Fakültesi	HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ	1999

Tezli Yüksek Lisans	Pediyatrik Bilimler/ İmmünoloji	Temel	HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ	2015-
---------------------	---------------------------------	-------	--------------------------------------	-------

**Yabancı Dil:** İngilizce (YDS: 86,250), Almanca (Orta)

**Uzmanlık Tezi:** Hacettepe Üniversitesi İç Hastalıkları Servislerinde İzlenen Kanseri hastalarında Görülen İnfeksiyonların, etken Mikroorganizmaların Dağılımı ve İnfeksiyon Gelişimi, bakteremi ve İnfeksiyon Nedenli Mortalite İçin risk Faktörlerinin Belirlenmesi.

**Tez Danışmanı:** Prof. Dr. Murat Akova, Hacettepe Üniversitesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı (Önceki Adı ile; İç Hastalıkları Ana Bilim Dalı, İnfeksiyon Hastalıkları Ünitesi)

### III- Mesleki Deneyimi:

Görev Unvanı	Görev Yeri	Yıl
Arş.Gör.	Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları AD,	2000-2005
Uzm. Dr.	Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları AD, İnfeksiyon Hastalıkları Ünitesi	2006-2009
Uzm. Dr.	Özel International Medicana Ankara Hastanesi	2009-2014
Uzm Dr.	Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları AD, Genel Dahiliye Bilim Dalı	2014-
Dr. Öğr. Ü.	Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları AD, Genel Dahiliye Bilim Dalı	2017-

**Halen Çalıştığı Kurum:** Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları AD, Genel Dahiliye Bilim Dalı, Uzman Doktor

**Çalıştığı Kurum Adresi:** Hacettepe Üniversitesi, Tıp Fakültesi İç hastalıkları AD, Genel Dahiliye Bilim Dalı, ANKARA

## **Tıpta Uzmanlık Tezi Başlığı ve Danışmanı:**

Hacettepe Üniversitesi İç Hastalıkları Servislerinde İzlenen Kanser hastalarında Görülen İnfeksiyonların, etken Mikroorganizmaların Dağılımı ve İnfeksiyon Gelişimi, bakteremi ve İnfeksiyon Nedenli Mortalite İçin Risk Faktörlerinin Belirlenmesi

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Murat Akova

## **Görevler:**

<b>Görev Unvanı</b>	<b>Görev Yeri</b>	<b>Yıl</b>
Arş.Gör.	Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları AD,	2000-2005
Uzm. Dr.	Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları AD, İnfeksiyon Hastalıkları Ünitesi	2006-2009
Uzm. Dr.	Özel International Medicana Ankara Hastanesi	2009-2014
Uzm Dr.	Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları AD, Genel Dahiliye Bilim Dalı	2014-

**Halen Çalıştığı Kurum:** Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları AD, Genel Dahiliye Bilim Dalı, Uzman Doktor

**Çalıştığı Kurum Adresi:** Hacettepe Üniversitesi, Tıp Fakültesi İç hastalıkları AD, Genel Dahiliye Bilim Dalı, ANKARA

## **Bilimsel Kuruluşlara Üyelikler**

- Türk İç Hastalıkları Uzmanlık Derneği
- Hastane İnfeksiyonları Kontrol Derneği
- Türk Febril Nötropeni Derneği
- Klinik İmmünoloji Derneği

