



Erişkin COVID-19 Hastalarında Periferik Kan Lenfosit Alt Gruplarının İmmünofenotiplemesinin Klinik Önemi: Kesitsel Bir Çalışma

Clinical Importance of Immunophenotyping of Peripheral Blood Lymphocyte Subsets in Adult COVID-19 Patients: A Cross-Sectional Study

Tuba KURUOĞLU¹(ID), Fatih TEMOÇİN¹(ID), Aynur ATILLA¹(ID), Alişan YILDIRAN²(ID), Esra TANYEL¹(ID)

¹ Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Samsun, Türkiye

² Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Çocuk İmmünoloji ve Allerji Bilim Dalı, Samsun, Türkiye

Makale atfı: Kuruoğlu T, Temoçin F, Atilla A, Yıldiran A, Tanyel E. Erişkin COVID-19 hastalarında periferik kan lenfosit alt gruplarının immünofenotiplemesinin klinik önemi: Kesitsel bir çalışma. FLORA 2023;28(3):394-404.

ÖZ

Giriş: Koronavirüs hastalığı-2019, hafif ateş ve öksürük gibi semptomlarla veya sitokin fırtınası ve solunum yetmezliği gibi semptomlarla ortaya çıkabilir. Bu nedenle patogenezi araştırılmaya devam etmektedir. Bu çalışmada, COVID-19 hastalarında lenfosit alt grupları ve doğal öldürücü hücre seviyeleri ile hastalık prognozu arasındaki ilişkiyi araştırdık.

Materyal ve Metod: Çalışmaya 4 Mayıs 2020 ile 4 Temmuz 2020 tarihleri arasında semptomatik dönemde nazofaringeal sürüntü örneklerinde SARS-CoV-2 viral RNA veya semptomların ikinci haftasından sonra serum örneklerinde COVID-19 IgM/IgG Antikor Hızlı Testi pozitif olan hastaları dahil ettik. Yatışlarının ilk gününde hastalardan alınan tam kandan toplamda 22 lenfosit alt grubu, flow sitometrik inceleme ile değerlendirildi. Hastaların klinik durumları asemptomatik, hafif, orta, ağır ve kritik olarak sınıflandırıldı. Pnömonisi olan ve olmayan hastaların klinik ve laboratuvar özelliklerini karşılaştırdık. Bunun yanı sıra klinik durumlarına göre sınıflandırdığımız hastaların lenfosit alt grup hücre düzeylerini inceledik.

Bulgular: Hastaların 38'i (%67) erkekti, ortalanca yaş 38 (28-49) idi. Sırasıyla %19.2, %26.3, %43.9, %7 ve %3.5'ini asemptomatik, hafif, orta, ağır ve kritik hastalar oluşturmaktaydı. Hastaların 31'inde (%54.4) pnömoni mevcuttu. Pnömonili hastalarda ortalama C-reaktif protein ($p < 0.001$), D-dimer ($p = 0.001$) ve laktat dehidrogenaz ($p = 0.021$) düzeyleri pnömonisi olmayanlara göre anlamlı derecede yüksekti. $CD3^+$ T hücre ($p = 0.015$), $CD4^+$ T hücre ($p = 0.005$), $CD19^+$ B hücre ($p = 0.019$), $CD20^+$ B hücre ($p = 0.023$) ve $CD19^+CD27^-$ B hücre ($p = 0.022$) ortalama düzeyleri asemptomatik hastalarda semptomu olanlardan anlamlı olarak daha yüksekti. $CD4^+/CD8^+$, $CD3^+$, $CD4^+$, $CD19^+$, $CD20^+$, HLA-DR ve $CD19^+CD27^+IgD^-$ hücrelerinin ortalama düzeylerindeki artış, olası oksijen desteğini sırasıyla 0.129 kat ($p = 0.026$); 0.997 kat ($p = 0.031$); 0.995 kat ($p = 0.018$); 0.98 kat ($p = 0.028$); 0.979 kat ($p = 0.038$); 0.992 kat ($p = 0.032$); 0.998 kat ($p = 0.037$) azaltmaktaydı.

Sonuç: Çalışmamız Türkiye'de erişkin COVID-19 hastalarında en geniş lenfosit alt gruplarının incelenerek $CD4^+/CD8^+$ oranı, $CD3^+$, $CD4^+$, $CD19^+$, $CD20^+$, HLA-DR ve $CD19^+CD27^+IgD^-$ hücre düzeylerinin klinik seyri ve prognozu öngörmede yararlı belirteçler olabileceğini ortaya koymuştur.

Anahtar Kelimeler: COVID-19; Lenfosit alt grupları; Prognoz; T hücre; B hücre

Geliş Tarihi/Received: 21/10/2022 - Kabul Ediliş Tarihi/Accepted: 14/06/2023

©Telif Hakkı 2023 Flora. Makale metnine www.floradergisi.org web adresinden ulaşılabilir.



Creative Commons Atıf-GayriTicari 4.0 Uluslararası (CC BY-NC 4.0) Uluslararası Lisansı ile lisanslanmış, açık erişimli bir makededir.

Çevrim içi Yayın Tarihi: 20.09.2023

ABSTRACT

Clinical Importance of Immunophenotyping of Peripheral Blood Lymphocyte Subsets in Adult COVID-19 Patients: A Cross-Sectional StudyTuba KURUOĞLU¹, Fatih TEMOÇİN¹, Aynur ATILLA¹, Alişan YILDIRAN², Esra TANYEL¹¹ Department of Infectious Diseases and Clinical Microbiology, Ondokuz Mayıs University Faculty of Medicine, Samsun, Türkiye² Division of Pediatric Allergy and Immunology, Department of Pediatric Health and Diseases, Ondokuz Mayıs University Faculty of Medicine, Samsun, Türkiye

Introduction: Coronavirus disease-2019 can occur with symptoms such as mild fever and cough or with symptoms such as cytokine storm and respiratory failure. Therefore, its pathogenesis continues to be investigated. In this study, we investigated the relationship between lymphocyte subsets and natural killer cell levels with disease prognosis in COVID-19 patients.

Materials and Methods: We included patients positive for SARS-CoV-2 viral RNA in nasopharyngeal swab samples in the symptomatic period or COVID-19 IgM/IgG Antibody Rapid Test positive in serum samples after the second week of symptoms between May 4, 2020, and July 4, 2020. On the first day of their hospitalization, a total of 22 lymphocyte subsets from the whole blood taken from the patients were evaluated by flow cytometric examination. The clinical status of the patients is classified as asymptomatic, mild, moderate, severe, or arterial partial oxygen pressure. We compared patients' clinical and laboratory characteristics with and without pneumonia. In addition, we examined the lymphocyte subset cell levels of the patients that we classified according to their clinical status.

Results: Of the patients, 38 (67%) were male, with a median age of 38 (28-49) years; 78.9%, 19.2%, 26.3%, 43.9%, 7% and 3.5% were asymptomatic, mild, moderate, severe and critical patients, respectively. Pneumonia was present in 31 (54.4%) of the patients. Mean levels of C-reactive protein ($p < 0.001$), D-dimer ($p = 0.001$) and lactate dehydrogenase ($p = 0.021$) were significantly higher in patients with pneumonia compared to patients without pneumonia. $CD3^+$ T cell ($p = 0.015$), $CD4^+$ T cell ($p = 0.005$), $CD19^+$ B cell ($p = 0.019$), $CD20^+$ B cell ($p = 0.023$), and $CD19^+$ + $CD27^+$ B cell ($p = 0.022$) in asymptomatic patients were significantly higher than those with symptom. The increase in the mean levels of $CD4^+/CD8^+$, $CD3^+$, $CD4^+$, $CD19^+$, $CD20^+$, HLA-DR and $CD19^+CD27^+IgD^-$ cells decreased the possible oxygen support by 0.129-fold, respectively ($p = 0.026$); 0.997 fold ($p = 0.031$); 0.995 fold ($p = 0.018$); 0.98 fold ($p = 0.028$); 0.979 fold ($p = 0.038$); 0.992 fold ($p = 0.032$); 0.998 fold ($p = 0.037$).

