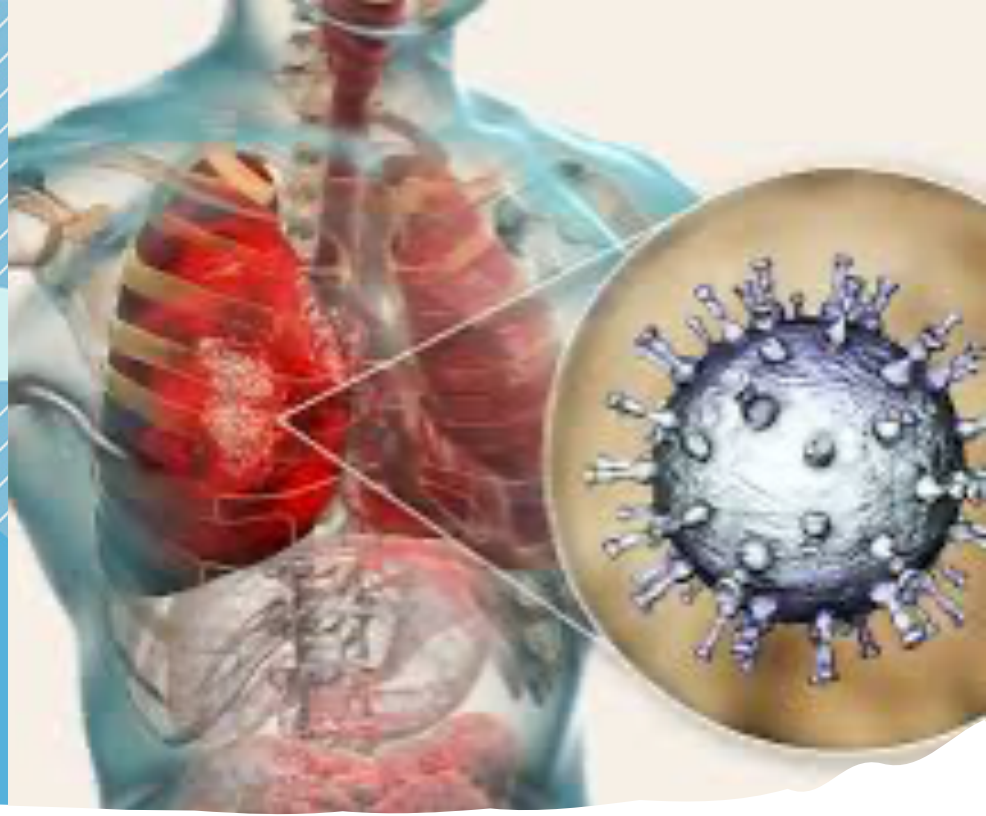
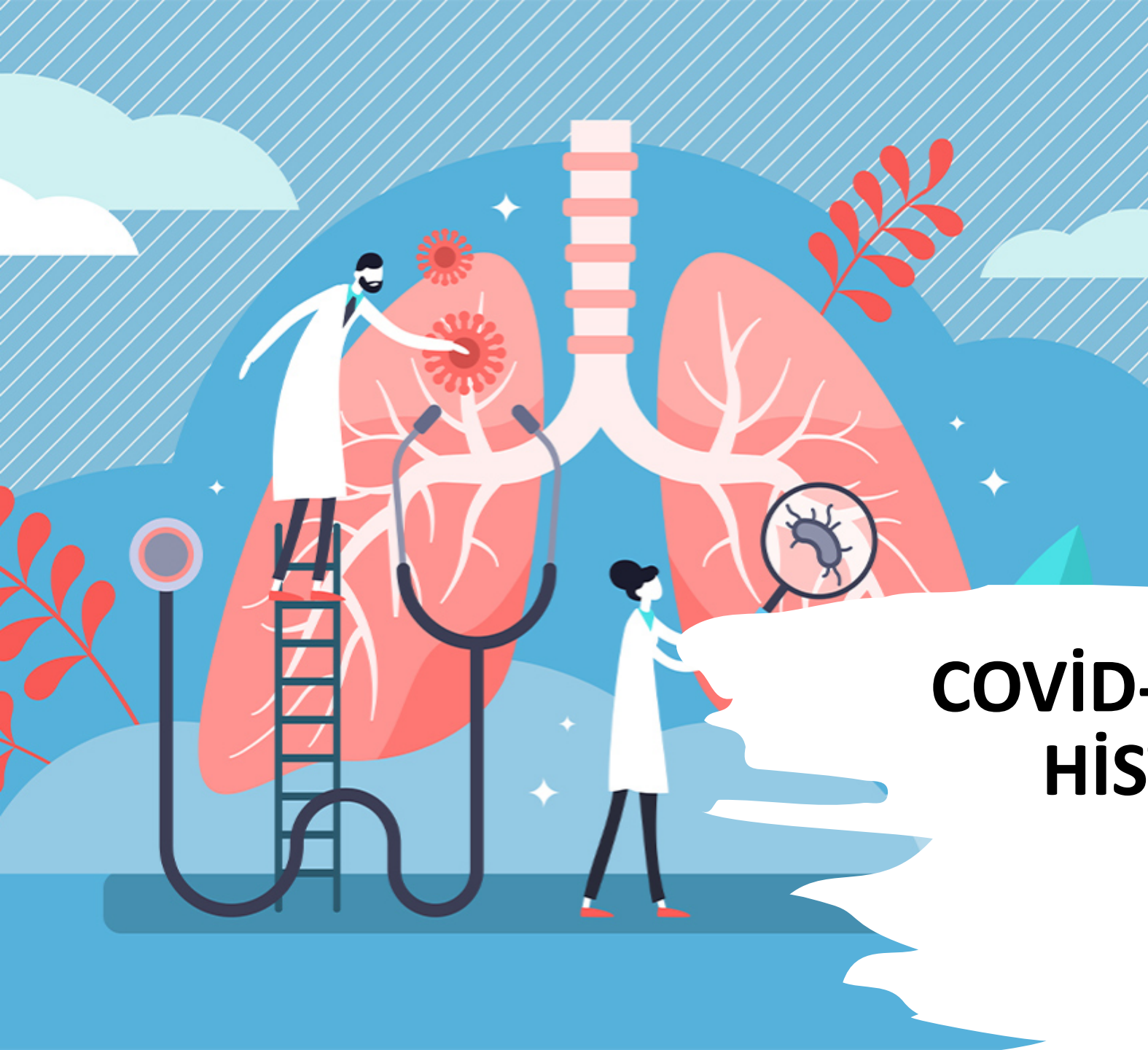




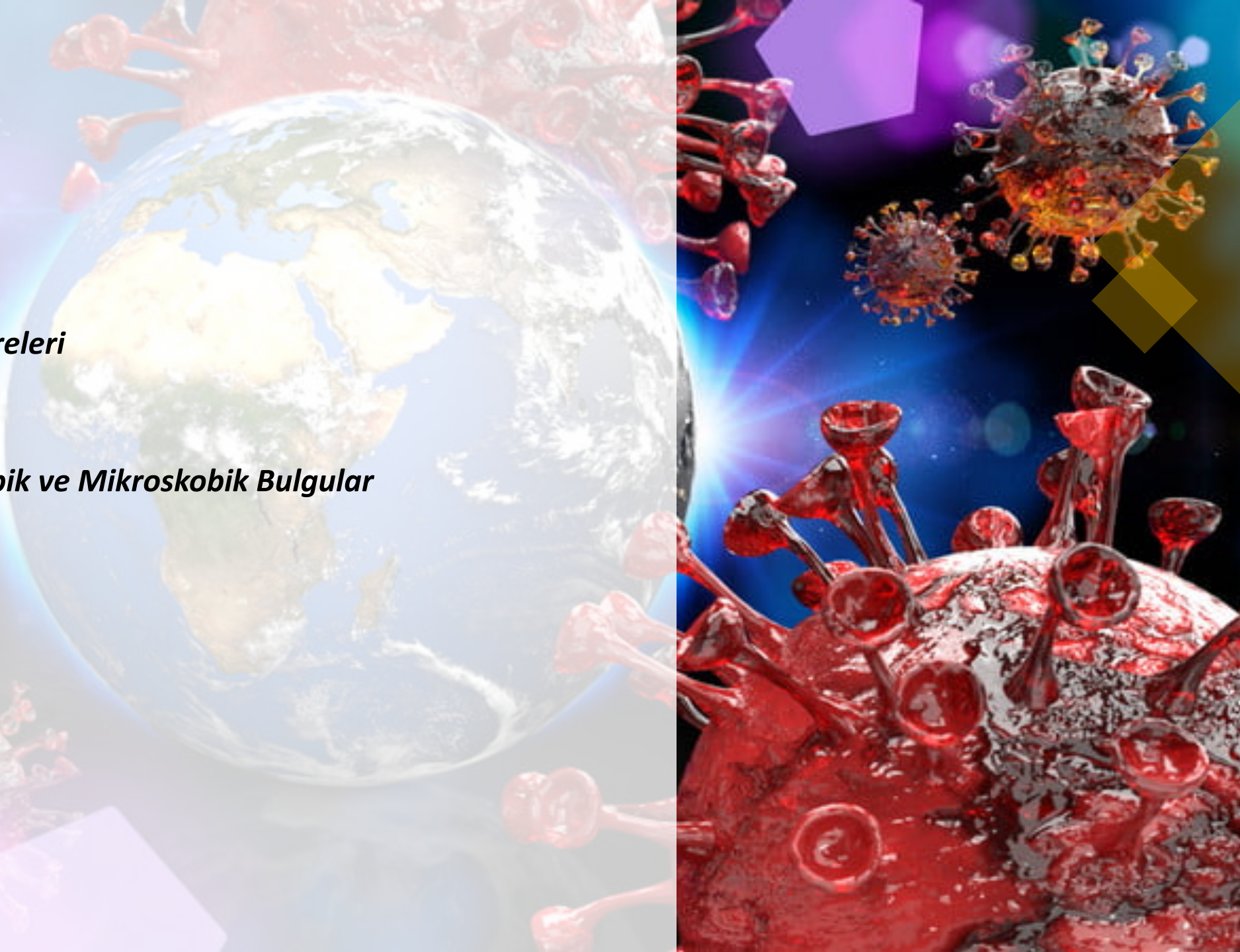
COVID-19'UN AKCİĞERLERE HİSTOLOJİK ETKİLERİ