#### **IV- Bilimsel Faaliyetler**

- 1. Nursel Çalık Başaran**, Ergun Karağaoğlu, Gülşen Haşçelik, Mine Durusu Tanrıöver, Murat Akova. Prospective Evaluation of Infection Episodes in Cancer Patients in a Tertiary Care Academic Center: Microbiological Features and Risk Factors for Mortality. Turk J Hematol **2016**;33:311-319.
- 2. Ozisik L, Tanriover MD, Başaran NC, Oz SG, Unal S** ‘‘Missed opportunities for Hepatitis B vaccination among diabetic patients’’ Human Vaccines & Immunotherapeutics, 11(12), 2015, 2806-2810 doi: 10.1080/21645515.2015.1070999 (2015)
- 3. Koray Ergünay, Akif Altınbaş, Nursel Çalık Başaran, Serhat Ünal, Dürdal Us, Erdem Karabulut, Şemsettin Ustaçelebi.** Investigation Of Anti-R7v Antibodies in HIV-Infected. Patients Under Highly Active Antiretroviral Therapy. Mikrobiyol Bul **2008**; 42: 413-419.
- 4. S. Gul Oz, Gulay Sain Guven, Alpaslan Kilicarslan, Nursel Calik, Yavuz Beyazit, Tumay Sozen.** Evaluation of Bone Metabolism and Bone Mass in Patients With Type-2 Diabetes Mellitus. Journal of The National Medical Association, **2006**. 98;10:1598-1604.
- 5. Akif ALTINBAŞ, Koray ERGÜNAY, Nursel ÇALIK BAŞARAN, Alpaslan ALP, Didem TURGUT, Gülşen HASÇELİK, Ömrüm UZUN, Serhat ÜNAL.** Investigation of Occult Hepatitis B in HIV Infected Patients. Mikrobiyol Bul **2011**; 45(2): 353-358.
- 6. Demet Funda Baş, Nursel Çalık Başaran, Aslı Kurne, Kader Karlı Oğuz, Serhat Ünal.** Dirençli AIDS Olgusunda Ventrikülit. Turk Norol Derg **2009**; 15: 50.
- 7. Berivan Bitik, Sehnaz Alp, Nursel Calik Basaran, Serhat Unal.** HIV-Related Malignancies: The Experience of Hacettepe University Adult Hospital. European Journal of Internal Medicine; 20S (**2009**): S226.
- 8. Berivan Bitik, Sehnaz Alp, Nursel Calik Basaran, Murat Akova, Omrum Uzun, Serhat Unal.** A Retrospective Study Comparing Cefoperazone/Sulbactam With Piperacillin/Tazobactam as Empirical Therapy for Febrile Neutropenia in Adults with Hematological Disorders. European Journal of Internal Medicine 20S (**2009**): S225.

9. Tümay Sözen, Lale Özışık, **Nursel Çalık Başaran**. An overview and management of osteoporosis. Eur J Rheumatol **2016**. DO:0.5152/eurjrheum.2016.048
10. **Nursel ÇALIK**, Murat AKOVA. TİGESİKLİN. ANKEM Derg **2007**;21(Ek 2):29-33 .
11. **Nursel ÇALIK BAŞARAN**, Serhat Ünal. İnfluenza: Klinik Özellikler, Korunma ve İnfeksiyon Kontrolü. MN Dahili Tıp Bilimleri, **2007**: 2/1-2: 61-67.
12. **Nursel ÇALIK BAŞARAN**, Serhat Ünal. HIV, Hepatit C ve Hepatit B Koenfeksiyonları. Türkiye Klinikleri, 2007;3-38: 45-53.
13. Özışık L, **Çalık Başaran N**, Ünal S ‘ Her Yönüyle İnfluenza 2016: Türkiye’, İç Hastalıkları Dergisi, **2016**; 23 (1): 1-11.
14. Özışık L, Yekedüz E, Durusu Tanriöver M, Helvacı Ö, **Çalık Başaran N**, Ünal S ‘Risk Altındaki Erişkinlerin Pnömonokok ve İnfluenza Aşılama Oranları ve Aşıya Karşı Tutumları’, Flora İnfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Dergisi, Cilt: 21 Sayı: 1 Sayfa 15-20, **2016**.
15. **Nursel Çalık Başaran**, Serhat Ünal. İnfektif endokardit: Antibakteriyel Tedavi. Türk Kardiyoloji Seminerleri, 2007. 7(3): 269-279.
16. Ozisik L., **Calik Basaran N.**, Gul Oz S., Sain Guven G., Durusu Tanriover M. Perceptions and attitudes of patients about adult vaccination and their vaccination status: still long way to go? 14 th Congress European Federation of Internal Medicine, Russia, 14.16 October, Abstract book, p207, 2015.
17. **Calik Basaran N.**, Ozisik L., Durusu Tanriover M., Gul Oz S., Sain Guven G. ‘Smoking cessation as a part of our daily practice: Do we do it properly?’ 14 th Congress European Federation of Internal Medicine, Russia, 14.16 October, Abstract book, p344, 2015
18. **Calik Basaran N.**, Ozisik L., Emaratpardaz Z., Durusu Tanriover M., Gül Öz S.