Conclusion: Our study revealed the $CD4^+/CD8^+$ ratio, $CD3^+$, $CD4^+$, $CD19^+$, $CD20^+$, HLA-DR and $CD19^+CD27^+IgD^-$ cell levels could be helpful markers in predicting the clinical course and prognosis by examining the largest lymphocyte subsets in adult COVID-19 patients in Türkiye.

Key Words: COVID-19; Lymphocyte subsets; Prognosis; T cell; B cell

GİRİŞ

Koronavirüs hastalığı (COVID-19), damlacık ve temas yoluyla bulaşan SARS-CoV-2 virüsünün neden olduğu bulaşıcı bir hastalıktır. Hafif ateş, öksürük, nefes darlığı gibi semptomlarla kendini gösterebileceği gibi sitokin fırtınasına, solunum yetmezliğine hatta ölüme yol açabilir. Ancak salgının başlangıcından itibaren hastalığın komorbiditesi olmayan bazı genç bireylerde şiddetli klinikle seyrettiği hatta mortaliteyle sonuçlandığı görülmüşken, komorbiditesi olan bazı yaşlı bireylerde hafif klinik bulgularla seyrettiği izlenmiştir. Bu nedenle patogenezi araştırılmaya devam etmektedir^[1,2].

Edinsel bağışıklık sisteminin bir bileşeni olan T lenfositler viral enfeksiyonlarda önemli role sahiptir. $CD4^+$ T lenfositler, B lenfositlerin antikor üretimine yardımcı olmakla birlikte diğer bağışıklık

hücrelerinin yanıtını da düzenlemektedir. $CD8^+$ T lenfositler ise enfekte olmuş hücreleri öldürerek virüs yükünü azaltmaktadır. Ancak düzensiz T lenfosit yanıtı bağışık yanıtın bozulmasına neden olmaktadır. Humoral bağışıklık, bağışıklık belleği için vazgeçilmezdir ve sitopatik virüslerin temizlenmesinin yanı sıra yeniden enfeksiyonu da önlemektedir.

Birçok hastalık doğrudan T ve B lenfosit alt gruplarını etkilemektedir. Yapılan çalışmalar SARS-CoV-2'nin antijen sunumunu kısıtlayarak, sitotoksik $CD8^+$ T hücrelerinin tükenmesine, bellek $CD4^+$ T hücresi ve düzenleyici T hücrelerinin azalmasına neden olarak T hücre yanıtını engelleyebileceğini göstermiştir. Bağışıklık yanıtının hızlı nötralize edici antikor üretimi ve antijene özgü T hücre oluşumu ile sağlandığı gösterilmiştir^[3].

Bu alt grup seviyeleri, insan immün yetmezlik virüsü (HIV)'nün yol açtığı enfeksiyonda olduğu gibi bazı hastalıklarda prognoz göstergesi olarak kullanılmaktadır. Bazı çalışmalar COVID-19 hastalığının prognozunu belirlemede, T ve B lenfosit alt grup düzeylerinin yardımcı olabileceğini öne sürmüştür^[4-8].

Bu çalışmada çok sayıda yüzey molekülü kullanarak COVID-19 hastalarında T, B lenfosit alt grupları ve NK hücre düzeyleri ile hastalık semptomları ve prognozu arasındaki ilişkiyi araştırmayı amaçladık.

MATERYAL ve METOD

Bu çalışma, üniversite klinik araştırmalar etik kurulu tarafından 2020/308 yıl ve onay numarası ile onaylanmış kesitsel bir çalışmadır ve 4 Mayıs 2020-4 Temmuz 2020 tarihleri arasında ileriye dönük olarak yürütülmüştür. Çalışma protokolü, insan denekleri içeren tıbbi araştırmalar için Helsinki Etik İlkeleri Bildirgesi'ne uygun olarak gerçekleştirilmiştir. Örnek toplama ve sonraki analizler için bu çalışmaya dahil edilen tüm hastalardan yazılı bilgilendirilmiş onam alınmıştır.

Çalışma Popülasyonu

Çalışmaya enfeksiyon hastalıkları ve klinik mikrobiyoloji anabilim dalı tarafından takip edilen, nazofaringeal numunelerinde SARS-CoV-2 viral RNA'sı pozitif saptanan veya SARS-CoV-2 RNA'sı negatif olan ancak COVID-19 enfeksiyonunu destekleyen klinik ve radyolojik bulguları olan, 18 yaş ve üzeri toplamda 65 hasta dahil edildi. Katılımcılar bilgilendirilerek onamları alındı. SARS-CoV-2 PZR sonucu negatif olan hastalardan semptomların ikinci haftasından sonra serumda hızlı antikor testleri çalışıldı ve negatif olan sekiz hasta çalışma dışı bırakıldı. Sonuç olarak, bu çalışmada 57 hasta incelendi. Hastaların demografik, klinik, laboratuvar ve radyolojik verileri elektronik tıbbi kayıtlardan elde edildi.

Hastaların klinik durumları asemptomatik, hafif, orta, ağır ve kritik olarak sınıflandırıldı: (1) Asemptomatik: semptom geliştirmeyen laboratuvar tarafından doğrulanmış olanlar; (2) Hafif: Hafif klinik semptomları olan ve görüntüleme yöntemlerinde pnömoni bulgusu saptanmamış olanlar; (3) Orta: Ateş ve solunum semptomları ile görüntüleme yöntemlerinde pnömoni tespit edilenler; (4) Ağır: Solunum sıkıntısı, düşük oksijen saturasyonu (istirahatte ≤ 93) veya kısmi arteriyel oksijen

basıncı (PaO_2)/inspire edilen oksijen fraksiyonu (FiO_2) ≤ 300 mmHg olanlar; (5) Kritik: Solunum yetmezliği, şok veya yoğun bakım gerektiren organ yetmezlik bulguları olanlar^[9-11].

Testler

SARS-CoV-2 viral RNA, ters transkriptaz PZR (gerçek zamanlı ters transkripsiyon polimeraz zincir reaksiyonu; RT-PCR) yöntemi kullanılarak nazofaringeal sürüntü örneklerinde tespit edildi. PZR sonucu negatif olan hastaların serum numunelerinden COVID-19 IgM/IgG Antikor Hızlı Testi (Beijing Hotgen Biotech Co., Ltd.) çalışılarak antikor tayini yapıldı.