Araş. Gör. Seda KESKİN

OCAK 2021/VAN

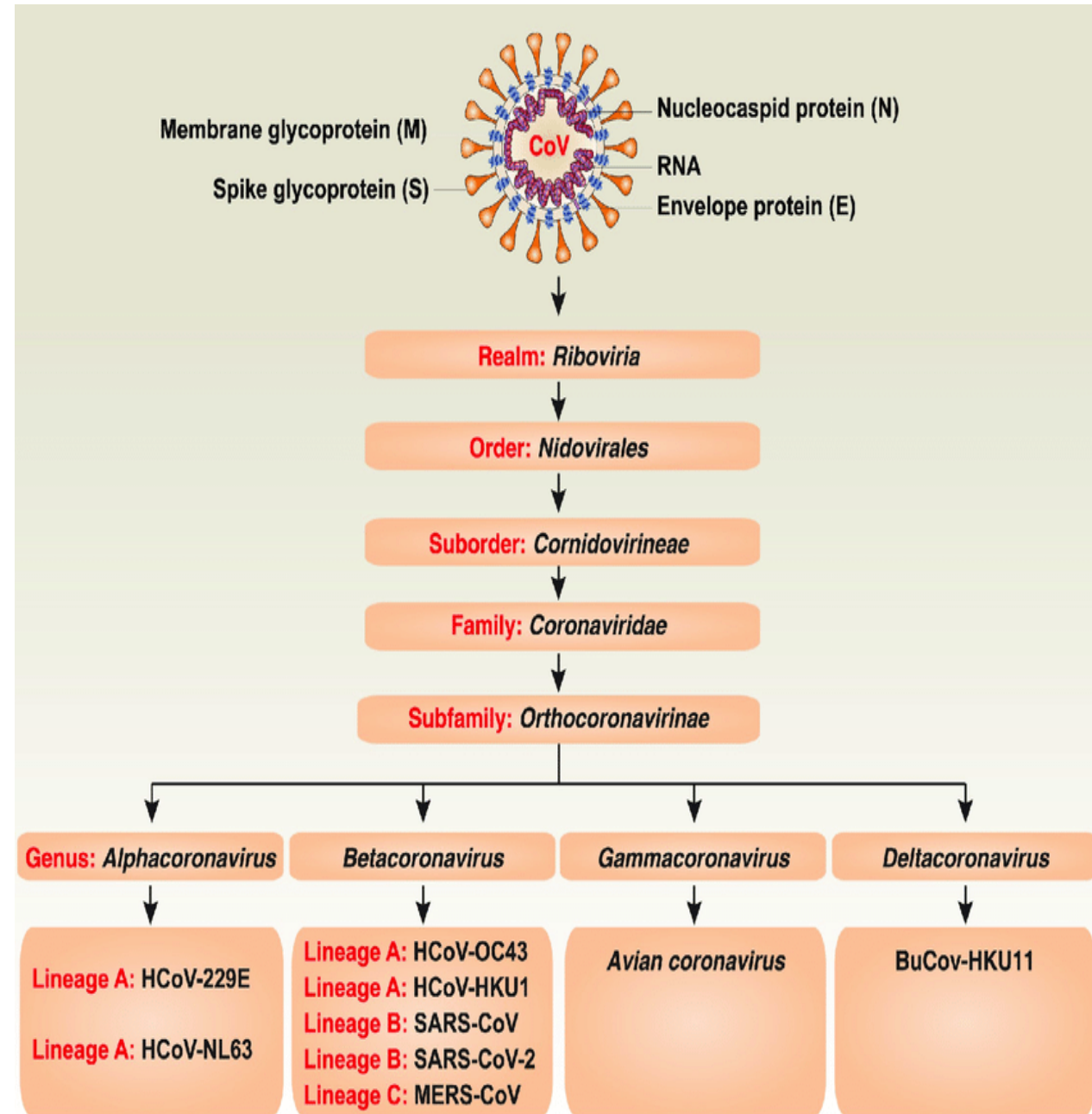
SUNUM İÇERİĞİ

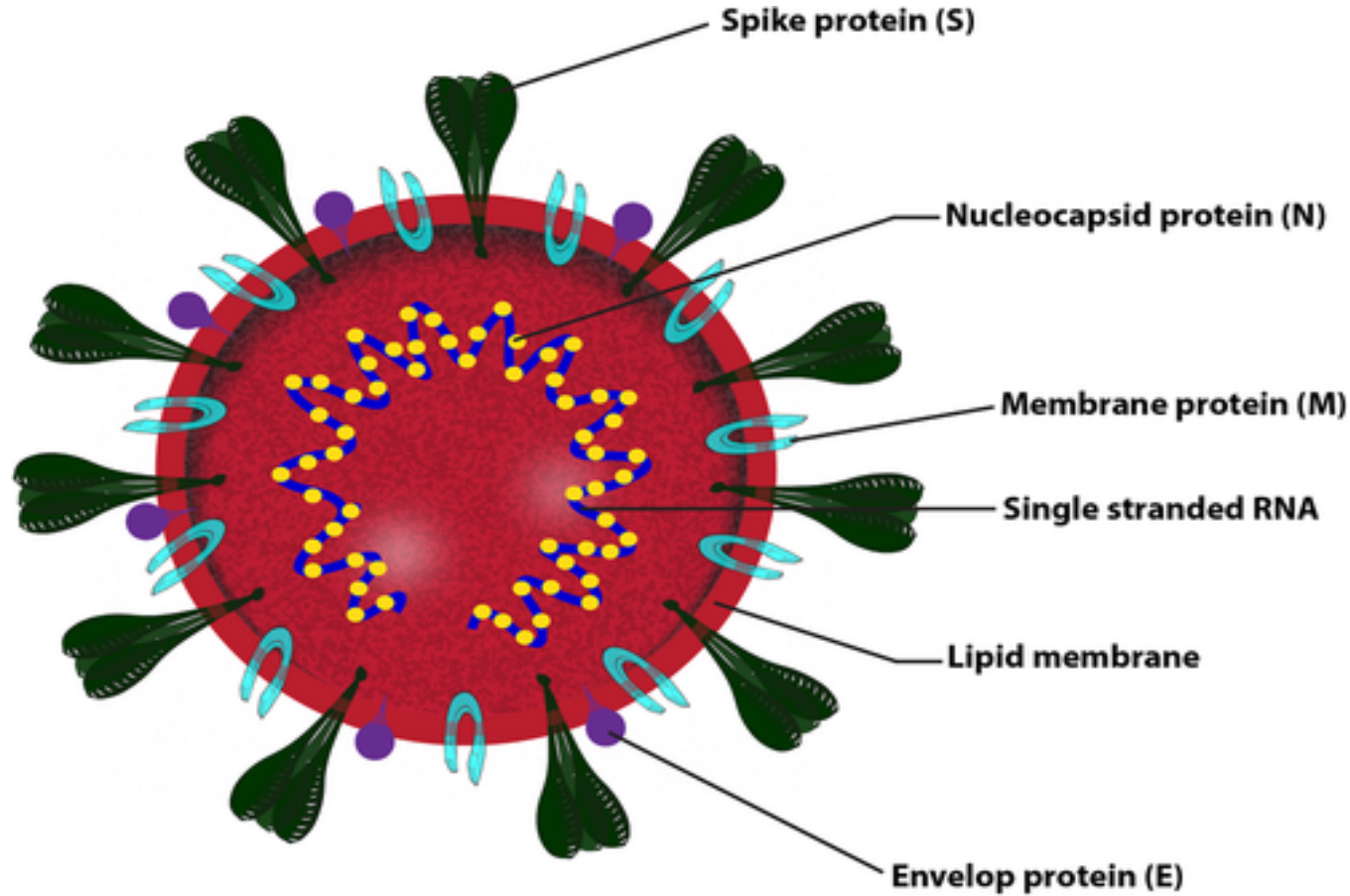
- *Coronavirüslerin Biyolojisi*
- *Covid-19 Kronolojisi*
- *Hastalığın Etiyolojisi*
- *Demografik veriler*
- *İnkübasyon- İnfekte Etme Süreleri*
- *Semptomlar*
- *Covid-19 Patogenezi*
- *COVID-19 Akciğer Makroskopik ve Mikroskopik Bulgular*
- *Literatür Örnek Çalışmalar*
- *Covid-19 Tedavi Yöntemleri*
- *Sunum Özeti*
- *Öneriler*
- *Kaynaklar*



Coronaviruses

- Tek zincirli, pozitif polariteli, zarflı RNA virüsleri
- *Coronaviridae* famil.
- Başlıca 4 tiptir: Alfa, Beta, Gama ve Delta
- Zoonotik Coronavirüs, insana geçtiği zaman farklı özellikte hastalık yapma potansiyeli
- **Konakçılar:** İnsan, yarasa, domuz, kedi, köpek, kemirgen ve kanatlılarda (evcil ve yabani hayvanlarda).

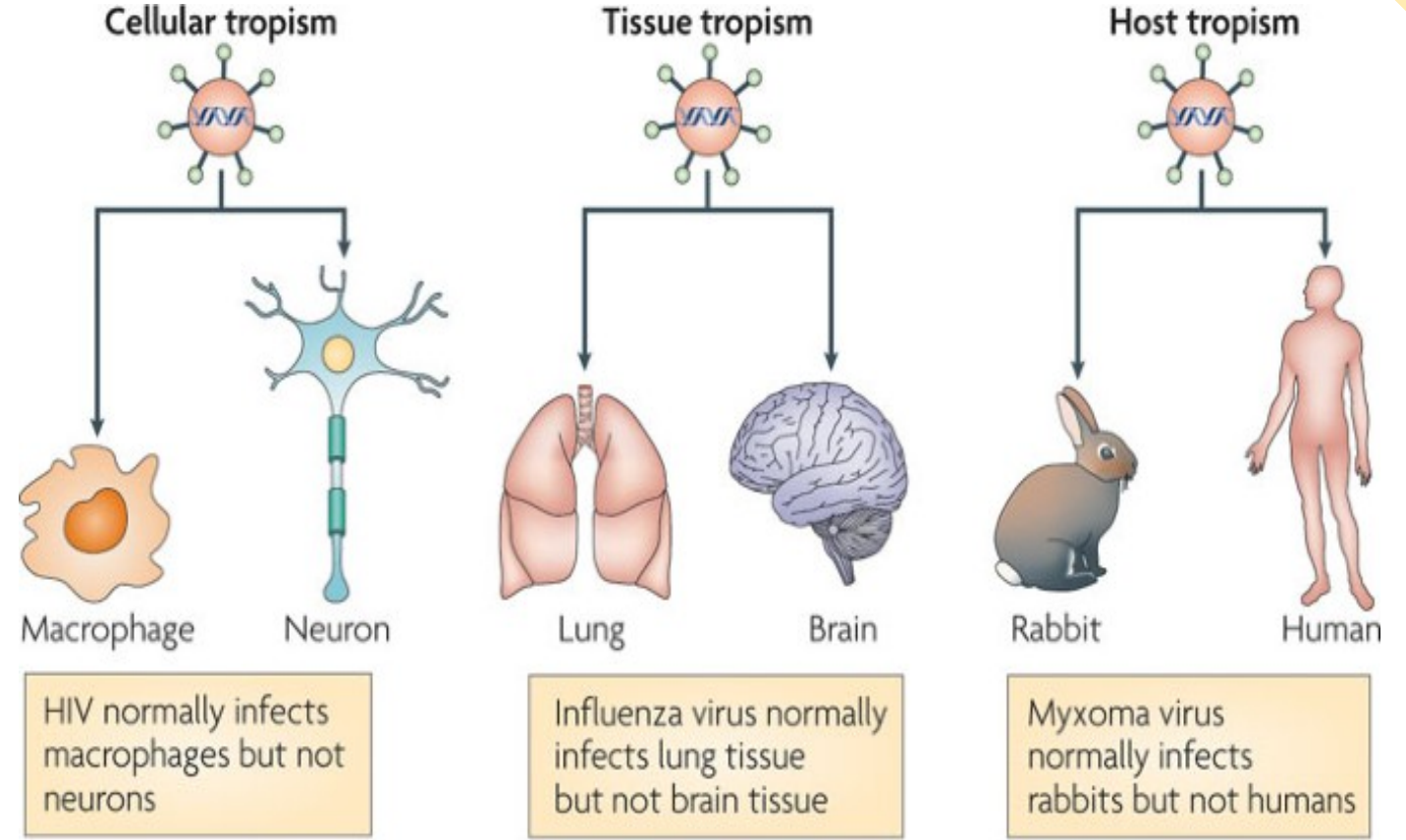




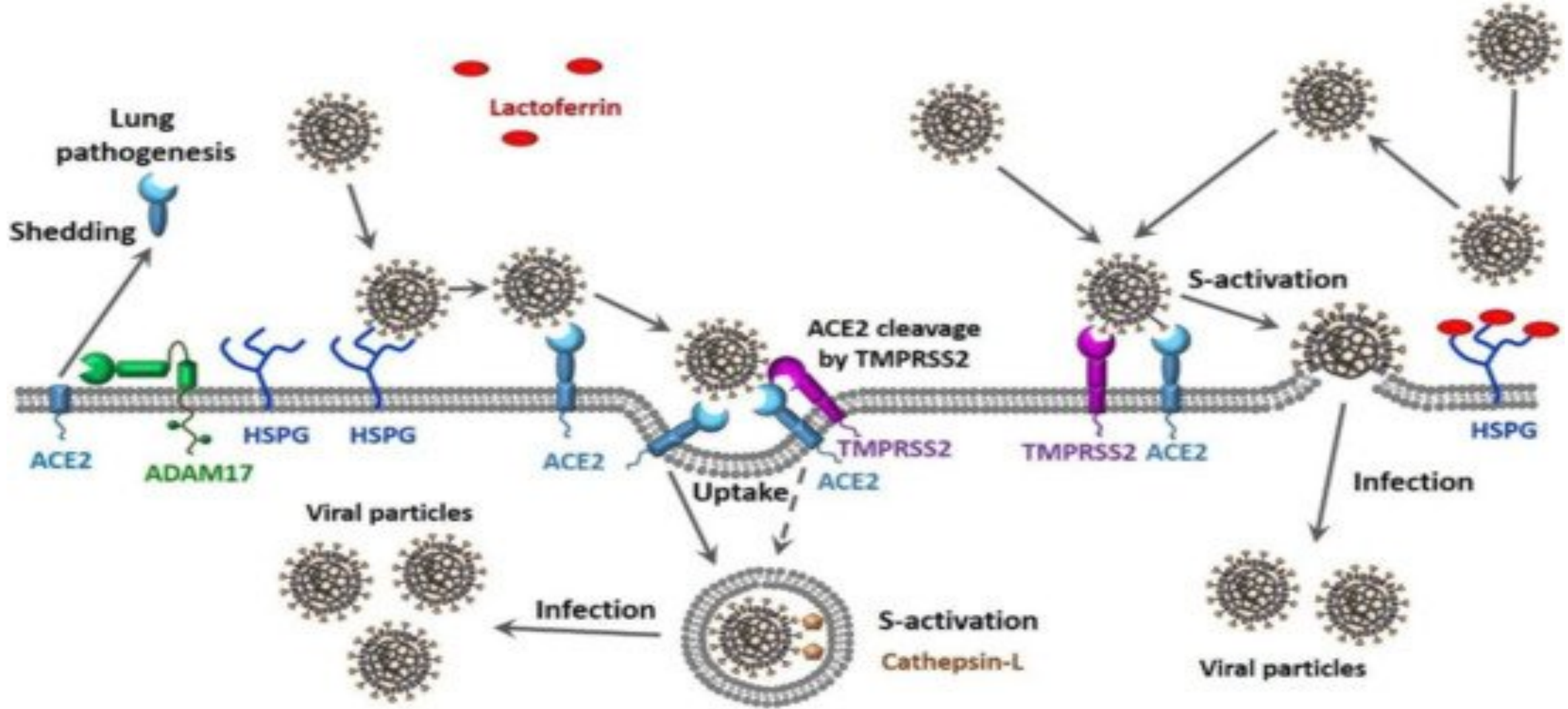
- SARS-CoV-2 virionunun ort. apı 50-150 nm
- SARS-CoV-2, baş protein (S=Spike), bir zarf proteini (E), zar proteini (M) ve nükleokapsid proteini (N) ana yapısal proteinleri kodlayan 4 ana yapısal gen taşır.
- N proteini, ssRNA'dan oluşan genomu
- S, E ve M proteinleri virus zarfı
- S proteini, virüsün konakçı h. membranına bağlanmasını ve bununla karışmasında (Anahtar immünojenik antijen)
- Virülans, doku tropizmi, konakçı aralığı ve koruyucu bağışıklığın tespitinde belirleyici

Doku Tropizmi (Afinitesi) Nedir?