‘‘Overutilization of proton pump inhibitors and H2 receptor antagonists in hospitalized medical patients’’ 14 th Congress European Federation of Internal Medicine, Russia, 14.16 October, Abstract book, p344, 2015.

**19.** L. Ozisik, N. **Calik Basaran**, E. Yekeduz, M. Durusu Tanriover, O. Helvaci, G. Sain Guven, S.G. Oz,S. Unal. Influenza and Pneumococcal Vaccination Status of Patients With Cardiovascular Disease And Their Attitudes Towards Vaccination. 15th Congress European Federation Of Internal Medicine, Amsterdam. 2-3 September. Abstract Book, P125, 2016.

**20.** **Nursel Çalık Başaran**, Sibel Aşçıoğlu, Ayşegül Taylan Özkan, Gülay Sain Güven. Türkiye'nin Güneyinden Bir Skrotal Filariasis Olgusu. 9. Ulusal İç Hastalıkları Kongresi. 5-9 Eylül **2007**, Antalya. Özet Kitabı S192.

**21.** A.Özveren, N. **Çalık Başaran**, Ö. Uzun. Kanser Hastalarında Fungemi Görülme Sıklığı: Hacettepe Deneyimi. 8. Febril Nötropeni Simpozyumu, 21-24 Şubat **2008**, Ankara. Özet kitabı S183.

**22.** N. **Çalık Başaran**, A.Özveren, M Akova. Hematolojik Maligniteli Hastalarda Kan Dolaşımı İnfeksiyonlarının Sıklığı ve Etkenlerin Dağılımı: Hacettepe’de Değişim. 8. Febril Nötropeni Simpozyumu, 21-24 Şubat **2008**, Ankara. Özet kitabı S190.

**23.** Hümeysra Zengin, **Nursel Çalık Başaran**, Sibel Aşçıoğlu Hayran, Yeşim Çetinkaya Şardan, Gülşen Hasçelik. Nöroloji Yoğun Bakım Ünitesi'nde Corynebacterium striatum Salgını. Hastane İnfeksiyonları Kongresi,10-13 Nisan 2008, Antalya. Hastane İnfeksiyonları dergisi **2008**; 12(1): 140.

**24.** Jehat Kutlay, Nihal Başay, **Nursel Çalık Başaran**, Bülent Celasun. Tularemi olgusu. 34. Ulusal Türkiye Solunum Araştırmaları Derneği Ulusal Kongresi. 6-10 ekim **2012**, Antalya. Özet Kitabı, s 395.

**25.** Özışık L, Tanrıöver MD, **Başaran NÇ**, Öz ŞG, Ünal S, ‘‘Dahiliye polikliniğine başvuran diyabetik hastalarda hepatit B seropositivitesi ve aşı’’, 16. Ulusal İç Hastalıkları Kongresi, Antalya, Özet kitabı SS-014, s25, 2014. (sözlü)

**26.** Lale Özışık, Cebrayil Cebrayilov, **Nursel Çalık Başaran**, Gülay Sain Güven. ‘‘Ailevi Akdeniz Ateşli hastada gelişen hepatik Achromobacter xylosoxidans granülomu.’’ 16. Ulusal İç Hastalıkları Kongresi, Antalya, Özet kitabı PS-195, s126, 2014.

**27. Başaran NÇ**, Karataş A, Özışık L, Öz ŞG, ‘‘Açıklanamayan Hipokalemi, Proteinüri ve Hemolitik Anemi Olgusu’’, 16. Ulusal İç Hastalıkları Kongresi, Antalya, Özet kitabı PS-231, s145, **2014**.

**28. Başaran NÇ**, Özışık L, Karataş A, Tanrıöver MD, Öz ŞG, ‘‘Hodgkin Lenfoma ve Çoklu Enfeksiyon Varlığı’’, 16. Ulusal İç Hastalıkları Kongresi, Antalya, Özet kitabı PS-232, s145, **2014**.

**29.** Şener YZ, Özışık L, **Başaran NÇ**, Pürnak T, Türker A, ‘‘Paraneoplastik intestinal dismotilite ve gastroparezi ile prezente olan küçük hücreli akciğer kanseri olgusu’’, 16. Ulusal İç Hastalıkları Kongresi, Antalya, Özet kitabı PS-411, s235, **2014**.