Hastalardan hastaneye yatışlarının ilk gününde EDTA-antikoagülanlı tüplere 2 mL periferik kan örneği alındı. Daha sonra flow sitometrik değerlendirme için tam kan numuneleri dört saat içinde laboratuvara aktarıldı. Toplam 22 alt grup belirlendi:

CD3⁺ T hücre, CD3⁺CD4⁺ T yardımcı hücre, CD3⁺CD8⁺ T sitotoksik hücre, CD19⁺ and CD20⁺ B hücre, CD3⁺CD56⁺ NK hücre, CD3⁺CD56⁺ NKT hücre, HLA-DR⁺ hücre, CD3⁺CD38⁺HLA-DR⁺ aktive T hücre, CD3⁺HLA-DR⁺ T hücre, CD4⁺HLA-DR⁺ aktive T yardımcı hücre, CD3⁺CD8⁺HLA-DR⁺ aktive T sitotoksik hücre, CD3⁺CD8⁺TCR $\gamma\delta$ ⁺ hücre, CD3⁺CD4⁺CD45RA⁺CD31⁺ recent thymic emigrant (RTE) hücre, CD45RA⁺ naiv hücre, CD4⁺CD45RA⁺ naiv T yardımcı hücre, CD8⁺CD45RA⁺ naiv T sitotoksik hücre, CD19⁺CD27⁻ naive B hücre, CD19⁺CD27⁺ bellek B hücre, CD19⁺CD27⁺IgD⁺ sınıf dönüşümü yapmamış bellek B hücre, CD19⁺CD27⁺IgD⁻ sınıf dönüşümü yapmış bellek B hücre ve CD19⁺CD38⁻CD21^{low} olgunlaşmamış B hücre.

Flow sitometride kullanılan antikorlar

Lenfosit alt gruplarını tanımlamak için aşağıdaki monoklonal antikorlar (katalog numaralarıyla Bdbioscience'tan) kullanıldı; CD21 APC (561357), CD45 V500 (655873), CD3 V450 (560365), CD45RA PerCP5.5 (563429), CD31 FITC (567508), CD19 PE Cy7 (557835), CD56 PE (345812), HLA-DR V450 (655874), CD20 V450 (655872), CD3 PerCP 5.5 (332771), CD4 APC-H7 (641398), CD4 APC (345771), CD38 FITC (340909), IgD FITC (555778), CD38 APC-H7 (656646), TCR $\gamma\delta$ PE (333141) ve CD27 PE (340425).

Hücre Popülasyonunun Tanımlanması

Kan örnekleri, lenfosit alt gruplarının tanımlanması için üç ayrı tüpe ayrıldı: T, B ve NK ve NKT hücre aktivitesi^[12]; bellek, recent thymic emigrant ve TCR $\gamma\delta$ hücreleri^[13]; B-hücre alt grupları^[14]. Hücreler, bir FACS Canto II flow sitometresi (BD Biosciences) kullanılarak incelendi ve veri analizini gerçekleştirmek için FACS Diva yazılımı kullanıldı. Mutlak lenfosit sayısı ile ilgili hesaplama için belirtilen formül kullanıldı: Mutlak lenfosit sayısı x lenfosit alt kümesinin %'si = Her alt kümedeki mutlak hücre sayısı. Metot ve periferik kan lenfosit alt gruplarının (olası) yaşa uyumlu referans aralıkları için Shearer ve arkadaşları, Piatosa ve arkadaşları ve Ding ve arkadaşlarının çalışmaları referans alındı ^[12-14].

İstatistiksel Analiz

Veriler IBM SPSS V23 ile analiz edildi. Normal dağılıma uygunluk Shapiro-Wilk testi kullanılarak değerlendirildi. Eşleştirilmiş gruplara göre normal dağılım gösteren verileri karşılaştırmak için bağımsız iki örnek t testi, normal dağılım göstermeyen verileri karşılaştırmak için Mann-Whitney U testi kullanıldı. Kategorik değişkenleri gruplara göre karşılaştırmak için Ki-kare ve Fisher's Exact testleri kullanıldı. Klinik koşullara göre lenfosit alt gruplarının ortalama düzeylerini karşılaştırmak için tek yönlü Anova testi kullanıldı. Oksijen ihtiyacını etkileyen risk faktörlerini belirlemek için binary lojistik regresyon analizi kullanıldı. Analiz sonuçları, nicel veriler için ortalama (standart sapma; SD) ve medyan (Q1-Q3), kategorik veriler için frekans (%) olarak ifade edildi. Anlamlılık düzeyi $p < 0.05$ olarak alındı.

BULGULAR

Çalışmaya alınan 57 hastanın 19'u (%33) kadın, 38'i (%67) erkekti. Klinik olarak bakıldığında 25'i (%43.9) orta, 4'ü (%7) ağır ve 2'si (%3.5) kritikti. Hastaların 31'inde (%54.4) pnömoni; 6'sında (%10.5) oksijen desteği ve 2'sinde (%3.5) yoğun bakım ihtiyacı mevcuttu. En sık görülen semptomlar öksürük (%50.9), boğaz ağrısı (%50.9), kas ve eklem ağrısı (%45.6) ve ateş (%43.9) idi (Tablo 1). Ortanca yaş 38 (28-49) idi. Şikayetlerin medyan süresi üç (çeyrekler arası aralık; IQR= 1-4) gündü. Ortanca ateşin normale dönme süresi 0 (IQR= 0-2) gündü. Medyan hastanede kalış süresi beş (IQR= 4-7) gündü. Hastaların %78.9'unda SARS-CoV-2 PZR pozitifliği (Tablo 2).

Tablo 1. Cinsiyet, semptom ve klinik sınıflama dağılımı

	n	%
Cinsiyet		
Kadın	19	33
Erkek	38	67
Semptomlar		
Öksürük	29	50.9
Boğaz ağrısı	29	50.9
Kas ve eklem ağrısı	26	45.6
Ateş	25	43.9
Baş ağrısı	23	40.4
Nefes darlığı	16	28.1
İshal	15	26.3
Tat kaybı	9	15.8
Koku kaybı	9	15.8
Karın ağrısı	5	8.8
Sırt ağrısı	4	7.0
Dizüri	1	1.8
Klinik Sınıflama		
Asemptomatik	11	19.3
Hafif	15	26.3
Orta	25	43.9
Ağır	4	7.0
Kritik	2	3.5

Pnömonili hastalarda (orta/ağır/kritik) ortanca yaş ($p = 0.026$), şikayet süresi ($p < 0.001$), hastanede yatış süresi ($p = 0.001$), ateş yanıt süresi ($p = 0.003$), oksijen desteğine ihtiyaç ($p = 0.027$) ve PZR pozitifliği ($p < 0.001$) pnömonisi olmayanlara (asemptomatik/hafif) göre anlamlı derecede yüksekti. Benzer şekilde pnömonili hastalarda ortalama C-reaktif protein (CRP) (< 0.001), D-dimer ($p = 0.001$) ve laktat dehidrogenaz (LDH) ($p = 0.021$) düzeyleri pnömonisi olmayanlara göre anlamlı derecede yüksekti. Ortalama lökosit ($p = 0.016$), nötrofil ($p = 0.037$) ve hemoglobin ($p < 0.001$) seviyeleri, pnömonisi olan gruplarda, pnömonisi olmayan gruplara göre anlamlı olarak daha düşüktü (Tablo 2). Pnömoni olan ve olmayan gruplar arasında lenfosit alt grup düzeyleri benzerdi ($p > 0.05$). Hastaların klinik sınıfları ile immünoglobulinler (IgM, IgA, IgG ve IgE) arasında bir ilişki saptanmadı.