- Doku tropizmi, konağı belirli virüs ve bakteri tür. büyümesi için konuksever yapan ev sahibi organizmanın hücreleri ve dokusunu ifade eder. Doku, çoğu mikroorganizma öncelikle tek bir doku tropizmine sahiptir.
- Spesifik hücreler ve doku için viral afinite büyük ölçüde konukçu hücrenin yüzeyinde bulunan reseptörlere sahip viral yüzey yapılarına dayanır.
- Doku spesifitesini etkileyen diğer faktör. lokal sıcaklık ve pH seviyeleri, fiziksel engeller ve konukçu savunmaları yer alır.
- Doğru ortam göz önüne alındığında, patojenik mikroorganizmalar ciddi enfeksiyon veya hastalık sebebidir.

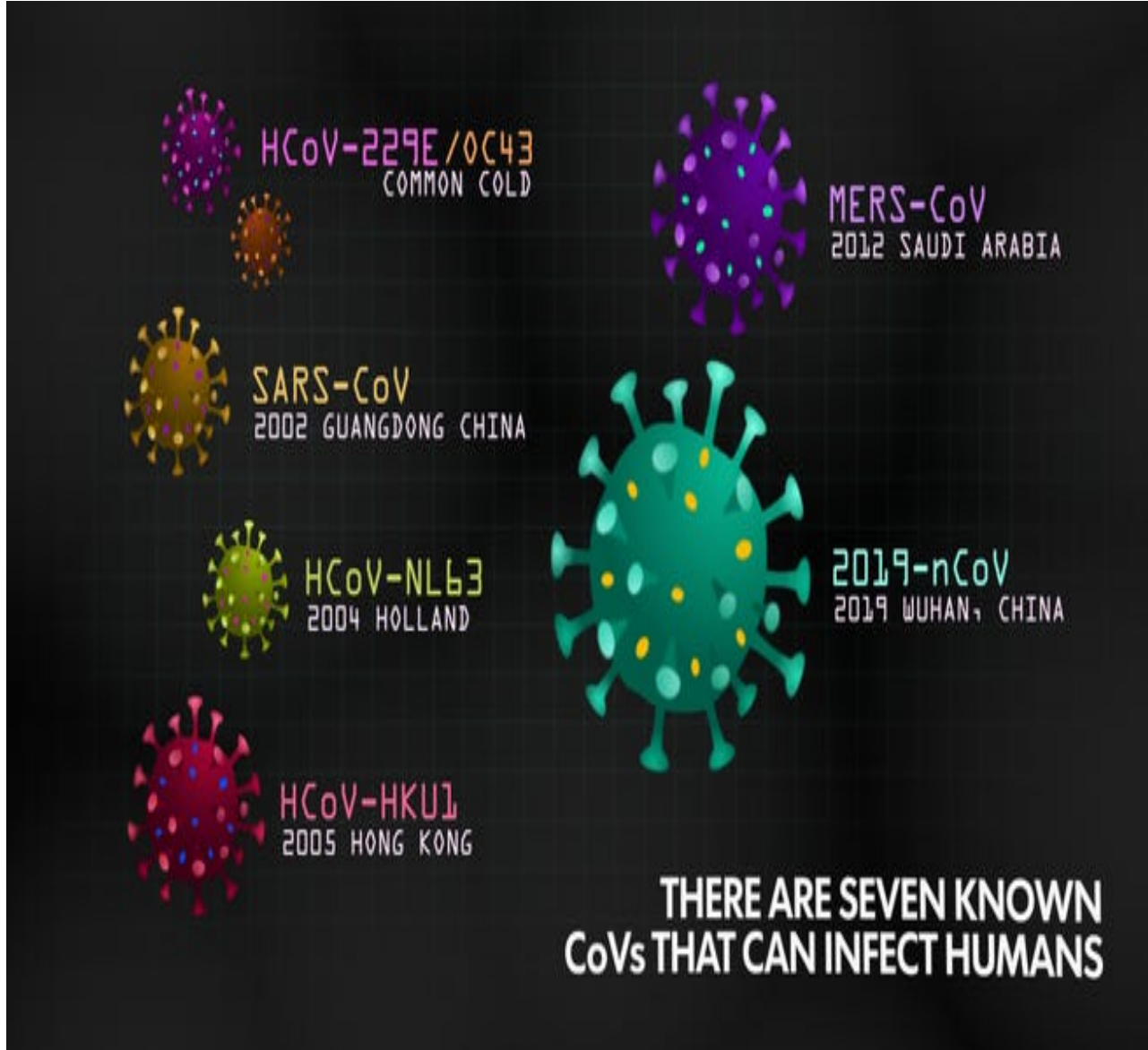


Nature Reviews | Immunology



Şekil 1. Şiddetli akut solunum sendromu koronavirüs 2 (SARS-CoV-2) hücresel giriş yolları ve viral yük ve bulaşma kapasitesi üzerindeki potansiyel etkileri.

Coronavirüsler



- Soğuk algınlığına sebep olanlar:
- Her yıl genellikle mevsimsel grip döneminde
 - HCoV-229E
 - HCoV-OC43
 - HCoV-NL63
 - HKU1-CoV
- **Ağır Akut Solunum Sendromuna neden olan: SARS-CoV**
- **Orta Doğu Solunum Sendromuna neden olan: MERS-CoV**

Covid-19 Kronolojisi

31 Aralık 2019 DSÖ:

- Çin Ülke Ofisi, Çin'in Hubei eyaletinin Wuhan şehrinde
- Etiyolojisi bilinmeyen pnömoni vakalarını bildirimini
- **Wuhan Güney Çin Deniz Ürünleri Şehir Pazarında (farklı hayvan türleri satan bir toptan balık ve canlı hayvan pazarı) çalışanlarda kümelenme**

13 Ocak 2020:

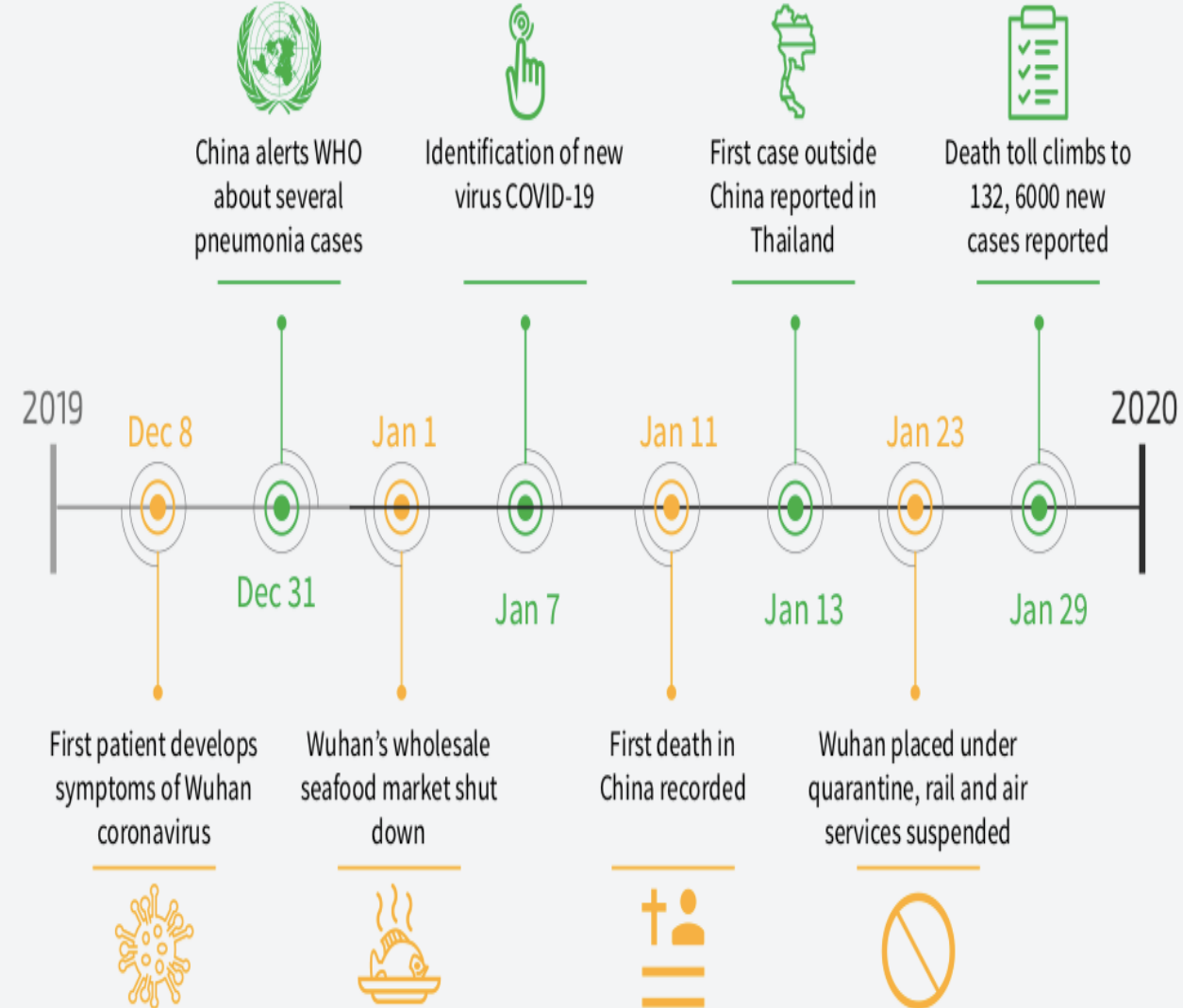
- İlk importe vaka- Tayland (etkenin kaynak dışı yerde tespiti)

7 Ocak 2020 Etkenin Tanımlanması:

- Daha önce insanlarda tespit edilmemiş
- Yeni bir coronavirus olarak tanımlanmış



Coronavirus Timeline: The Beginning



11.03.2020

- Türkiye’de ilk COVID-19 vakası.

13.03.2020

- Dünyada en fazla vaka ve ölümler Avrupa, pandeminin merkez üssü haline geldi.

Tarih	Özellik	Virüs dolaşımı Tipi DSÖ	Test yapılan merkez sayısı
11.03.2020	Türkiye <u>koronavirüse</u> ne kadar hazır söyleşisi?	Olgu yok	3 (Ankara, Erzurum, İstanbul)
11.03.2020	İlk vaka, Avrupa kaynaklı	İmporte	
12.03.2020	Yeni olgu yok	İmporte	3
13.03.2020	2,3,4. e 5. olgu, ilk olgunun çevresinden (temaslı?)	İmporte	
14.03.2020	Yeni vaka umreden dönen bir vatandaş	İmporte	
15.03.2020	İlk olguyla temaslı 2, Avrupa’dan gelen 7 ABD’den gelen 3 olgu	İmporte	
16.03.2020	Yeni vakaların 3’ü umreden gelen, diğerleri doğrudan ya da dolaylı ABD, Ortadoğu ya da Avrupa temaslı olmak üzere,	İmporte	6
17.03.2020	Ölen vaka 89 yaşında, çalışanının Çin temaslı olduğu bildirildi.	İmporte	
18.03.2020	Ölen vaka;61 yaşındaki bir erkek hasta	Yerel dolaşım	
19.03.2020	85 yaşında bir kadın <u>ex</u> ve daha önce ölen bir hasta COVID tanısı aldı	Yerel dolaşım	12
20.03.2020	Ölenlerin tamamı ileri yaş grubunda	Yerel dolaşım	
21.03.2020	Ölenlerin tamamı ileri yaş grubunda	Yerel dolaşım	
22.03.2020	Ölenlerin tamamı ileri yaş grubunda	Yerel dolaşım	
23.03.2020	Sağlık Bakanı ülkede virüsün yaygın dolaşımda olduğunu duyurdu.	Yerel dolaşım	
24.03.2020		Yerel dolaşım	
25.03.2020	Salgının ardından beş laboratuvar da yapılan Kovid-19 tanı testleri artık 23 ildeki 37 laboratuvar da yapılıyor.		23 il, 37 merkez

Hastalık esas olarak **damlacık yoluyla bulaş;**

- COVID-19 hasta bireylerden
 - ✓ Öksürme
 - ✓ Hapşırma yoluyla ortaya saçılan damlacıklarla
 - ✓ Hastaların kontamine ettiği yüzeylerden (eller ile göz, ağız, burun mukozasına temasla) bulaş

Asemptomatik kişilerin solunum yolu salgılarında
virus tespit edilebilmekte, ancak esas bulaşma hasta bireylerden olmaktadır.

????????

- Hastalığın başlangıç kaynağı henüz netlik kazanmamıştır.
- Ancak eldeki veriler,

Huanan Deniz Ürünleri Toptan Satış Pazarında yasadışı olarak satılan vahşi hayvanları işaret etmektedir.