**30.** Burak Yasin Aktaş, **Nursel Çalık Başaran**, Ertuğrul Çağrı Bölek, Yusuf Ziya Şener, Serdar Ceylan, Emre Yekedüz, Batuhan Başpınar, Cem Şimşek, Lale Özışık, Mine Durusu Tanrıöver, ‘‘Sepsis: İç hastalıkları servislerindeki en önemli mortalite nedeni’’, 17. Ulusal İç Hastalıkları Kongresi, Antalya, Özet kitabı SS-001, s105, **2015**. (sözlü)

**31.** Abdullah Tarık Aslan, **Nursel Çalık Başaran**, Lale Özışık, Emre Yekedüz, Gökhan Metan, Şule Apraş Bilgen ‘‘Sitomegalovirüs pnömonisi: ateşli immünsuprese hastada kaçırılmaması gereken tanı’’, 17. Ulusal İç Hastalıkları Kongresi, Antalya, Özet kitabı PS-100, s165, **2015**.

**32. Nursel Çalık Başaran**, Abdullah Tarık Aslan, Lale Özışık, Bülent Altun ‘‘Atipik prezentasyonlu bir subakut endokardit olgusu’’, 17. Ulusal İç Hastalıkları Kongresi, Antalya, Özet kitabı PS-101, s165, **2015**.

**33.** Lale Özışık, Emre Yekedüz, Mine Durusu Tanrıöver, Özant Helvacı, **Nursel Çalık Başaran**, Serhat Ünal, ‘‘Risk altındaki erişkinlerin pnömokok ve influenza aşılama oranları ve aşıya karşı tutumları’’ 17. Ulusal İç Hastalıkları Kongresi, Antalya, Özet kitabı PS-237, s225, **2015**.

**34. Nursel Çalık Başaran**, Lale Özışık, Mine Durusu Tanrıöver, Nurefşan Cihangiroğlu, Özgür Özkayar, Figen Söylemezoğlu, Gülay Sain Güven ‘‘Erdheim -Chester : Hastalık Nadir ,

Tanısı Zor ,Tedavisi Yüz Güldürücü Değil’’ 17. Ulusal İç Hastalıkları Kongresi, Antalya, Özet kitabı PS-245, s229, **2015**.

**35. Nursel Çalık Başaran**, Deniz Çağdaş Ayvaz, Şaliha Esenboğa, Betül Karaatmaca, Ertuğrul Çağrı Bölek, İlhan Tezcan. Erişkin Hastalarda Farklı Klinikle Ortaya Çıkan Kombine İmmün yetmezlik olguları. 2. Klinik immünoloji Kongresi, Antalya.31 Mart-03 Nisan **2016**, özet kitabı.

**36. Saliha Esenboğa**, Baran Erman, Çağman Tan, **Nursel Çalık Başaran**, Sibel Doğan, Deniz Çağdaş Ayvaz, İlhan Tezcan. Diskoid Lupus Tanısı ile izlenen Erişkin Bir Hastada Kronik Granülomatöz Hastalık: İmmünoloji Konsültasyonunun önemi. 2. Klinik İmmünoloji Kongresi, Antalya.31 Mart-03 Nisan **2016**, özet kitabı, S:36

**37. Emre Kara**, Ahmet Çağkan İnkaya, **Nursel Çalık Başaran**, Şehnaz Alp, Aygen Tümer, Serhat Ünal. Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Erişkin Hastanesi İnfeksiyon Hastalıkları Kliniğinde izlenen HIV Olgularının Yıllara Göre Değerlendirilmesi. İnfeksiyon Dünyası Çalıştayı, 24-27 Mart **2016**, Ankara.S118.

**38. Bahar Güçüz Doğan**, Can Keskin, Şevkat Bahar Özvarış, **Nursel Çalık Başaran**, Lale Özışık, Gülay Sain Güven. Genel Dahiliye Polikliniğine Başvuranlarda Kardiyovasküler Hastalık Risk Faktörleri Bilgi Düzeyi, Risk Alma Davranışı. 18. Ulusal İç Hastalıkları Kongresi. 12-16 Ekim 2016, Antalya.Özet Kitabı, S185.

**39. N.Calik**, E.Karaagaoglu, G.Hascelik, M.Akova. Epidemiology of Bacterial Infections and Risk Factors for Mortality in Cancer Patients. 45<sup>th</sup> Annual ICAAAC, 16-19 December, 2005, Washington.