Tablo 2. Pnömoni varlığına göre klinik ve laboratuvar bulguların karşılaştırılması									
	Pnömoni var (n= 31) (Orta/ağır/kritik)			Pnömoni yok (n= 26) (Asemptomatik/hafif)			Toplam (n= 57)		
	Ortalama (SD)	Ortanca (Q1-Q3)	Ortalama (SD)	Ortanca (Q1-Q3)	Ortalama (SD)	Ortanca (Q1-Q3)	Ortalama (SD)	Ortanca (Q1-Q3)	p
Yaş	44.23 ± 15.79	44.00 (29.00-55.00)	35.50 ± 14.10	34.00 (23.00-45.00)	40.25 ± 15.54	38.00 (28.00-49.00)			0.026^Y
Cinsiyet*									
Kadın	12 (38.7)		7 (26.9)		19 (33.3)				0.347\$
Erkek	19 (61.3)		19 (73.1)		38 (66.7)				
Şikayet süresi (gün)	3.84 ± 2.45	3.00 (2.00-6.00)	1.50 ± 1.53	1.50 (0.00-3.00)	2.77 ± 2.38	3.00 (1.00-4.00)			<0.001^Y
Hastanede yatış süresi (gün)	8.19 ± 5.75	7.00 (5.00-9.00)	4.77 ± 0.95	5.00 (4.00-5.00)	6.63 ± 4.59	5.00 (4.00-7.00)			0.001^Y
Ateş yanıt süresi (gün)	2.16 ± 2.67	1.00 (0.00-4.00)	0.46 ± 0.91	0.00 (0.00-0.00)	1.39 ± 2.22	0.00 (0.00-2.00)			0.003^Y
Komorbiditye*									
Evet	10 (32.3)		6 (23.1)		16 (28.1)				0.442\$
Hayır	21 (67.7)		20 (76.9)		41 (71.9)				
PZR*									
Negatif	12 (38.7)		0 (0)		12 (21.1)				<0.001\$
Pozitif	19 (61.3)		26 (100)		45 (78.9)				
Oksijen desteği*									
Evet	6 (19.4)		0 (0)		6 (10.5)				0.027 ^{ll}
Hayır	25 (80.6)		26 (100)		51 (89.5)				
Mortalite*									
Hayır	30 (96.8)		26 (100)		56 (98.2)				---
Evet	1 (3.2)		0 (0)		1 (1.8)				
WBC (10 ³ /mL)	6181.94 ± 2592.26 (4090.00-7310.00)	6450.00 (4090.00-7310.00)	7936.92 ± 2737.69 (5990.00-9650.00)	7315.00 (5990.00-9650.00)	6982.46 ± 2779.13 (5320.00-8840.00)	7000.00 (5320.00-8840.00)			0.016^Y
Nötrofil (10 ⁹ /L)	4051.94 ± 2311.60 (2140.00-5610.00)	3330.00 (2140.00-5610.00)	5383.65 ± 2373.79 (3760.00-6880.00)	4805.00 (3760.00-6880.00)	4659.39 ± 2413.71 (2810.00-6000.00)	4170.00 (2810.00-6000.00)			0.037^Y
Lenfosit (10 ⁹ /L)	1402.58 ± 775.29 (820.00-2000.00)	1300.00 (820.00-2000.00)	1578.15 ± 932.63 (710.00-2120.00)	1630.00 (710.00-2120.00)	1482.67 ± 847.40 (820.00-2110.00)	1490.00 (820.00-2110.00)			0.441 ^Y

Tablo 2. Pnömoni varlığına göre klinik ve laboratuvar bulguların karşılaştırılması (devamı)

Monosit ($10^9/L$)	649.03 $\pm$ 352.88	560.00 (360.00-860.00)	590.96 $\pm$ 294.16	510.00 (410.00-750.00)	622.54 $\pm$ 325.87	530.00 (410.00-790.00)	0.508 ^Y
Hemogloblin	12.75 $\pm$ 2.19	12.80 (11.70-14.70)	14.86 $\pm$ 1.31	15.15 (13.60-15.90)	13.71 $\pm$ 2.11	14.40 (12.60-15.20)	<0.001 ^Y
Ferritin (mg/dL)	663.66 $\pm$ 1485.97	203.30 (37.70-550.00)	124.36 $\pm$ 112.21	94.45 (38.00-187.50)	435.49 $\pm$ 1154.62	122.65 (37.85-313.60)	0.143 ^Y
CRP (mg/L)	60.50 $\pm$ 91.87	21.90 (3.90-82.00)	11.80 $\pm$ 27.26	3.00 (1.47-8.52)	38.29 $\pm$ 73.84	5.10 (3.00-34.69)	<0.001 ^Y
Prokalsitonin (mg/dL)	0.16 $\pm$ 0.31	0.06 (0.05-0.15)	0.06 $\pm$ 0.03	0.05 (0.04-0.07)	0.11 $\pm$ 0.23	0.05 (0.04-0.09)	0.060 ^Y
D-dimer (mg/dL)	634.19 $\pm$ 1045.60	328.00 (167.43-520.00)	196.57 $\pm$ 113.44	151.45 (116.90-244.00)	427.31 $\pm$ 788.33	225.28 (138.60-432.60)	0.001 ^Y
Fibrinojen (mg/dL)	554.36 $\pm$ 258.40	475.50 (375.00-708.00)	328.50 $\pm$ 115.75	285.50 (253.00-404.00)	504.17 $\pm$ 250.52	436.50 (311.00-609.00)	0.114 ^Y
AST (mg/dL)	33.16 $\pm$ 31.43	21.50 (17.00-32.00)	21.20 $\pm$ 6.83	20.00 (17.00-23.00)	27.61 $\pm$ 24.05	20.00 (17.00-29.80)	0.292 ^Y
ALT (mg/dL)	30.62 $\pm$ 24.61	19.50 (13.00-40.00)	23.30 $\pm$ 15.37	21.50 (13.00-25.00)	27.23 $\pm$ 20.98	21.00 (13.00-33.50)	0.511 ^Y
GGT (mg/dL)	55.75 $\pm$ 47.83	39.80 (19.00-80.00)	24.02 $\pm$ 15.14	22.00 (10.00-33.00)	45.55 $\pm$ 42.67	33.50 (16.85-50.10)	0.090 ^Y
LDH (mg/dL)	262.72 $\pm$ 147.90	227.00 (187.00-288.00)	193.46 $\pm$ 31.52	192.50 (170.00-219.00)	232.84 $\pm$ 117.76	204.00 (170.00-250.00)	0.021 ^Y
BUN (mg/dL)	12.73 $\pm$ 6.00	10.80 (8.70-16.00)	12.84 $\pm$ 3.98	12.35 (9.70-15.50)	12.78 $\pm$ 5.13	12.00 (9.00-5.50)	0.456 ^Y
Kreatinin (mg/dL)	0.90 $\pm$ 0.27	0.88 (0.70-1.11)	0.89 $\pm$ 0.17	0.87 (0.77-1.02)	0.89 $\pm$ 0.23	0.87 (0.74-1.09)	0.823 ^Y

*: Sıklık (%), ^Y: Bağımsız iki örneklem t-testi, ^Y: Mann-Whitney U testi, ^S: Ki-kare testi, ^{||}: Fisher's Exact testi.

WBC: Beyaz kan hücreleri, CRP: C-reaktif protein, AST: Aspartat aminotransferaz, ALT: Alanin aminotransferaz, GGT: Gama-glutamil transferaz, LDH: Laktat dehidrogenaz.

CD3⁺ T hücre (p= 0.015), CD4⁺ T hücre (p= 0.005), CD19⁺ B hücre (p= 0.019), CD20⁺ B hücre (p= 0.023) ve CD19⁺CD27⁻ B hücre (p= 0.022) düzeyleri asemptomatik hastalarda herhangi bir semptomu olan hastalara göre anlamlı olarak daha yüksekti. CD4⁺/CD8⁺ oranı (p= 0.017), CD3⁺ T hücre (p=

0.015), CD4⁺ T hücre (p= 0.005), CD19⁺ B hücre (p= 0.004), CD20⁺ B hücre (p= 0.006), HLA-DR T hücre (p= 0.006), CD19⁺CD27⁻ B hücre (p= 0.022) ve CD19⁺CD27⁺IgD⁻ B hücre (p= 0.034) düzeyleri oksijen ihtiyacı olan hastalarda (ağır/kritik), olmayanlara (asemptomatik/hafif/orta) göre anlamlı olarak daha düşüktü (Tablo 3).