- Beta-coronaviridae

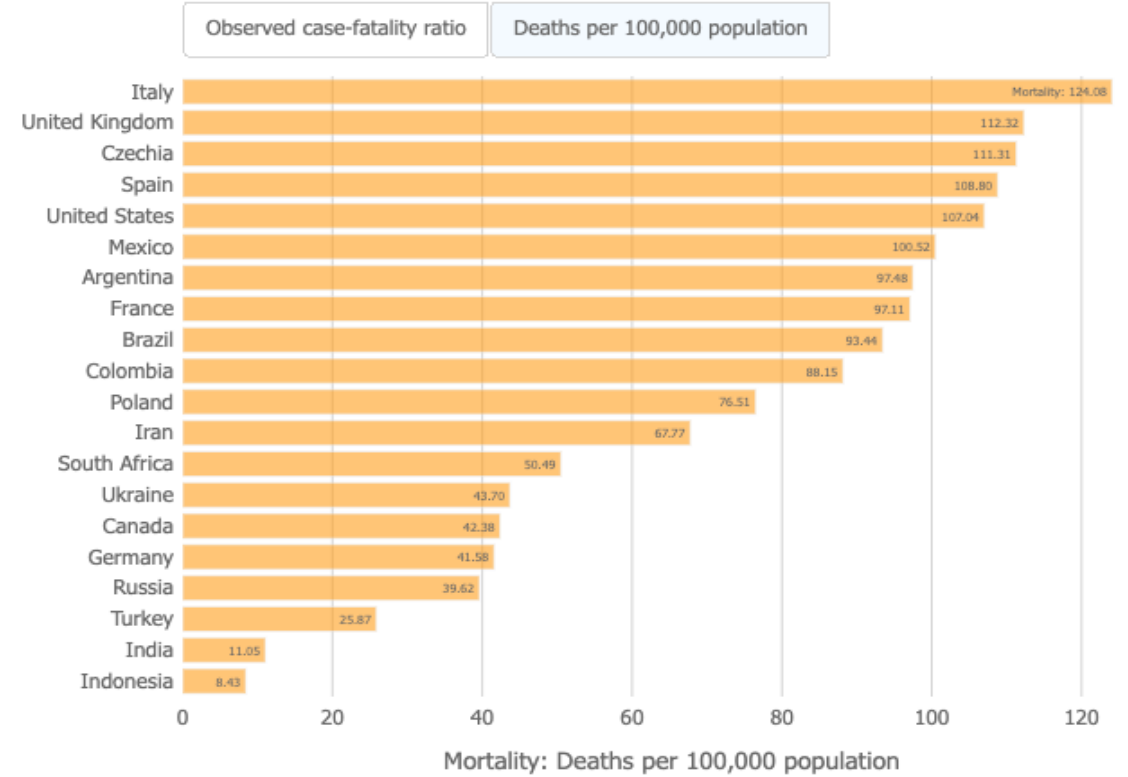
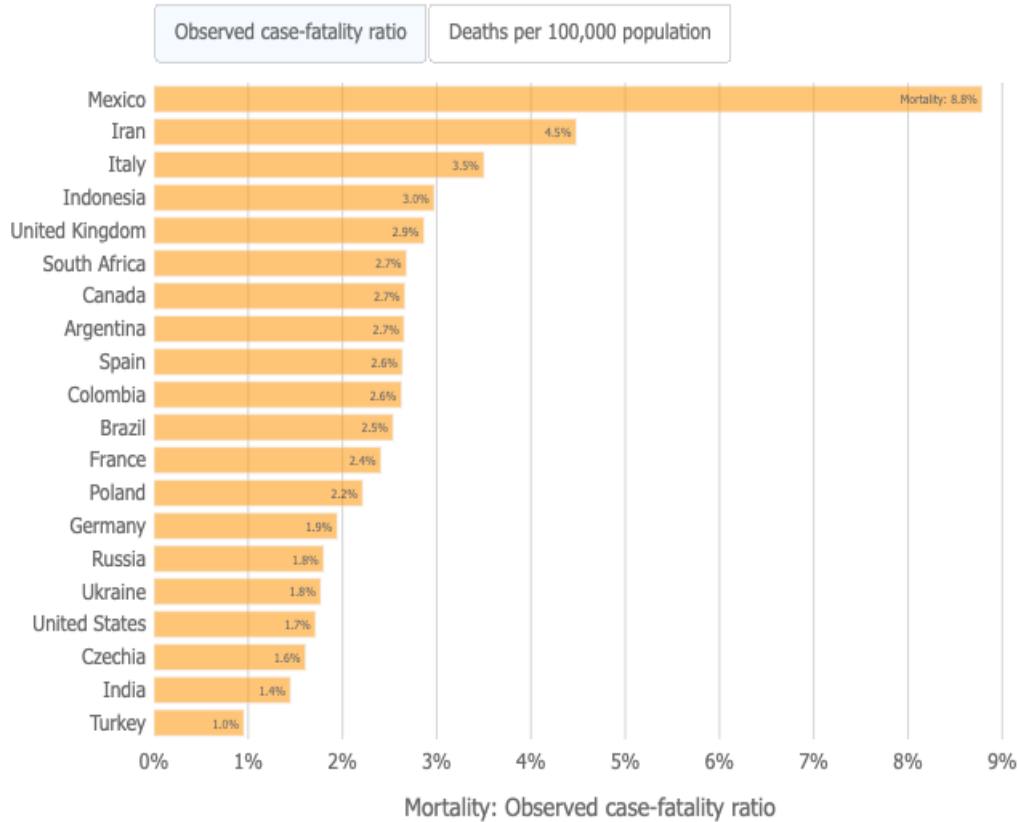
SARS-CoV ve MERS-CoV (ciddi solunum yetmezliği oluşturma)

Fatalite hızı

SARS salgınında %11

MERS-CoV'da %35-50

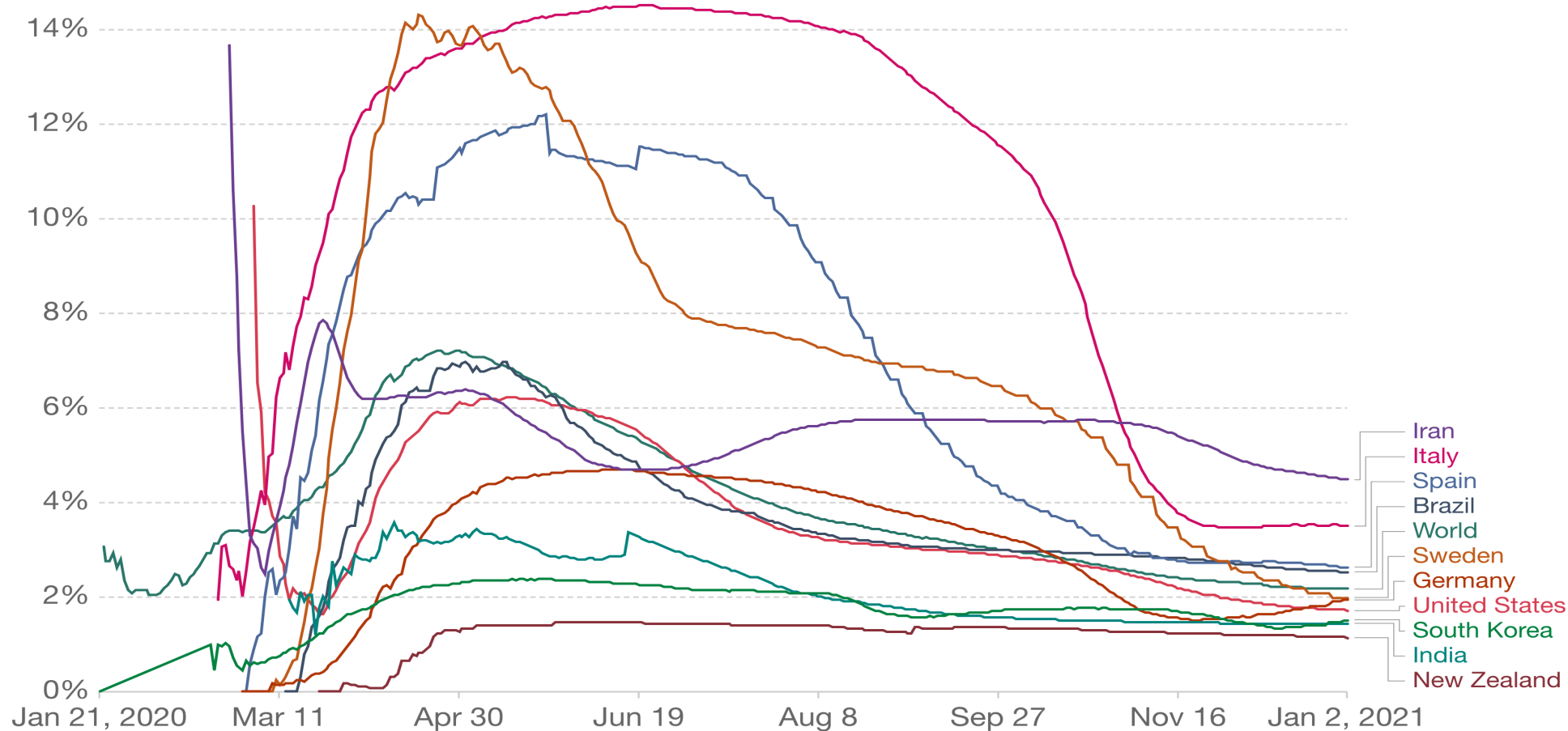
2019-nCoV %3,8 (*eldeki verilere göre*)



<https://coronavirus.jhu.edu/data/mortality>

Case fatality rate of the ongoing COVID-19 pandemic

The Case Fatality Rate (CFR) is the ratio between confirmed deaths and confirmed cases. During an outbreak of a pandemic the CFR is a poor measure of the mortality risk of the disease. We explain this in detail at [OurWorldInData.org/Coronavirus](https://ourworldindata.org/coronavirus)

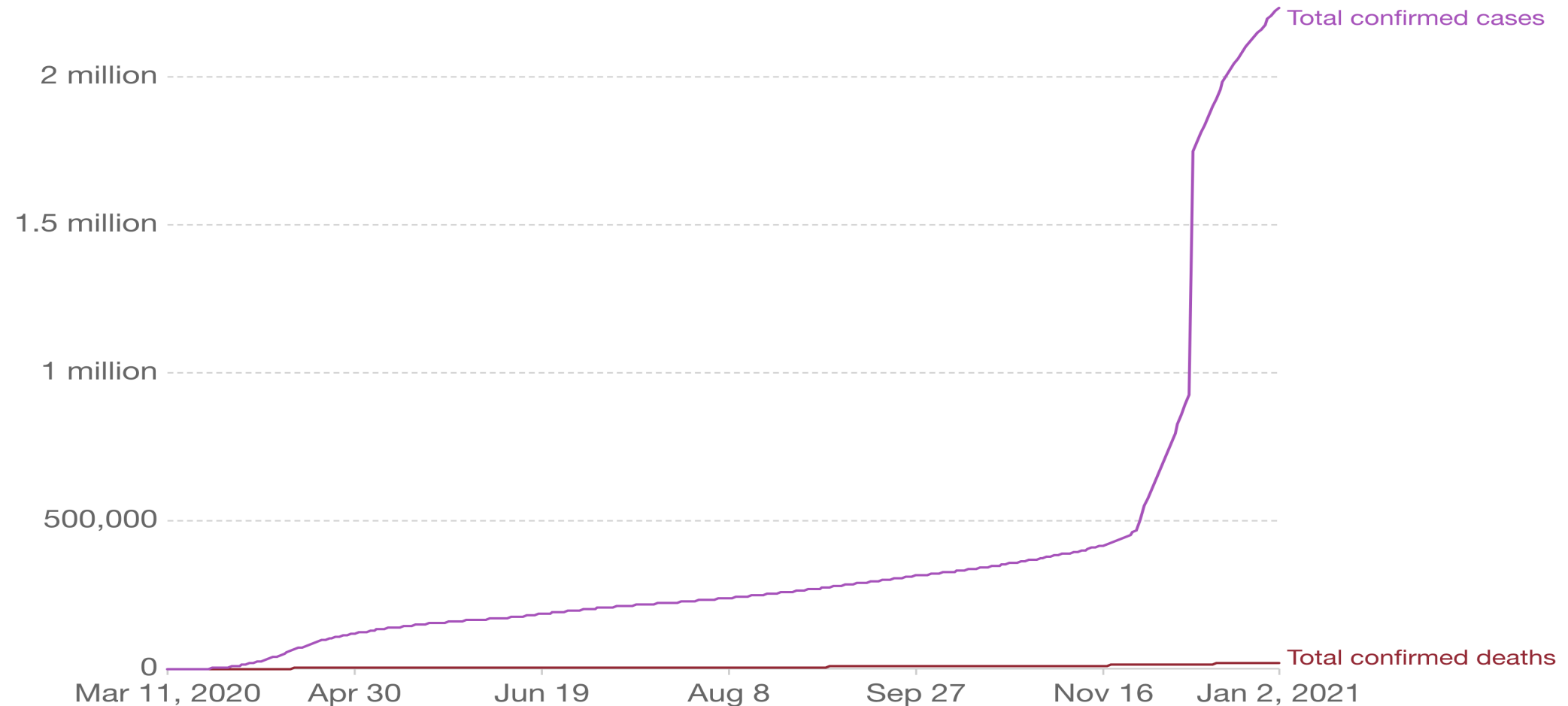


Source: Johns Hopkins University CSSE COVID-19 Data – Last updated 3 January, 08:00 (London time)

CC BY

Total confirmed COVID-19 deaths and cases, Turkey

The confirmed counts shown here are lower than the total counts. The main reason for this is limited testing and challenges in the attribution of the cause of death.