## **Kitaplar**

**40. Nursel Çalık Başaran**.“HIV İnfeksiyonunun Doğal Seyri”. Güncel Bilgiler Işığında HIV/AİDS. ED: Serhat Ünal, Aygen Tümer. Bilimsel Tıp yayınevi. Ankara (2016).

**41. Nursel Çalık Başaran**, Murat Akova. İnvaziv Aspergillozis. Febril Nötropeni, Ed: Murat Akova, Hamdi Akan. Bilimsel Tıp Yayınevi, 2010, Ankara. ISBN: 978-975-6058-77-0.



**42. Nursel Çalık Başaran,** Murat Akova. Bl 34. Nötropenik Hastalarda Enfeksiyonlar. Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi. Cilt 1.3. Baskı. Ed: Ayşe Wilke Topçu, Güner Söyletir, Mehmet Doğanay. Nobel Tıp Kitabevleri, 2008.

**43. Nursel Çalık Başaran,** Murat Akova. Yetişkinlerde İnfluenza Aşılması. Grip Önlemler ve Tedavi. Ed: Mehmet Ceyhan. 1. Baskı. Medya Tower Tanıtım ve Yayıncılık Hizmetleri. ISBN:978-975-01214-5-6.

**44. Nursel Çalık.** “Kısım I.1. Akut Miyokard İnfarktüsü”. Kardiyovasküler Hastalıklar El Kitabı. Ed: Brian Griffin, Eric J. Topol. Çeviri ed: Bünyamin Yavuz, Kudret Aytemir. 2. Baskı. Güneş Kitabevi. Ankara, **2007.S:** 3-26. ISBN:975-277-132-7.

**45. Nursel Çalık.** “Kısım I.2. Kararsız Anjina ve St-segment Elevasyonsuz Miyokard İnfarktüsü.”. Kardiyovasküler Hastalıklar El Kitabı. Ed: Brian Griffin, Eric J. Topol. Çeviri ed: Bünyamin Yavuz, Kudret Aytemir. 2. Baskı. Güneş Kitabevi. Ankara, **2007.S:** 27-44. ISBN:975-277-132-7.

**46. Nursel Çalık.** “Kısım I.3. Miyokard İnfarktüsü Komplikasyonları.” Kardiyovasküler Hastalıklar El Kitabı. Ed: Brian Griffin, Eric J. Topol. Çeviri ed: Bünyamin Yavuz, Kudret Aytemir. 2. Baskı. Güneş Kitabevi. Ankara, **2007.S:** 45-63. ISBN:975-277-132-7.

**47. Nursel Çalık.** “Kısım I.4. Miyokard İnfarktüsü Sonrası Risk Sınıflaması ve Tedavi.” Kardiyovasküler Hastalıklar El Kitabı. Ed: Brian Griffin, Eric J. Topol. Çeviri ed: Bünyamin Yavuz, Kudret Aytemir. 2. Baskı. Güneş Kitabevi. Ankara, **2007.S:** 64-73. ISBN:975-277-132-7.

**48. Nursel Çalık.** “Kısım II.8. Sistolik Fonksiyon Bozukluğu Olan Kalp Yetmezliği” Kardiyovasküler Hastalıklar El Kitabı. Ed: Brian Griffin, Eric J. Topol. Çeviri ed: Bünyamin Yavuz, Kudret Aytemir. 2. Baskı. Güneş Kitabevi. Ankara, **2007.S:** 101-118. ISBN:975-277-132-7.

**49. Nursel Çalık.** “Kısım II.11. Miyokardit” Kardiyovasküler Hastalıklar El Kitabı. Ed: Brian Griffin, Eric J. Topol. Çeviri ed: Bünyamin Yavuz, Kudret Aytemir. 2. Baskı. Güneş Kitabevi. Ankara, **2007.S:** 101-118. ISBN:975-277-132-7.

**50. Nursel Çalık.** “Kısım II.15. Mitral Kapak Hastalığı” Kardiyovasküler Hastalıklar El Kitabı. Ed: Brian Griffin, Eric J. Topol. Çeviri ed: Bünyamin Yavuz, Kudret Aytemir. 2. Baskı. Güneş Kitabevi. Ankara, **2007**.S: 204-226. ISBN:975-277-132-7.