Tablo 3. Oksijen desteğine göre ortalama ve ortanca lenfosit düzeylerinin karşılaştırılması (count/ μ L)

	Oksijen desteği var (n= 6) (Ağır/kritik)		Oksijen desteği yok (n= 51) (Asemptomatik/hafif/orta)		p
	Ortalama (SD)	Ortanca (Q1-Q3)	Ortalama (SD)	Ortanca (Q1-Q3)	
CD4/CD8	1.06 $\pm$ 0.80	0.90 (0.50-1.20)	1.81 $\pm$ 0.77	1.74 (1.34-2.10)	0.017 ^Y
CD3	441.77 $\pm$ 297.60	409.95 (147.40-748.80)	1053.60 $\pm$ 584.84	1087.70 (508.20-1425.00)	0.015 ^Y
CD4	224.25 $\pm$ 162.91	263.10 (37.80-348.50)	650.26 $\pm$ 348.00	673.20 (335.40-852.80)	0.005 ^Y
CD8	216.08 $\pm$ 154.14	143.25 (110.00-403.20)	408.45 $\pm$ 267.98	387.40 (180.60-537.50)	0.062 ^Y
CD3HLA DR	99.12 $\pm$ 23.37	94.10 (86.00-115.20)	211.81 $\pm$ 205.15	146.40 (95.00-265.20)	0.094 ^Y
CD4HLA DR	85.95 $\pm$ 27.58	81.15 (70.20-103.20)	147.32 $\pm$ 134.29	106.20 (59.60-199.20)	0.300 ^Y
CD8HLA DR	174.58 $\pm$ 129.97	117.50 (93.60-259.20)	391.40 $\pm$ 379.91	312.00 (167.40-459.20)	0.070 ^Y
CD3CD8 TCR $\gamma\delta$	127.22 $\pm$ 145.38	69.85 (10.50-246.50)	292.89 $\pm$ 242.84	249.60 (136.50-405.00)	0.058 ^Y
CD3CD4CD45RACD31	147.93 $\pm$ 148.09	134.05 (13.20-244.80)	348.90 $\pm$ 256.35	284.65 (154.70-503.50)	0.078 ^Y
CD45RA	423.50 $\pm$ 336.59	392.25 (99.00-713.70)	739.06 $\pm$ 407.56	752.50 (409.50-1008.00)	0.074 ^Y
CD4CD45RA	264.40 $\pm$ 237.98	260.40 (29.40-476.00)	482.25 $\pm$ 333.06	426.30 (220.00-748.80)	0.138 ^Y
CD8CD45RA	327.17 $\pm$ 285.36	225.05 (115.50-637.50)	557.24 $\pm$ 323.35	561.00 (312.90-732.80)	0.105 ^Y
HLA DR	156.50 $\pm$ 81.99	124.85 (103.20-244.80)	403.72 $\pm$ 291.91	387.40 (214.60-500.00)	0.006 ^Y
CD3CD38HLA DR	30.62 $\pm$ 19.63	25.70 (16.80-35.10)	55.20 $\pm$ 140.24	21.60 (8.20-43.50)	0.694 ^Y
CD19	43.65 $\pm$ 43.57	39.55 (2.10-70.20)	156.59 $\pm$ 112.70	146.20 (78.10-224.00)	0.004 ^Y
CD20	39.75 $\pm$ 41.72	34.15 (2.10-57.60)	153.41 $\pm$ 123.55	129.60 (65.00-218.40)	0.006 ^Y
CD19CD27-	380.23 $\pm$ 372.80	362.40 (17.20-697.00)	959.18 $\pm$ 583.29	864.00 (443.70-1375.20)	0.022 ^Y
CD19CD27+	246.63 $\pm$ 272.74	199.90 (23.10-322.50)	476.18 $\pm$ 390.25	399.00 (139.20-638.00)	0.111 ^Y
CD19CD27IgD+	137.85 $\pm$ 218.93	71.80 (0.00-107.50)	237.85 $\pm$ 210.01	160.30 (69.60-340.20)	0.118 ^Y
CD19CD27IgD-	83.20 $\pm$ 97.09	58.55 (0.00-124.70)	243.39 $\pm$ 228.62	195.00 (65.60-300.00)	0.034 ^Y
CD56	145.92 $\pm$ 187.67	79.60 (34.40-140.40)	183.83 $\pm$ 146.14	172.00 (72.80-249.60)	0.254 ^Y
CD3CD56	46.87 $\pm$ 36.21	39.05 (21.00-86.40)	67.50 $\pm$ 82.37	43.00 (14.20-85.80)	0.990 ^Y

^Y: Bağımsız iki örneklem t-testi, ^Y: Mann-Whitney U testi.

Tablo 4. Klinik sınıflara göre lenfosit alt gruplarının ortalama düzeylerinin karşılaştırması (count/ μ L)

	Aseptomatik (n= 11)	Hafif (n= 15)	Orta (n= 25)	Ağır/Kritik (n= 6)	Yeni p
T lenfosit					
CD4/CD8	1.9 $\pm$ 0.8	1.8 $\pm$ 0.5	1.8 $\pm$ 0.9	1.1 $\pm$ 0.8	0.17
CD3	1144.3 $\pm$ 728.2	938.7 $\pm$ 516.7	1082.7 $\pm$ 568.3	441.8 $\pm$ 297.6	0.08
CD4	764.7 $\pm$ 435.9	570.8 $\pm$ 325.8	647.6 $\pm$ 318.2	224.3 $\pm$ 162.9	0.019
CD8	420.1 $\pm$ 308.9	361.7 $\pm$ 215.4	431.4 $\pm$ 284.3	216.1 $\pm$ 154.1	0.323
CD3HLA DR	248.9 $\pm$ 317.5	163 $\pm$ 131.6	224.7 $\pm$ 182.4	99.1 $\pm$ 23.4	0.374
CD4HLA DR	163.8 $\pm$ 154.5	126.4 $\pm$ 102.7	152.6 $\pm$ 145.1	86 $\pm$ 27.6	0.617
CD8HLA DR	446.5 $\pm$ 563.4	329.5 $\pm$ 308.2	404.3 $\pm$ 330.3	174.6 $\pm$ 130	0.472
CD3CD8 TCR $\gamma\delta$	318.8 $\pm$ 195.2	248.7 $\pm$ 193.1	308 $\pm$ 288.9	127.2 $\pm$ 145.4	0.352
CD3CD4CD45RACD31	381.9 $\pm$ 265.3	240.6 $\pm$ 129.8	395 $\pm$ 293.5	147.9 $\pm$ 148.1	0.07
CD45RA	930.2 $\pm$ 546.8	648.8 $\pm$ 371.5	709.1 $\pm$ 343.8	423.5 $\pm$ 336.6	0.088
CD4CD45RA	518 $\pm$ 323.8	450.3 $\pm$ 322.5	485.7 $\pm$ 354.3	264.4 $\pm$ 238	0.464
CD8CD45RA	672.1 $\pm$ 426.5	497.3 $\pm$ 383.1	542.7 $\pm$ 218.9	327.2 $\pm$ 285.4	0.203
HLA DR	488.5 $\pm$ 446.5	362.2 $\pm$ 257.2	391.3 $\pm$ 226.6	156.5 $\pm$ 82	0.15
CD3CD38HLA DR	22.8 $\pm$ 23.5	15.1 $\pm$ 12.5	93.5 $\pm$ 194	30.6 $\pm$ 19.6	0.235
B lenfosit					
CD19	238.5 $\pm$ 163.9	126.7 $\pm$ 96	138.5 $\pm$ 77	43.7 $\pm$ 43.6	0.003
CD20	237.1 $\pm$ 190	124.5 $\pm$ 108.4	134.2 $\pm$ 79.8	39.8 $\pm$ 41.7	0.01
CD19CD27-	1125 $\pm$ 680.5	822 $\pm$ 502	968.5 $\pm$ 586.8	380.2 $\pm$ 372.8	0.072
CD19CD27+	581.8 $\pm$ 496	419.4 $\pm$ 413.3	463.8 $\pm$ 328.4	246.6 $\pm$ 272.7	0.384
CD19CD27IgD+	287.1 $\pm$ 203	189.4 $\pm$ 199.6	245.3 $\pm$ 221	137.9 $\pm$ 218.9	0.464
CD19CD27IgD-	307.9 $\pm$ 324.5	221.5 $\pm$ 221.7	228.1 $\pm$ 184	83.2 $\pm$ 97.1	0.273
Doğal öldürücü hücre					
CD56	205 $\pm$ 143.8	180.6 $\pm$ 187.7	176.5 $\pm$ 122.7	145.9 $\pm$ 187.7	0.894
CD3CD56	130.1 $\pm$ 132.4	39.4 $\pm$ 54	56.8 $\pm$ 52.2	46.9 $\pm$ 36.2	0.017