Source: Johns Hopkins University CSSE COVID-19 Data – Last updated 3 January, 08:00 (London time)
OurWorldInData.org/coronavirus • CC BY

Max Roser, Hannah Ritchie, Esteban Ortiz-Ospina and Joe Hasell (2020) - "Coronavirus Pandemic (COVID-19)". Published online at [OurWorldInData.org](https://ourworldindata.org). Retrieved from: '<https://ourworldindata.org/coronavirus>' [Online Resource]

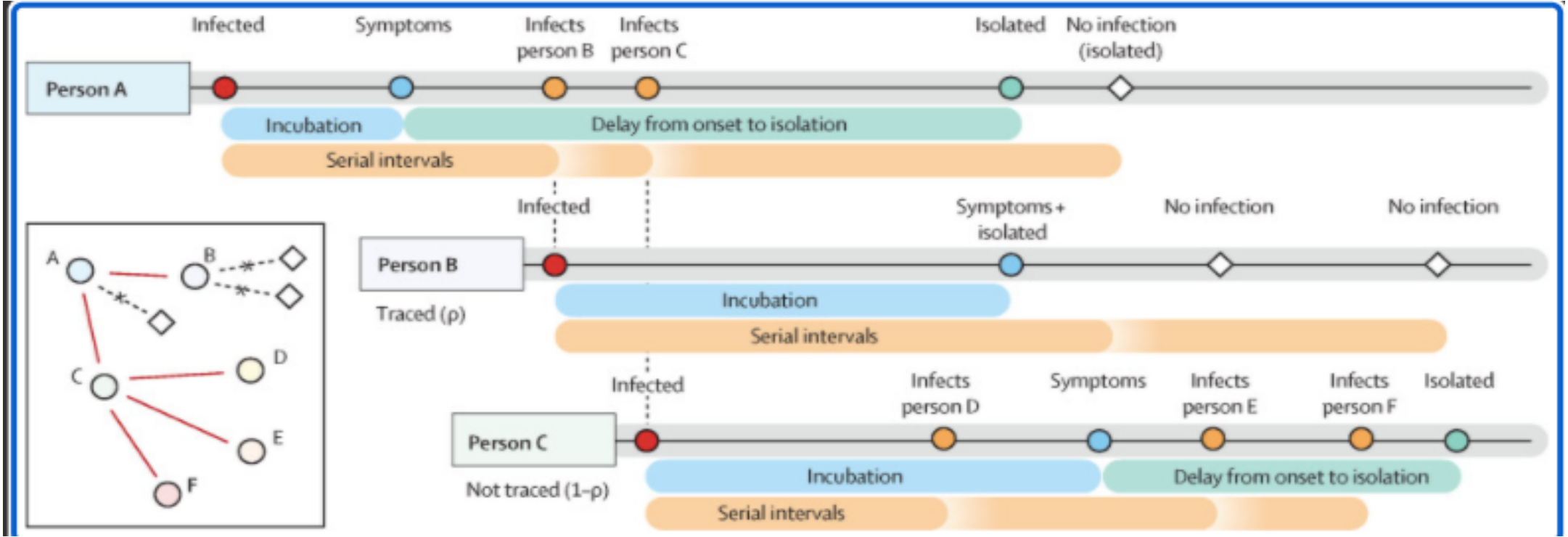
İnkübasyon Süresi

- Ortalama 5-6 gün (2-14 günler arası)

Bulaştırıcılık Süresi

- Kesin olarak bilinmemekte
- Semptomatik dönemden 1-2 gün önce başlayıp semptomların kaybolmasıyla sona erdiği düşünülmektedir.



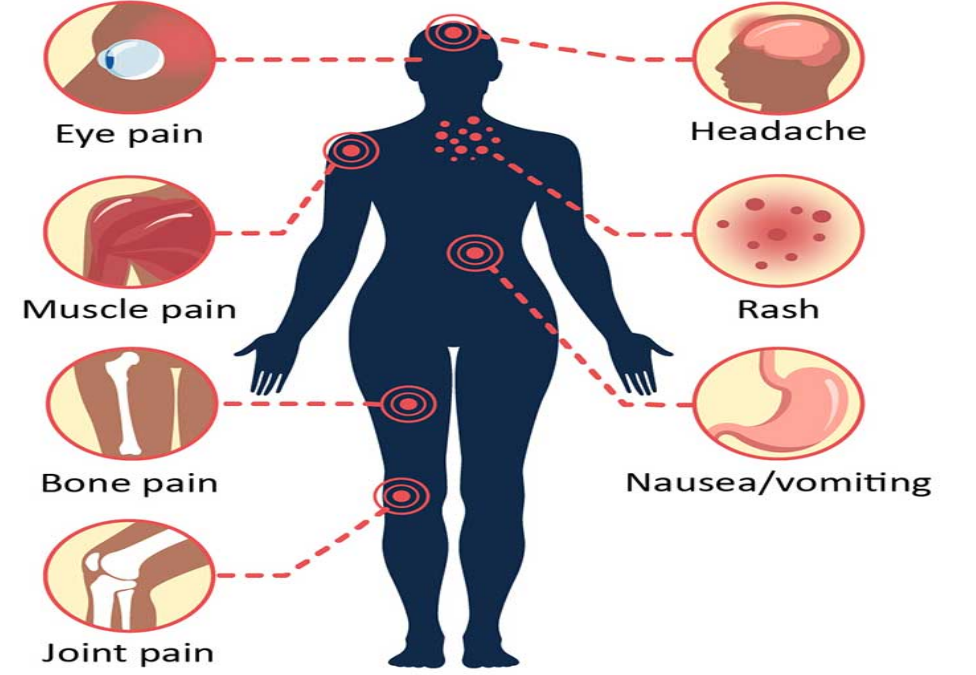


Şekil 2. A'nın enfekte olmasıyla başlayan simülasyon. Bir kuluçka döneminden sonra, A kişisi semptomlar gösterir ve geç (tablo) bir zamanda izole edilir. Bulaşların her biri için bir seri aralık çizilir. Bu maruziyetlerden ikisi, A kişisi izole edilmeden önce meydana gelir. Her temas, temas izleme ile gözden kaçırılma olasılığı $1 - p$ ve olasılıkla p ile izlenir. B bulaşı izlenmiştir, bu da semptom geliştirdiklerinde gecikmeden izole edilecekleri anlamına gelir. Bununla birlikte, izole edilmeden önce başkalarına da bulaştırabilirler. C kişisi, temas takibiyle gözden kaçmıştır. Bu, yalnızca semptomatik olduğunda tespit edildikleri ve semptom başlangıcından bir gecikmeden sonra izole edildikleri anlamına gelir. C kişisi izlenmediği için, semptom başlangıcında izole edilmiş olmalarına kıyasla, D kişisine ek olarak iki kişiyi daha enfekte etmiştir (E ve F).

SEMPTOMLAR

Solunum semptomları;

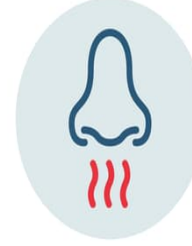
- ateş,
- öksürük
- dispne (nefes darlığı)
- tat ve koku kaybı



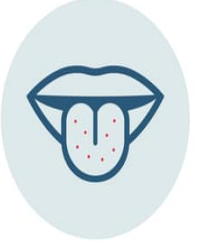
HIGH
TEMPERATURE



NEW
PERSISTENT
COUGH



LOSS OF
SMELL



LOSS OF
TASTE

Daha ciddi vakalarda;

- pnömoni,
- ağır solunum yetmezliği
- böbrek yetmezliği
- Kalp krizi
- ve hatta ölüm

Asemptomatik kişiler solunum yolunda virus taşımakla birlikte majör bulaş yolu değildir.

Peki ya “Histopatolojik Bulgular”?

Covid-19 salgını ortaya çıktığından beri;

- Virüsün morfolojisi
- Klinik tablonun ortaya konması
- Tedavi yöntemleri üzerinde durulmuştur.

Ancak virüsün organlarda yol açtığı histopatolojik değişikliklere dair çalışmalar oldukça kısıtlı sayıda!!

Özellikle Covid-19’un AKCİĞER üzerindeki histolojik etkileri ile literatürde fazla sayıda çalışma !!

COVID-19'UN AKCİĞER ÜZERİNDEKİ ETKİLERİ ÜZERİNDE DURALIM !!