**51. Nursel Çalık.** “Kısım III.16. Triküspid Kapak Hastalığı” Kardiyovasküler Hastalıklar El Kitabı. Ed: Brian Griffin, Eric J. Topol. Çeviri ed: Bünyamin Yavuz, Kudret Aytemir. 2. Baskı. Güneş Kitabevi. Ankara, **2007**.S: 204-226. ISBN:975-277-227-231.

**52. Nursel Çalık.** “Kısım VI.30 Atriyal Septal Defekt ve Patent Foramen Ovale.” Kardiyovasküler Hastalıklar El Kitabı. Ed: Brian Griffin, Eric J. Topol. Çeviri ed: Bünyamin Yavuz, Kudret Aytemir. 2. Baskı. Güneş Kitabevi. Ankara, **2007**.S: 421-426. ISBN:975-277-227-231.

**53. İç Hastalıkları Gözüyle Preoperative Değerlendirme.** Editörler: Şerife Gül Öz, Gülay Sain Güven, Lale Özışık, **Nursel Çalık Başaran.** Hacettepe Üniversitesi Yayınları, Ankara, 2019. SS:93. ISBN:978-975-491-487-0.

**54. Nursel Çalık Başaran, Seval Müzeyyen Ecin.** Periyodik Sağlık taramaları, Koruyucu Hekimlik Önerileri ve Erişkinler İçin Aşılama Önerileri. Meslek Hastalıkları İşle İlgili Hastalıklar.Editörler: Ali Naci Yıldız, Abdulsamet Sandal. Hacettepe Üniversitesi Yayınları, Ankara, 2019. S:223-252. ISBN:978-975-491-460-3.

**55. Nursel Çalık Başaran.** Bölüm II. HIV/AIDS Hastalık ve Tedavi. Dünyada ve Türkiye’de HIV/AIDS. Edirtörler: Serhat Ünal, Aygen Tümer. Seri Editörü: Adil Denizli. Hacettepe Yayınları, 2018, Ankara.S:29-43. ISBN:978-975-491-483-2.

56. Levent Akın, Gülден Çelik, Müge Demirbilek,Ekici, Dilara İnan, Asuman İnan, Ateş Kara, Selçuk Kılıç, Volkan Korten, Kenan Midilli, Pınar Öngürü, Hüsnü pullukçu, Ayper Somer, Serhat Ünal, Gülrusar Yılmaz, Meltem Arzu Yetkin, Figen kaptan Aydoğmuş, Aysel Kocagül Çelikbaş, F.Şebnem Erdinç, Bilgül Mete, Şeref Özkara, Cem Yaşar Sanhal, Tülay Yalçınkaya, **Nursel Çalık Başaran.** Ahmet Çağkan İnkaya, Özgür Kara, özge Kaba, Gönül Çiçek Şentürk, Selda Hançerli Törün, Aygen Tümer. HIV/AIDS Tanı ve Tedavi Rehberi. Yayın Kurulu: Hasan İrmak, Nazan Yardım, Kanuni Keklik, Fehminaz Temel. Sağlık Bakanlığı Yayınları, Ankara, 2019. ISBN: 978-975-590-720-8. SS:333.

**57.** Çetik S, **Basaran NC**, Ozisik L, Oz SG, Arici M. Gitelman Syndrome Diagnosed in a Woman in the Second Trimester of Pregnancy. Eur J Case Rep Intern Med. 2019 Apr 24;6(4):001100. doi: 10.12890/2019\_001100. eCollection 2019.

**58. Calik Basaran N**, Ascioğlu S. Epidemiology and management of healthcare-associated bloodstream infections in non-neutropenic immunosuppressed patients: a review of the literature. Ther Adv Infect Dis. 2017 Nov;4(6):171-191. doi: 10.1177/2049936117733394. Epub 2017 Oct 17.

**59.** Sözen T, **Başaran NÇ**, Tınazlı M, Özışık L. Musculoskeletal problems in diabetes mellitus. Eur J Rheumatol. 2018 Dec;5(4):258-265. doi: 10.5152/eurjrheum.2018.18044. Epub 2018 Oct 31.