Tablo 5. Oksijen ihtiyacını etkileyen risk faktörleri

	Univariate	
	OR (%95 CI)	p
CD4/CD8	0.129 (0.021-0.78)	0.026
CD3	0.997 (0.995-1)	0.031
CD4	0.995 (0.99-0.999)	0.018
CD19	0.98 (0.963-0.998)	0.028
CD20	0.979 (0.96-0.999)	0.038
HLA-DR	0.992 (0.985-0.999)	0.032
CD19CD27IgD-	0.998 (0.995-1)	0.037

Ağır/kritik hastalarda CD4⁺ (p= 0.019), CD19⁺ (p= 0.003), CD20⁺ (p= 0.01), CD3⁺CD56⁺NKT hücrelerinin ortalama seviyeleri (p= 0.017) anlam-

lı olarak daha düşüktü (Tablo 4). CD4⁺/CD8⁺, CD3⁺, CD4⁺, CD19⁺, CD20⁺, HLA-DR ve CD19⁺CD27⁺IgD⁻ hücrelerinin ortalama düzeylerindeki artış, sırasıyla olası oksijen desteğini 0.129 kat (p= 0.026); 0.997 kat (p= 0.031); 0.995 kat (p= 0.018); 0.98 kat (p= 0.028); 0.979 kat (p= 0.038); 0.992 kat (p= 0.032); 0.998 kat (p= 0.037) kat azalttığı belirlendi (Tablo 5).

TARTIŞMA

Lenfositler bağışıklık sisteminde kritik bir role sahiptir. COVID-19'da lenfopeni, erken evrelerde bile morbidite ve mortaliteyi öngören en sık tanımlanan prognostik belirteçtir^[12]. Çalışmalar, COVID-19 hastalarında belirli lenfosit alt gruplarının düzeylerindeki değişikliklerin hastalığın prognozu ile ilişkili olduğunu öne sürmüştür^[6-8,13].

Birkaç çalışma, kliniği ağır olan COVID-19 vakalarında CD3⁺ T hücre düzeylerinin ağır kliniği olmayan diğer vakalardan daha düşük olduğunu göstermiştir^[4,7,9,10,15,16]. Xie ve arkadaşları CD4⁺/CD8⁺ oranının taburculuk aşamasında, hastaneye kabul aşamasındakine göre önemli ölçüde arttığını bildirmiştir^[9]. Ek olarak, Qin ve arkadaşları ile Zheng ve arkadaşları CD4⁺ T hücre düzeylerinin ağır COVID-19 vakalarında hafif vakalara göre daha düşük olduğunu rapor etmişlerdir^[7,17]. Chen ve arkadaşları COVID-19 vakalarındaki CD4⁺ T hücre düzeylerinin yoğun bakıma kabul ile ilişkili olduğunu rapor etmiştir^[18]. Wang ve arkadaşları ağır COVID-19 vakalarında CD4⁺ ve CD8⁺ T hücre düzeylerinin ve CD4⁺/CD8⁺ oranının düşük olduğunu rapor etmiştir. Ayrıca CD8⁺ T hücre düzeylerindeki değişikliğin daha belirgin olduğunu ve COVID-19'un klinik prognozu için ideal bir öngörücü olduğunu belirtmiştir^[19]. Ancak çalışmamızda CD8⁺ T hücre düzeylerinde anlamlı bir değişiklik saptamamakla birlikte oksijen desteğine ihtiyaç duyan (ağır/kritik) hastalarda CD3⁺, CD4⁺ T hücre düzeylerinin ve CD4⁺/CD8⁺ oranlarının anlamlı olarak daha düşük olduğunu ortaya koyduk. Çalışmamız literatürdeki çalışmaları destekler nitelikte ağır/kritik hastalarda en çok T lenfosit alt gruplarının etkilendiğini göstermektedir. Bu bulgular düşük CD3⁺, CD4⁺ T hücre düzeyi ve CD4⁺/CD8⁺ oranının kötü prognozu öngörmeye değerli olduğunu düşündürmektedir.

Mathew ve arkadaşları COVID-19 vakalarında CD3⁺CD38⁺HLA-DR aktive T hücre ile antijen sunumunda rol alan B ve aktive T hücrelerinde ifade edilen, bağışık yanıtta önemli role sahip HLA-DR düzeylerinin arttığını bildirmişlerdir. Ancak Mathew ve arkadaşlarının çalışmalarında klinik sınıflama yapılmadığı görülmüştür^[20]. Çalışmamızda ağır/kritik durumdaki hastalarda risk faktörü olarak saptadığımız düşük HLA-DR düzeyi derin lenfopeni ile açıklanabilir. Bununla birlikte CD3⁺CD38⁺HLA-DR düzeylerinde anlamlı bir değişiklik gösteremedik. Bu sonuç aktive T lenfosit düzeylerinin tüm klinik durumlarda yaygın etkilendiğini düşündürmekle birlikte, aktive HLA-DR ve CD3⁺CD38⁺HLA-DR düzeylerinin klinik sınıflamayla dinamik bir ilişki içerisinde olduğunu düşündürmektedir.

He ve arkadaşları ile Wang ve arkadaşları ağır COVID-19 vakalarında CD19⁺ B hücre seviyesinin düşük olduğunu; Mathew ve arkadaşları ise CD19⁺CD27⁺IgD⁺ ve CD19⁺CD27⁺IgD⁻ bellek B hücre düzeylerinde anlamlı düşüş olduğunu

bildirmişlerdir^[15,19,20]. Çölkesen ve arkadaşları ile Martín-Sánchez ve arkadaşları düşük B hücre düzeylerinin kötü prognozla ilişkili olduğunu rapor etmişlerdir^[8,21]. Çalışmamızda, oksijen desteğine ihtiyaç duyan ağır/kritik vakalardaki CD19⁺, CD20⁺, CD19⁺CD27⁻ ve CD19⁺CD27⁺IgD⁻ B hücrelerinin ortalama düzeyi, asemptomatik/hafif/orta vakalara göre anlamlı olarak daha düşüktü. Düşük CD19⁺, CD20⁺ ve CD19⁺CD27⁺IgD⁻ hücre seviyesini, ağır/kritik hastalık açısından risk faktörü olarak belirledik. Bu bulgular ağır/kritik vakalarda azalmış T hücre düzeyi ile ilişkili olarak düşük B hücre düzeylerinin antikör yanıtını bozarak kliniğin kötüleşmesini desteklemektedir.