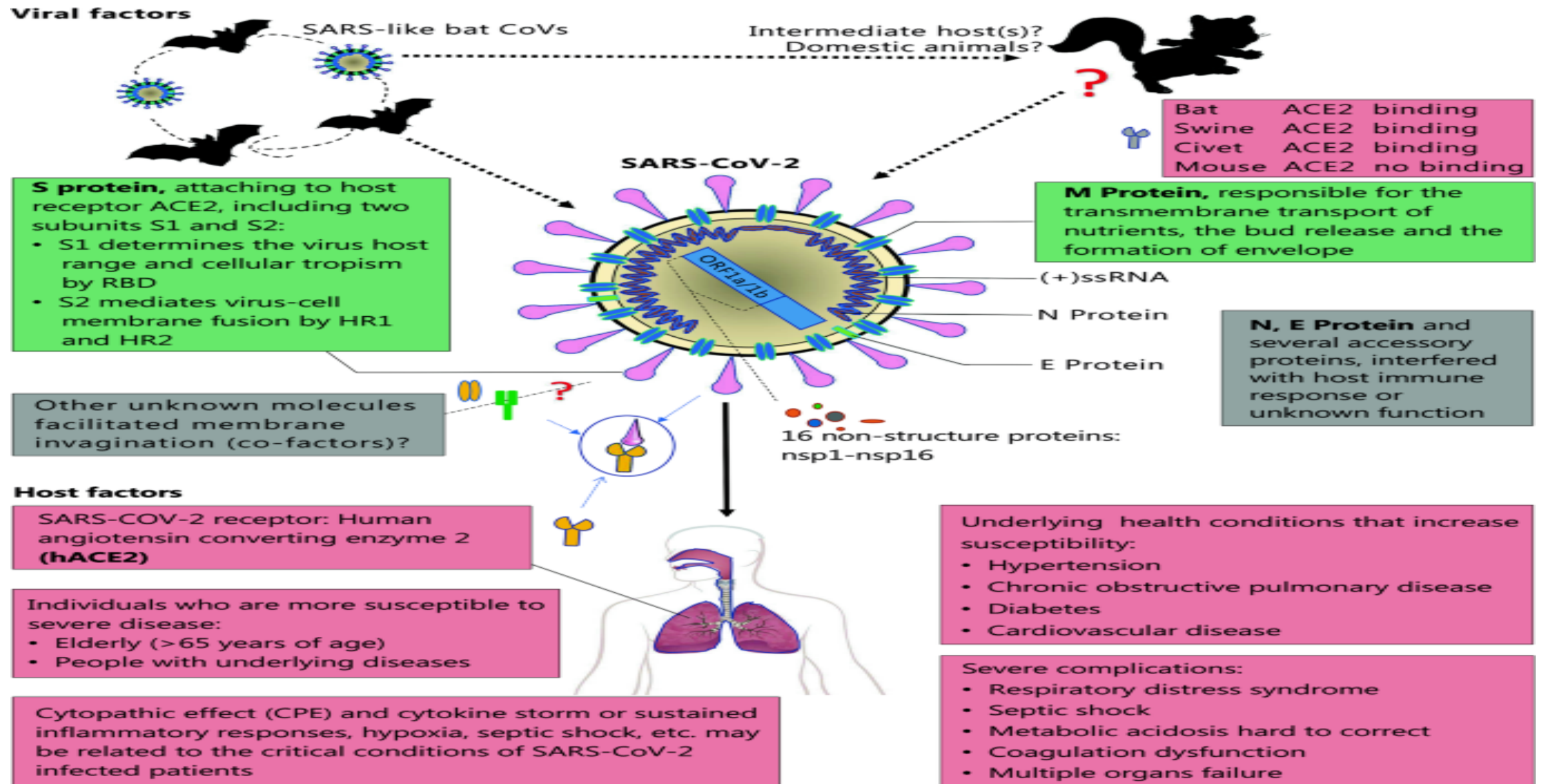
Patogeneze

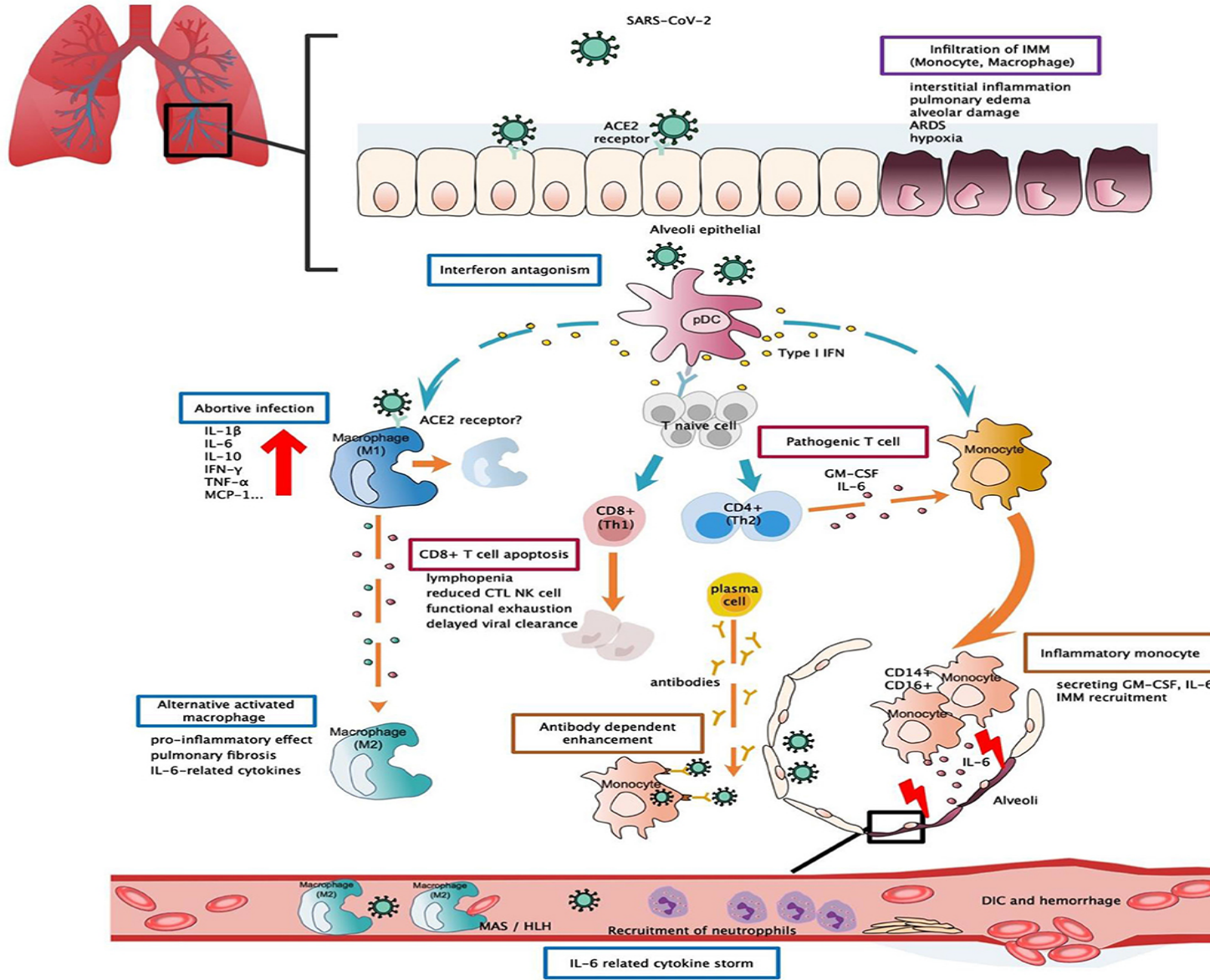
Nedeni: COVID-19 immünopatogenezeinden virüs partikülleri (özellikle spike (S) ve nükleokapsid (N) proteini) ve oluşan aşırı bağışıklık yanıtı

- ✓ SARS-COV-2 hedef hücre yüzeyindeki anjiotensin dönüştürücü enzim 2 (ACE 2) reseptörüne bağlanarak S protein aracılığıyla hedef hücreye girer.
- ✓ Virüs hedef hücreye girdikten sonra antijenik peptitler MHC aracılığıyla sunularak spesifik B ve T hücre aracılı hücresel ve humoral immün yanıtı uyarır.

- *N proteinine karşı spesifik Ig M üretimi 9. günde pik,*
- *Ig G en erken 4. günde tespit*

(Shereen ve ark.,2020; Rokni ve ark., 2020)





Şekil 3. SARS-CoV-2 immünopatogenezi.

- Alveol epitelinde konakçıya giriş. S-protein RBD ile ACE2'ye bağlanır ve konak savunmasını ele geçirir.
- PBMC (Peripheral blood mononuclear cells (lymphocytes (T, B, NK cells), monocytes, dendritic cells) ve hematopoietik h.'de abortif enfeksiyon-viral üretimden ziyade proinflatuarların ekspresyonunun indüklenmesi.
- **Viral giriş; viral-konakçı arasında köprü-ADCC etkisi. viral giriş ve spesifik antikorların varlığı. SARS-CoV-2, konakçı anti-viral tepkiye karşı ve viral girişi optimize etmek için belirli proteinleri kodlamak üzere evrimleşmiş olabilir.**
- Sitokin ve kemokinin aktivasyonu sistemik sitokin fırtınasına yol açarak sepsis, DIC, hemoraji ve şok ile ortaya çıkar.

RBD, reseptör bağlanma alanı; ADCC, antikora bağımlı hücre aracılı sitotoksiste; ACE2, Anjiyotensin dönüştürücü enzim 2; pDC, Plazmasitoid dendritik hücre; IMM, Enflamatuar monosit / makrofaj; MAS, makrofaj aktivasyon sendromu; HLH, Hemofagositik lenfositosis; DIC, yaygın damar içi pıhtılaşma.

Zhang, Y. Y., Li, B. R., & Ning, B. T. (2020). The comparative immunological characteristics of SARS-CoV, MERS-CoV, and SARS-CoV-2 coronavirus infections. *Frontiers in Immunology*, 11, 2033.

Lenfopeni, yaygın bir bulgudur !

Olgularda CD4+/CD8+ T hüc., B hüc., NK hücre., monosit, eozinofil ve bazofil yüzdelerinde düşüş saptanır.

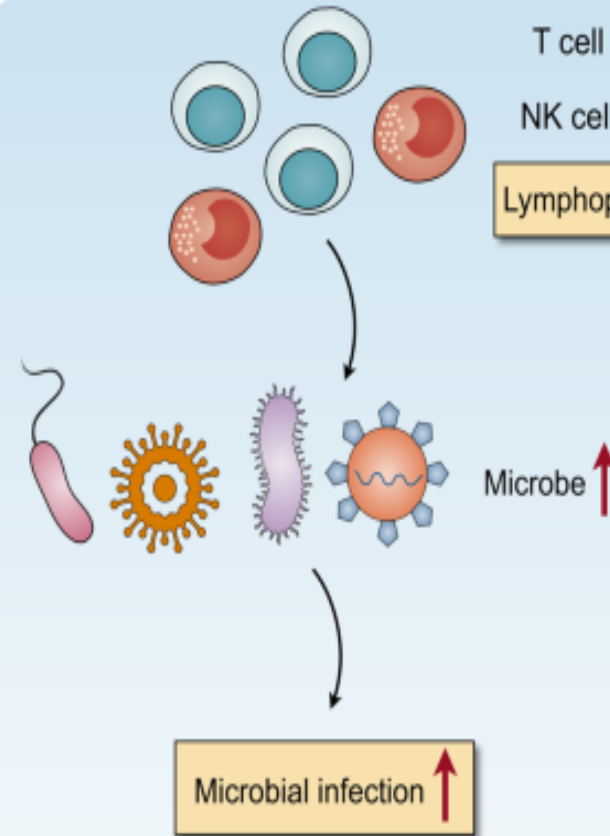
Lenfopeni gelişme mekanizmaları:

1. Virüsün lenfositler üzerindeki ACE2 reseptörleri ile doğrudan bağlanması
2. Sitokin salınımı ile lenfositlerde apoptozis hızlanması
3. Virüsün dalak ve timusa doğrudan invazyonu
4. Asidozun lenfosit proliferasyonunu baskılaması.

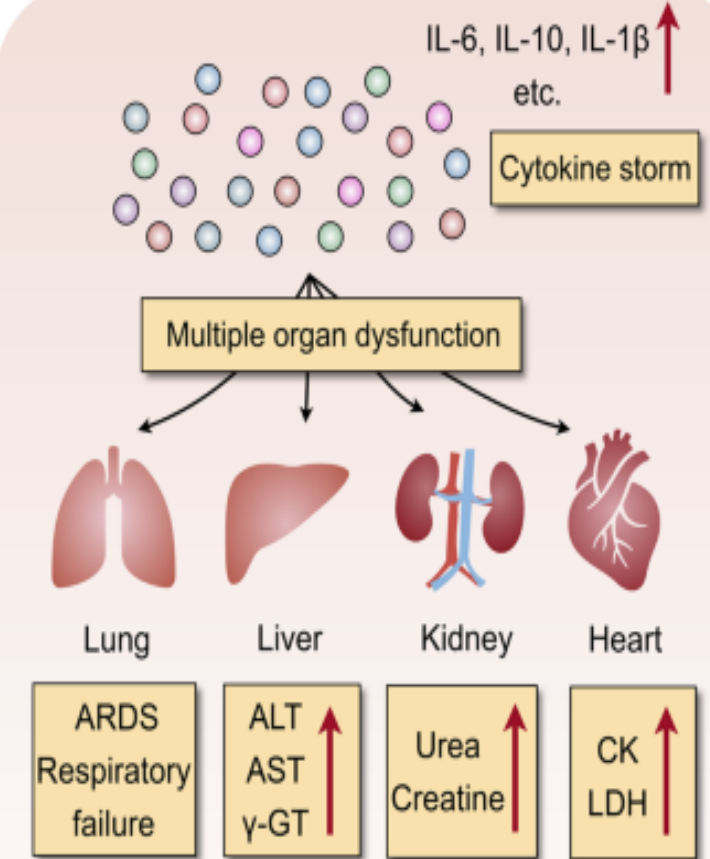
Sonuç
Morbidite (akut respiratuar distres sendromu, çoklu organ yetmezliği) ve mortaliteden sorumlu kontrolsüz sistemik inflamatuvar bir yanıt olan sitokin fırtınası

Clinical implications of SARS-CoV-2-induced immunopathology

The effect of lymphopenia on microbiota infection



The effect of elevated cytokine production on severe syndromes



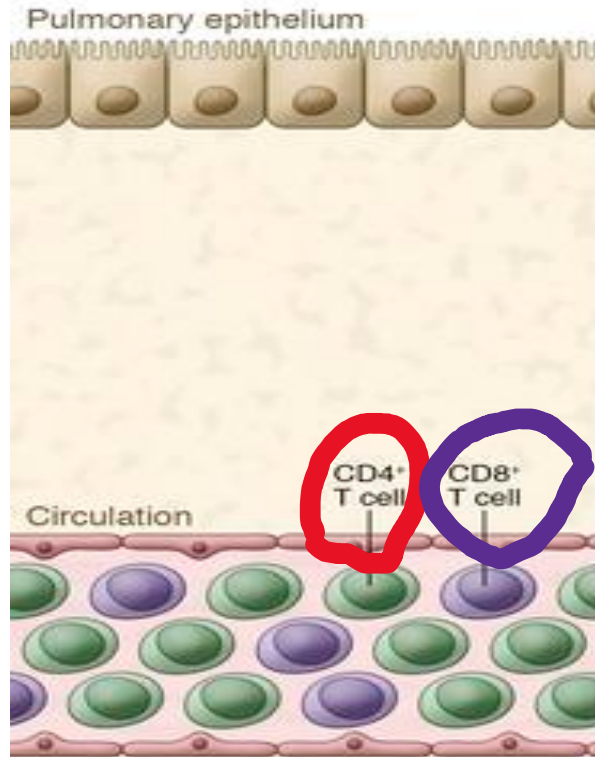
Yapılan çalışmalarda hastalığın **erken döneminde;**

- IL-1 , IL-1RA,
- IL-7, IL8, IL-10, IFN- γ ,
- monosit kemoatraktan peptid-1 (MCP-1),
- makrofaj enflamatuar protein-1A ve 1B (MIP-1A ve 1B),
- granülosit koloni stimüle edici faktör (G-CSF) ve
- tümör nekroz faktör-alfa (TNF- α) arttığı görülmüştür.

- ✓ Yoğun bakım hastalarında IL-2, IL-7, IL-17, IL-10, MCP-1, MIP-1A ve TNF-- α değerleri daha yüksek saptanmıştır.
- ✓ **Sitokin fırtınasındaki anahtar role sahip sitokin IL-6'dır.**
- ✓ IL-6 hafif ve ciddi seyirli olgularda artar ancak ciddi seyirli olgularda plazma seviyeleri daha yüksek!