**60. Nursel Çalık Başaran** ,Burak Yasin Aktaş, Yusuf Ziya Şener, Serdar Ceylan, Emre Yekedüz, Batuhan Başpınar, Cem Şimşek, Lale Özışık, Gülay Sain Güven, Şerife Gül Öz, Mine Durusu Tanrıöver. Mortality Facts in Internal Medicine Wards: A Descriptive Study From A University Hospital Acta Medica 2018; 49(4): 6 – 13. DOI: <https://doi.org/10.32552/2018.ActaMedica.314>.

**61.** Seval Müzeyyen Ecin, Adem Koyuncu, Abdulsamet Sandal, Sultan Pınar Çetintepe, **Nursel Çalık Başaran**, Şerife Gül Öz, Ali Naci Yıldız .Effect of A Brief Education On The Occupational History Taking In Hypertension Patients . Acta Medica 2018; 49(4): 1 – 5. DOI: <https://doi.org/10.32552/2018.ActaMedica.324>.

### **Kongreler**

**1.** “Ağrı Kesiciler ve Kas Gevşeticiler”.İlaç ve Tedavi Kongresi, 25-29 Mayıs 2016, Antalya.

**2.** “Ağrı Tedavisinde Tıp 2 Kolajen, Glikozaminler ve Yumurta Kolajeni” İlaç ve Tedavi Kongresi 25-29 Mayıs 2016, Antalya.

**3.** “Genel dahiliye polikliniğinden vakalar” Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları XXI. Mezuniyet Sonrası Eğitim Kursu 17-20 Mart 2016, Ankara.

4. “Mikroorganizmaların Değişimi ve Antibiyotik Kullanımı”17. Ulusal İç Hastalıkları Kongresi Hemşirelik Oturumu. 14-18 Ekim 2015.
5. “Gebelikte Aşılama” Erişkin Aşılama Eğitici Eğitim Toplantısı 16 Kasım 2015, Ankara.
6. “İmmüsupresyon Durumlarında ve Romatolojik Hastalıklarda Aşılama” Erişkin Aşılama Eğitici Eğitim Toplantısı 16 Kasım 2015 Ankara.
7. “Hastaya Multidisipliner Yaklaşım” HIV Çalıştayı. 7-9 Aralık 2015, Ankara.
8. “ART yan etkileri nelerdir?” HIV Çalıştayı. 7-9 Aralık 2015, Ankara.
9. “Katılımcıların Olgu Sunumları” HIV Çalıştayı. 7-9 Aralık 2015, Ankara.
10. “İnfeksiyon Olgu Tartışmaları” İç Hastalıkları XII. Mezuniyet Sonrası Eğitim Kursu, 28-31 Mart 2007, Ankara.

### **Projeler**

1. Clinical Trial A5951001. Linezolid in the Treatment of Subjects with Nosocomial Pneumonia to be due to Methicillin-Resistant Staphylococcus Aureus. Yardımcı araştırmacı.
2. Clinical Trial A8851009: A Prospective, Randomized Trial Comparing the Efficacy of anidilafungin and Voriconazole Alone when used for Primary Therapy of Proven or Probable Invasive Aspergillosis. Yardımcı araştırmacı
3. TMC 114-C226 Yüksek Doz Terapi Öyküsü Olan HIV-1 ile Enfekte, Tedavi Seçenekleri Sınırlı veya Hiç Olmayan Hastalarda, TMCİİ4’e Düşük Doz Ritonovir (RTV) ve Diğer Antiretroviraller (ARV) ile Kombine Erken Erişim, Faz III Çalışma. Yardımcı araştırmacı.
4. TMC 125-C214: “Daha önce tedavi görmüş ve sınırlı tedavi seçeneği bulunan HIV-1 ile enfekte olan olgularda diğer antiretroviraller ile birlikte kombinasyon şeklinde TMCİ25’e erken geçiş”. Yardımcı araştırmacı.
5. Türkiye’de Geleneksel Tamamlayıcı ve Alternatif Tıp Kullanımı Anket Çalışması. Sağlık Bakanlığı Geleneksel, Tamamlayıcı ve Alternatif Tıp Uygulamaları Daire Başkanlığı. 2015.

**6.** Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi Acta Medica'nın Yapılandırılması. Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi. TBD-2017-14776. 03.07.2017-01.07.2019. Araştırmacı.

**7.** Kolesterol düzeylerinin dişeti hücreleri üzerindeki etkisi. Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi. Uluslararası işbirliği projesi. TBI-2016-11744. 23.08.2016-15.01.2018. Araştırmacı.