Maucourant ve arkadaşları ağır COVID-19 vakalarında CD3⁺CD56⁺ NKT hücre seviyesinin arttığını bildirmiştir^[22]. Li ve arkadaşları CD3⁺CD56⁺ NKT hücre düzeyinin prognozu belirlemede katkı sağlayacağını belirtmiştir^[23]. Literatürde ağır klinikle seyreden vakalarda önemli ölçüde daha düşük bir CD3⁺CD56⁺ NKT hücre yüzdesi olduğu rapor edilmiştir^[24,25]. Çalışmamızda CD3⁺CD56⁺ NKT hücre düzeyi, hastalığın şiddeti ile bağımsız olarak ilişkili bulunmuştur. CD3⁺CD56⁺ NKT hücre düzeylerinin orta/ağır/kritik klinikle seyreden hastalar arasında anlamlı bir farklılık göstermediğini saptadık. Ancak kritik durumdaki hastalarda, önemli ölçüde daha düşük bir CD3⁺CD56⁺ NKT hücre yüzdesi bulduk. Bu sonuç virüslere karşı bağışık yanıtta CD3⁺CD56⁺ NKT hücrelerinin etkin rol oynamasıyla açıklanabilir.

Bu çalışma, önemli ölçüde düşük nötrofil seviyesinin saptandığı orta/ağır/kritik COVID-19 vakalarında, kazanılmış bağışıklığın yanı sıra doğuştan gelen bağışıklığın da hastalığın klinik seyrini belirlemede bir gösterge olduğunu işaret etmektedir.

Bu bulgularla birlikte pnömonisi olan vakalarla (orta/ağır/kritik) yüksek CRP, LDH, D-dimer düzeyleri arasında literatürle uyumlu olarak anlamlı bir ilişki bulduk. Yapılan çalışmalar bulgularımızı destekler nitelikte olup bu belirteçlerin COVID-19 ile ilişkili solunum yetmezliğinin potansiyel öngörücüleri olabileceğini göstermiştir^[7,26,27].

COVID-19 patogeneziindeki inflamatuvar süreç eşlik eden lenfopeni CD4⁺ ve CD8⁺ T hücreleri, NK ve B hücreleri, monosit ve dendritik hücreleri kapsayan birçok immün hücre türünde azalmaya neden olmaktadır. Özellikle ağır olgu-

larda CD3⁺, CD4⁺ ve CD8⁺ T hücreleri ile CD19⁺ B hücreleri ve CD16⁺56⁺ NK hücreleri baskılanmakta ve buna çoğunlukla IL-6, IL-10 ve TNF- α düzeylerinde yükselme eşlik etmektedir. COVID-19 olgularında virüsün solunum yolu epitel hücrelerine girişinin ardından zayıf interferon yanıtına eşlik eden bir inflamatuvar sitokin üretimi görülmektedir. Patojenik Th₁ hücreleri ve CD14⁺CD16⁺ monositlerin proinflamatuvar bağışıklık tepkilerini, membrana bağlı immün reseptörler ve sinyal yollarının aracılık ettiği makrofaj ve nötrofillerin akciğer dokusuna sızması izlemek ve bu da IL-6, TNF- α gibi sitokinlerin fazla salgındığı bir sitokin fırtınasına neden olmaktadır. Lenfopeni ve sitokin fırtınasının çoğunlukla birlikte görüldüğü immün sistemin ileri derecede bozulduğu ağır olgulardaki klinik durum CD3⁺, CD4⁺ ve CD8⁺ T hücre üretiminin baskılanmasıyla açıklanmıştır^[28,29].

COVID-19 vakalarının klinik sonuçlarını ve prognozunu tahmin etmek için güvenilir belirteçler belirlemeyi amaçladık ancak çalışmamızın bazı sınırlılıkları mevcuttu. Çalışmamızın yapıldığı süre içerisinde bulaşı sınırlandırmak amacıyla Sağlık Bakanlığı Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü Filyasyon Birimi tarafından test sonucu pozitif çıkan her vakanın hastaneye yatırılması zorunlu hale getirilmişti. Vakalardan yalnızca hastaneye kabul edildiği ilk gün klinikten bağımsız olarak tedavi öncesi alınan kan örneklerini değerlendirebildik. Ayrıca kısıtlı bütçe nedeniyle enfeksiyonun ileri evrelerinde veya iyileştikten sonra vakalardan tekrar kan örnekleri alamadık, uzun süreli değerlendirmeler yapamadık. Çalışmaya dahil edilen vakaların yatışlarının ilerleyen günlerinde sadece altısında oksijen ihtiyacı gelişti ve bunlardan sadece ikisi yoğun bakımda takip edildi. Bu koşullar çalışmamızı sınırlandırdı. Ağır ve kritik hasta sayısının az olması çalışmamızı sınırlandırsa da verilerimizin daha fazla sayıda hastayı içeren çalışmaları destekleyeceğini düşünüyoruz.

Sonuç olarak bulgularımız CD3⁺, CD4⁺ T hücre, CD19⁺, CD20⁺ ve CD19⁺CD27⁻ B hücre düzeyi yüksek olan olgularda COVID-19'un asemptomatik seyredeceğini göstermekle birlikte çalışmamız Türkiye'de COVID-19 tanısı alan erişkin vakalarda prognozunu belirlemede en fazla lenfosit alt grubunun incelendiği tek COVID-19 çalışmasıdır. Bu çalışma, CD4⁺/CD8⁺, CD3⁺, CD4⁺, CD19⁺, CD20⁺, HLA-DR ve CD19⁺CD27⁺IgD⁻ hücre düzeylerindeki önemli düşüşlerin COVID-

19'un klinik prognozu için öngörücü belirteçler olarak kullanılabileceğini göstermektedir.

TEŞEKKÜR

Çalışmanın gerçekleştirilmesi için bir hibe ile mali destek sağlayan üniversitemize (no. 117E636, 117R039, 117Z808) teşekkür ederiz.

ETİK KURUL ONAYI

Bu çalışma, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu onayı ile gerçekleştirildi (Karar no: 308, Tarih: 02.06.2020).

ÇIKAR ÇATIŞMASI

Yazarlar bu makale ile ilgili herhangi bir çıkar çatışması bildirmemişlerdir.