Infekte olmayan

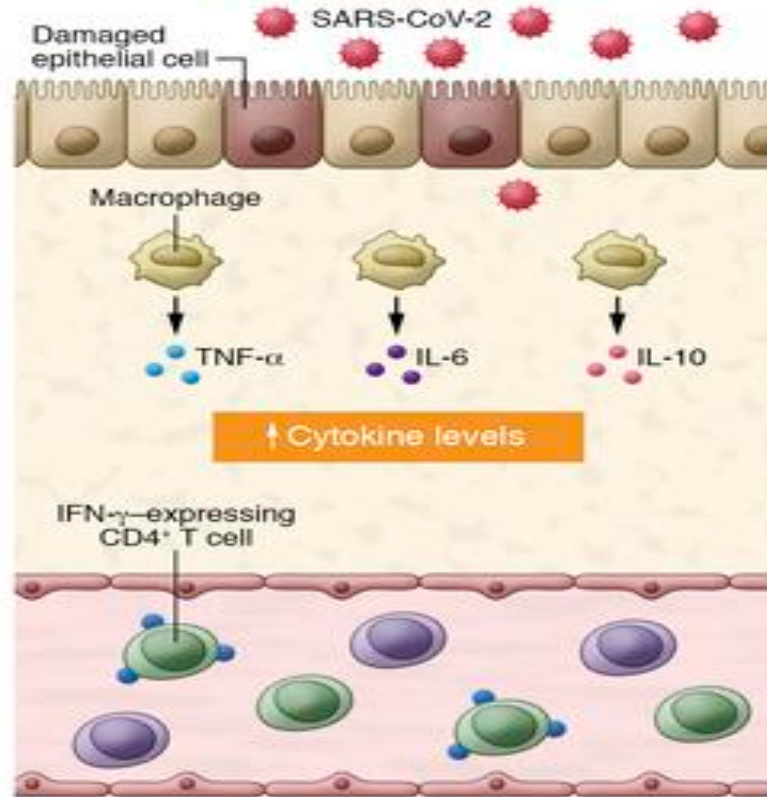
Uninfected individual



No symptoms

Orta hafif Infekte

Moderate COVID-19



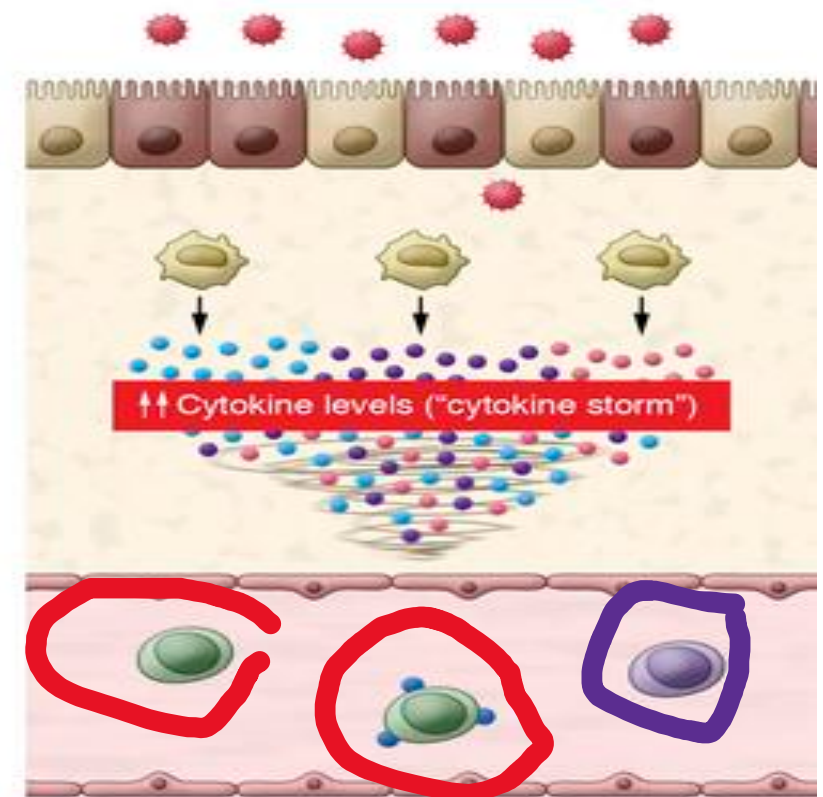
Fever, cough, fatigue, myalgia

↑ IL-6

↓ Lymphocytes, CD4+ T cells, CD8+ T cells

Şiddetli Infekte

Severe COVID-19



Fever, cough, fatigue, myalgia, dyspnea, ARDS, respiratory failure

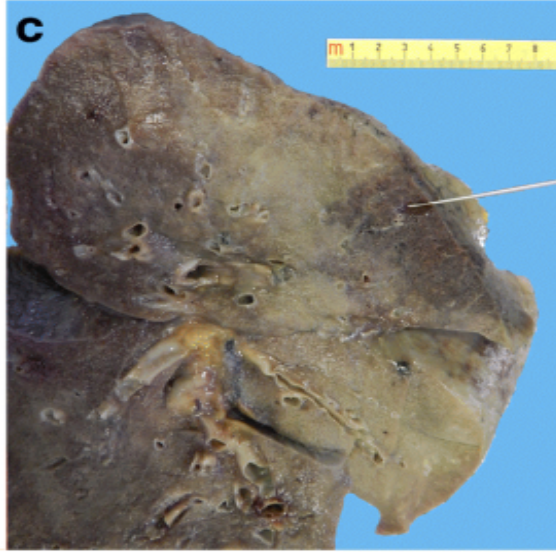
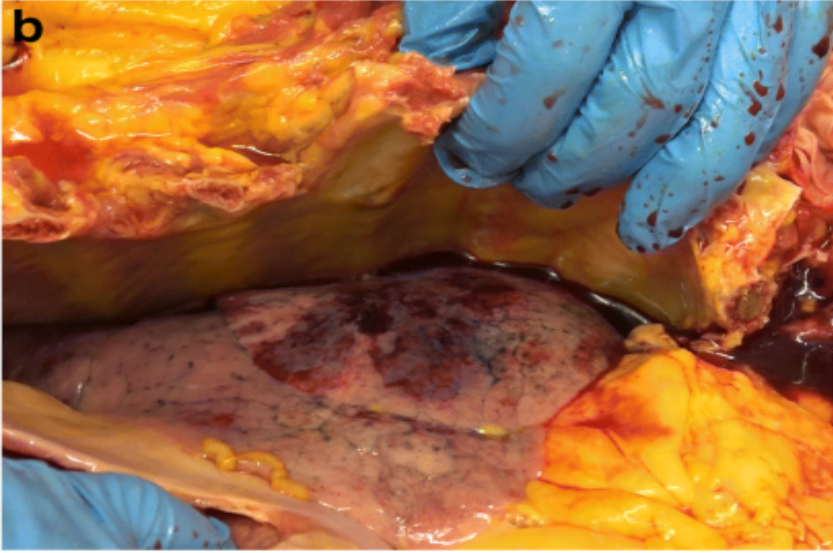
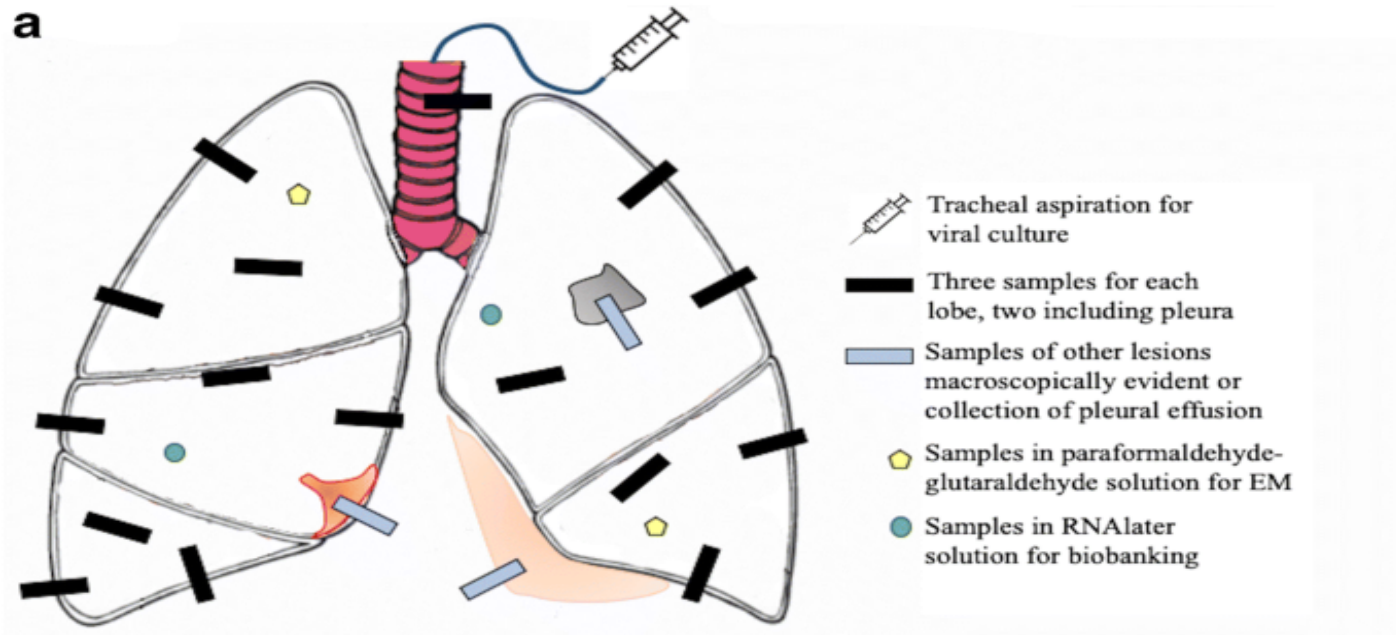
↑↑ IL-6

↑ LDH, D-dimer, procalcitonin, CRP, ferritin, soluble IL-2R, IL-10, TNF-α

↓↓ Lymphocytes, CD4+ T cells, CD8+ T cells
↓ IFN-γ-expressing CD4+ T cells, NK cells
↑ WBC

Makroskopik bulgular

- Makroskopik bulgular ağırlıklı akciğerlerde
- Diğer organlarda spesifik makroskopik değer bir bulgu henüz saptanmadı.
- ❖ Akciğer ağırlıklarında artış,
- ❖ ödem,
- ❖ konjesyon
- ❖ konsolidasyon gözlenebilen makroskopik bulgular

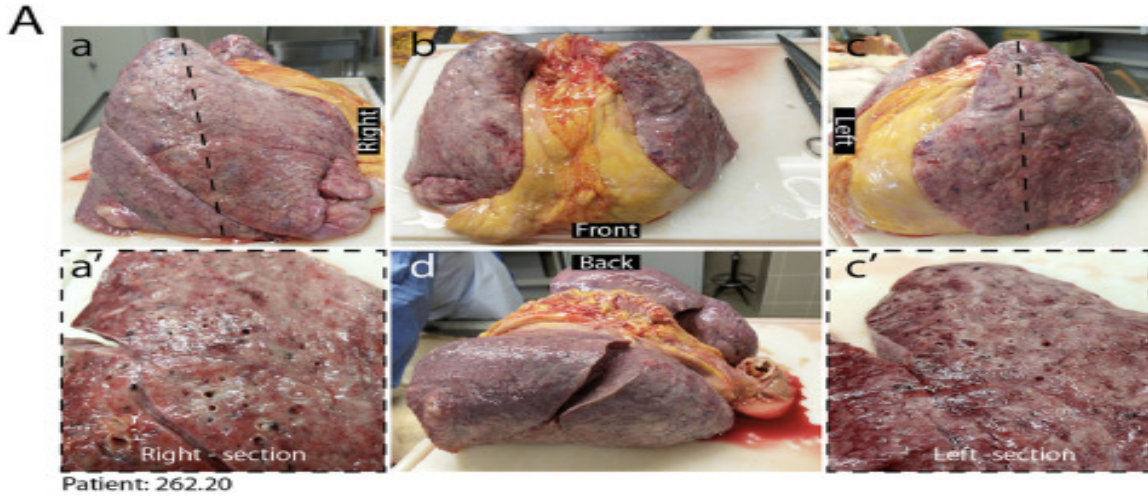


Şekil 4.

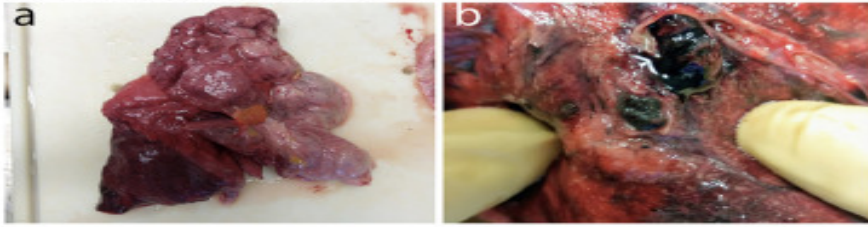
- A) COVID-19 hasta (69 yaş-kadın) sağ akciğer otopsis
- B) Kanlı plevral efüzyonla birlikte akciğerde mermer bir görünüm belirgin
- C) Formalin fiksasyonundan sonra aynı akciğerin yüzeyini kesiti

Makroskopik bulgular

- Parankim, düzensiz konsolidasyon ve tıkanıklık alanlar



B Pulmonary artery thrombosis with lung infarction



Pulmonary artery thrombosis



Şekil 5.

A. Belirtildiği gibi sol, ön, arka ve sağ görüntüleri ve AC rezeksiyonunun brüt görünümü (a – d).

- Akciğerler tıkalı ve sert görünümde.
- Hem sağ hem de sol AC çok sayıda hemorajik alan ve hava boşluklarının (a', c') kaybı olan ten rengi katı parankimi ortaya çıkardı.
- B. Sağ pulmoner arterin alt dalındaki büyük bir trombüs,
- sağ akciğerde büyük bir enfarktüs
- Akciğerlerin çoğunda, alveolar boşlukların kaybı ve geniş kanamalarla birlikte çoklu trombüs görüldü (c – e).