YAZAR KATKISI

Anafikir/Planlama: TK

Analiz/Yorum: TK, FT, AA

Veri sağlama: Tüm yazarlar

Yazım: TK, FT, AA

Gözden Geçirme ve Düzeltme: Tüm yazarlar

Onaylama: Tüm yazarlar

KAYNAKLAR

1. Singhal T. A review of coronavirus disease-2019 (COVID-19). *Indian J Pediatr* 2020;87:281-6. <https://doi.org/10.1007/s12098-020-03263-6>
2. Shi Y, Wang G, Cai XP, Deng JW, Zheng L, Zhu HH, et al. An overview of COVID-19. *J Zhejiang Univ Sci B* 2020;21:343-60. <https://doi.org/10.1631/jzus.B2000083>
3. Paces J, Strizova Z, Smrz D, Cerny J. COVID-19 and the immune system. *Physiol Res* 2020;69:379-88. <https://doi.org/10.33549/physiolres.934492>
4. Jiang M, Guo Y, Luo Q, Huang Z, Zhao R, Liu S, et al. T-cell subset counts in peripheral blood can be used as discriminatory biomarkers for diagnosis and severity prediction of coronavirus disease 2019. *J Infect Dis* 2020;222:198-202. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiaa252>
5. Li T, Qiu Z, Zhang L, Han Y, He W, Liu Z, et al. Significant changes of peripheral T lymphocyte subsets in patients with severe acute respiratory syndrome. *J Infect Dis* 2004;189:648-51. <https://doi.org/10.1086/381535>
6. Cossarizza A, De Biasi S, Guaraldi G, Girardis M, Mussini C. SARS-CoV-2, the virus that causes COVID-19: Cytometry and the new challenge for global health. *Cytometry A* 2020;97:340-3. <https://doi.org/10.1002/cyto.a.24002>
7. Qin R, He L, Yang Z, Jia N, Chen R, Xie J, et al. Identification of parameters representative of immune dysfunction in patients with severe and fatal COVID-19 infection: A systematic review and meta-analysis. *Clin Rev Allergy Immunol* 2022. <https://doi.org/10.1007/s12016-021-08908-8>

8. Çölkesen F, Kepenek Kurt E, Vatansev H, Korkmaz C, Çölkesen F, Yücel F, et al. Memory B cells and serum immunoglobulins are associated with disease severity and mortality in patients with COVID-19. *Postgrad Med J* 2022. <https://doi.org/10.1136/postgradmedj-2021-140540>
9. Xie L, Wu Q, Lin Q, Liu X, Lin W, Hao S, et al. Dysfunction of adaptive immunity is related to severity of COVID-19: A retrospective study. *Ther Adv Respir Dis* 2020;14:1753466620942129. <https://doi.org/10.1177/1753466620942129>
10. Liu R, Wang Y, Li J, Han H, Xia Z, Liu F, et al. Decreased T cell populations contribute to the increased severity of COVID-19. *Clin Chim Acta* 2020;508:110-4. <https://doi.org/10.1016/j.cca.2020.05.019>
11. Wan S, Yi Q, Fan S, Lv J, Zhang X, Guo L, et al. Relationships among lymphocyte subsets, cytokines, and the pulmonary inflammation index in coronavirus (COVID-19) infected patients. *Br J Haematol* 2020;189:428-37. <https://doi.org/10.1111/bjh.16659>
12. Shearer WT, Rosenblatt HM, Gelman RS, Oyomopito R, Plaeger S, Stiehm ER, et al. Lymphocyte subsets in healthy children from birth through 18 years of age: The Pediatric AIDS Clinical Trials Group P1009 study. *J Allergy Clin Immunol* 2003;112:973-80. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2003.07.003>
13. Piątosza B, Wolska-Kuśnierz B, Pac M, Siewiera K, Galkowska E, Bernatowska E. B cell subsets in healthy children: Reference values for evaluation of B cell maturation process in peripheral blood. *Cytometry B Clin Cytom* 2010;78:372-81. <https://doi.org/10.1002/cyto.b.20536>
14. Ding Y, Zhou L, Xia Y, Wang W, Wang Y, Li L, et al. Reference values for peripheral blood lymphocyte subsets of healthy children in China. *J Allergy Clin Immunol* 2018;142:970-3. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2018.04.022>
15. He R, Lu Z, Zhang L, Fan T, Xiong R, Shen X, et al. The clinical course and its correlated immune status in COVID-19 pneumonia. *J Clin Virol* 2020;127:104361. <https://doi.org/10.1016/j.jcv.2020.104361>
16. Bolondi G, Russo E, Gamberini E, Circelli A, Meca MCC, Brogi E, et al. Iron metabolism and lymphocyte characterisation during COVID-19 infection in ICU patients: An observational cohort study. *World J Emerg Surg* 2020;15:41. <https://doi.org/10.1186/s13017-020-00323-2>
17. Zheng HY, Zhang M, Yang CX, Zhang N, Wang XC, Yang XP, et al. Elevated exhaustion levels and reduced functional diversity of T cells in peripheral blood may predict severe progression in COVID-19 patients. *Cell Mol Immunol* 2020;17:541-3. <https://doi.org/10.1038/s41423-020-0401-3>
18. Chen J, Qi T, Liu L, Ling Y, Qian Z, Li T, et al. Clinical progression of patients with COVID-19 in Shanghai, China. *J Infect* 2020;80:e1-e6. <https://doi.org/10.1016/j.jinf.2020.03.004>
19. Wang F, Nie J, Wang H, Zhao Q, Xiong Y, Deng L, et al. Characteristics of peripheral lymphocyte subset alteration in COVID-19 pneumonia. *J Infect Dis* 2020;221:1762-9. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiaa150>
20. Mathew D, Giles JR, Baxter AE, Oldridge DA, Greenplate AR, Wu JE, et al. Deep immune profiling of COVID-19 patients reveals distinct immunotypes with therapeutic implications. *Science* 2020;369.
21. Martín-Sánchez E, Garcés JJ, Maia C, Inogés S, López-Díaz de Cerio A, Carmona-Torre F, et al. Immunological biomarkers of fatal COVID-19: A study of 868 patients. *Front Immunol* 2021;12:659018. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.659018>
22. Maucourant C, Filipovic I, Ponzetta A, Aleman S, Cornillet M, Hertwig L, et al. Natural killer cell immunotypes related to COVID-19 disease severity. *Sci Immunol* 2020;5. <https://doi.org/10.1126/sciimmunol.abd6832>
23. Li M, Guo W, Dong Y, Wang X, Dai D, Liu X, et al. Elevated exhaustion levels of NK and CD8 (+) T cells as indicators for progression and prognosis of COVID-19 disease. *Front Immunol* 2020;11:580237. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.580237>
24. Zingaropoli MA, Perri V, Pasculli P, Cogliati Dezza F, Nijhawan P, Savelloni G, et al. Major reduction of NKT cells in patients with severe COVID-19 pneumonia. *Clin Immunol* 2021;222:108630. <https://doi.org/10.1016/j.clim.2020.108630>
25. Tripathy AS, Trimbake D, Suryawanshi PV, Tripathy SP, Gurav YK, Potdar VA, et al. Peripheral lymphocyte subset alteration in patients with COVID-19 having differential clinical manifestations. *Indian J Med Res* 2022;155:136-47. https://doi.org/10.4103/ijmr.IJMR_453_21
26. Akdogan D, Guzel M, Tosun D, Akpinar O. Diagnostic and early prognostic value of serum CRP and LDH levels in patients with possible COVID-19 at the first admission. *J Infect Dev Ctries* 2021;15:766-72. <https://doi.org/10.3855/jidc.14072>
27. El Kassas M, Asem N, Abdelazeem A, Madkour A, Sayed H, Tawheed A, et al. Clinical features and laboratory characteristics of patients hospitalized with COVID-19: Single centre report from Egypt. *J Infect Dev Ctries* 2020;14:1352-60. <https://doi.org/10.3855/jidc.13156>
28. Hu B, Huang S, Yin L. The cytokine storm and COVID-19. *J Med Virol* 2021;93:250-6. <https://doi.org/10.1002/jmv.26232>
29. Luo XH, Zhu Y, Mao J, Du RC. T cell immunobiology and cytokine storm of COVID-19. *Scand J Immunol* 2021;93:e12989. <https://doi.org/10.1111/sji.12989>

Yazışma Adresi/Address for Correspondence

Dr. Tuba KURUOĞLU

Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi,
İnfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji
Anabilim Dalı,
Samsun-Türkiye

E-posta: tuba.kuruoglu@omu.edu.tr