Mikroskopik bulgular

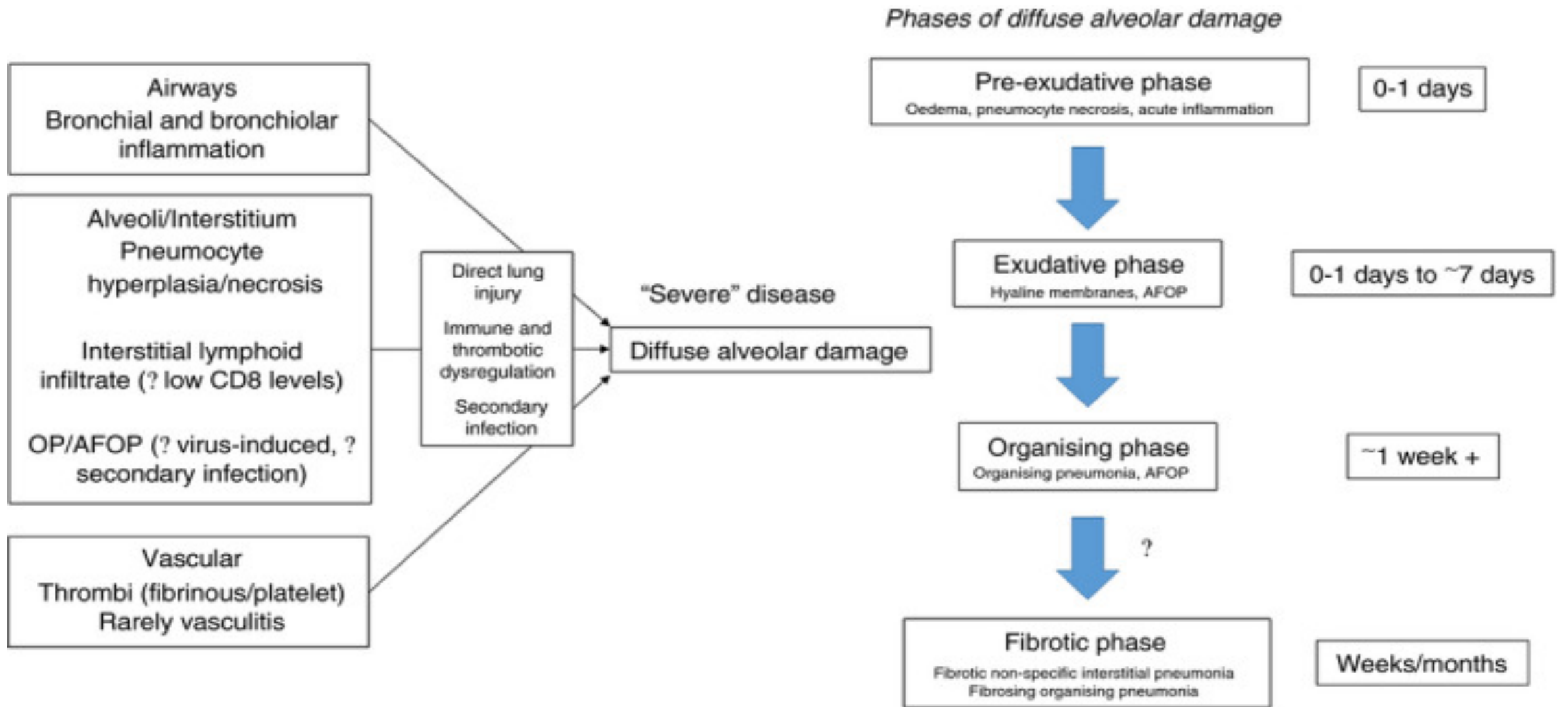
- ✓ COVID-19 enfeksiyonuna bağlı akciğerlerde gözlenen histopatolojik değişiklikler diğer organlara kıyasla daha iyi tanımlanmıştır.
- ✓ Enfeksiyonun erken ve geç dönemine bağlı olarak bulguları farklılık göstermekte

Genel bulgular

- Eksüdatif inflamasyonla karakterli viral pnömöni,
- alveolar septalarda kapiller dilatasyona bağlı genişleme ve konjesyon,
- alveolar boşluklarda çok sayıda monosit, lenfosit ve eozinofillerden oluşan iltihabi infiltrasyon,
- eritrositler, multinükleer dev hücreler ve seröz ve/veya fibrinöz eksüda,
- tip 2 pnömositlerde hiperplazi ve bazılarında atipi erken dönem

İlerleyen aşamalarındaki bulgular;

- Bilateral diffüz alveolar hasar,
- akut respiratuar distres sendromu bulguları olan pnömositlerde deskuamasyon ve hyalen membran formasyonu,
- intersitisyel mononükleer iltihabı infiltrasyon
- fibroblastlarda proliferasyon
- alveoler boşluklarda atipik pnömositler ile multinükleer sinsityal hücreler, damarlarda hyalen trombüs
- fibrozisin eşlik ettiği intersitisyel kalınlaşma bildirilmektedir.



Şekil 6. COVID-19 virüsüyle ilişkili akciğer histopatolojik özellikleri

Bir çalışma örneği;

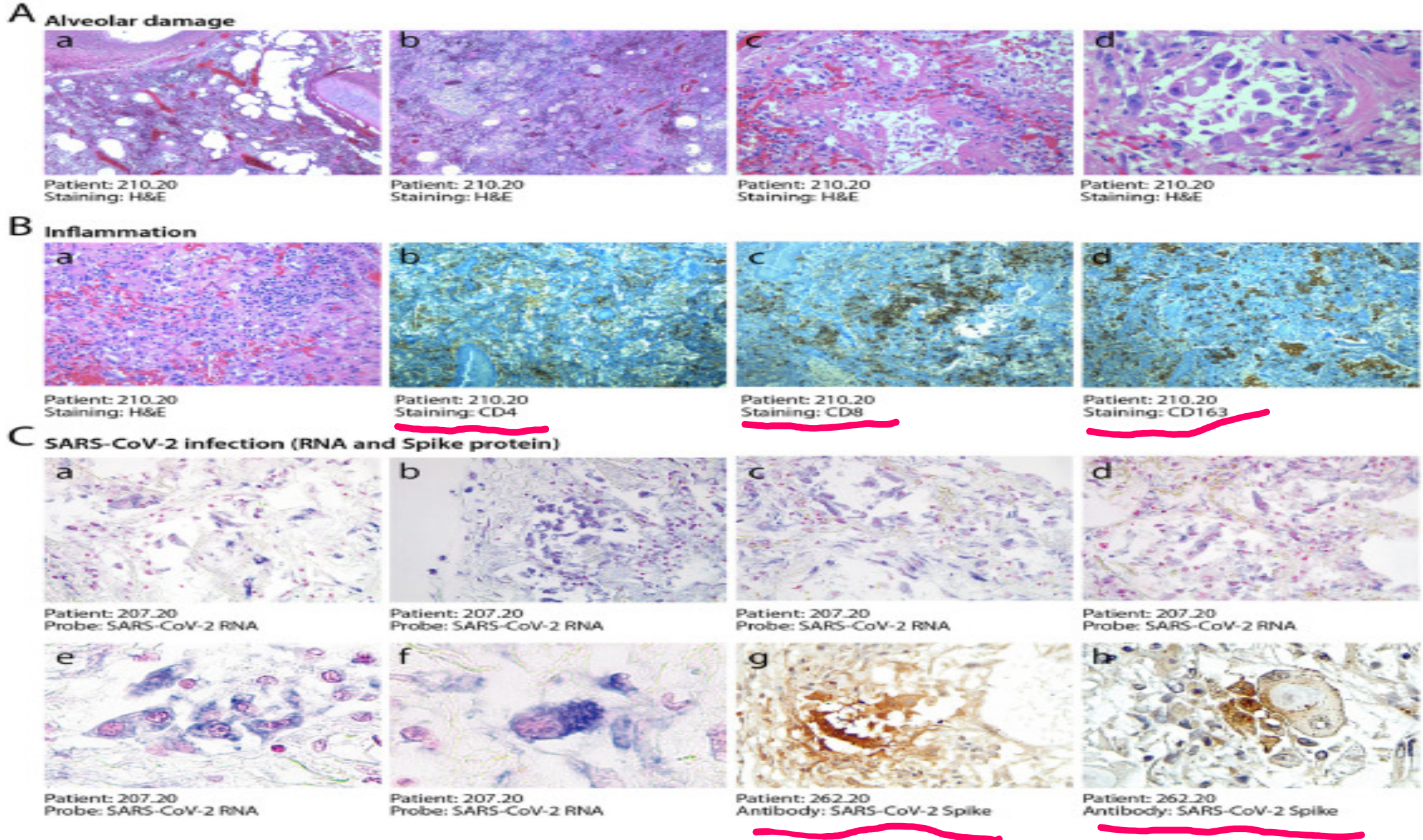
Bulgular

Yaygın alveolar hasar (hastaların 41/41'i)

akciğer mikro ve makro damar sisteminin trombozu (29/41,% 71)

Pnömositler ve endotelyal hücreler, hastalığın sonraki aşamalarında bile viral RNA içeriyordu.

Çok sayıda dismorfik pnömositin ortak varlığıydı ve sıklıkla sinsityal elemanlar oluşturur (36/41,% 87).



Bussani, R., Schneider, E., Zentilin, L., Collesi, C., Ali, H., Braga, L., ... & Giacca, M. (2020). Persistence of viral RNA, pneumocyte syncytia and thrombosis are hallmarks of advanced COVID-19 pathology. *EBioMedicine*, 61, 103104.

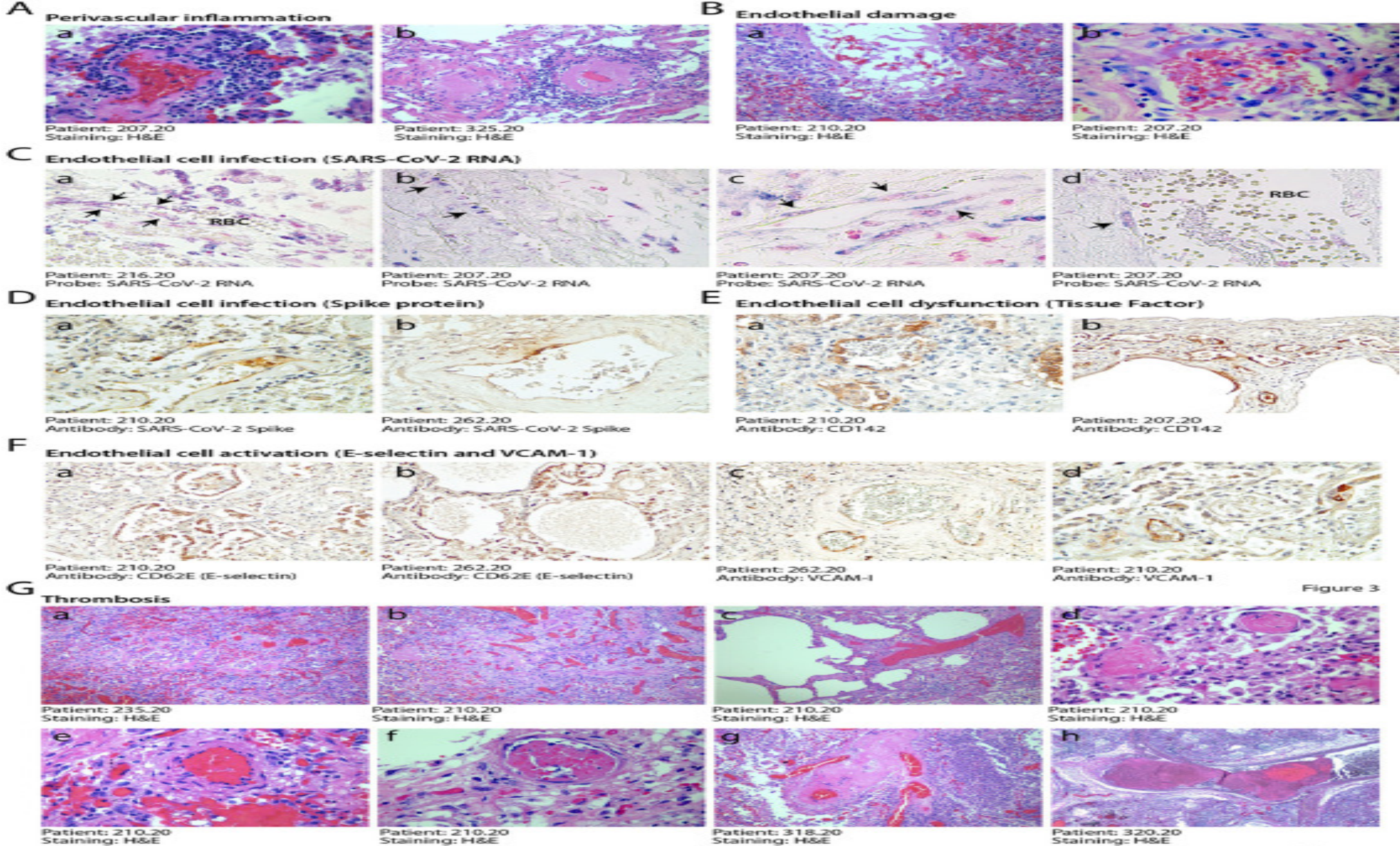
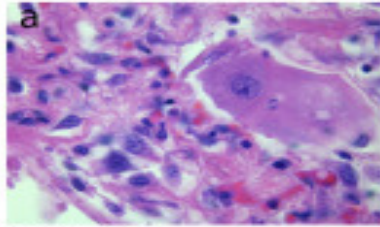


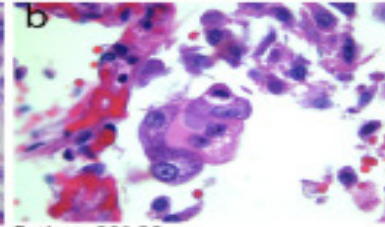
Figure 3

Bussani, R., Schneider, E., Zentilin, L., Collesi, C., Ali, H., Braga, L., ... & Giacca, M. (2020). Persistence of viral RNA, pneumocyte syncytia and thrombosis are hallmarks of advanced COVID-19 pathology. *EBioMedicine*, 61, 103104.

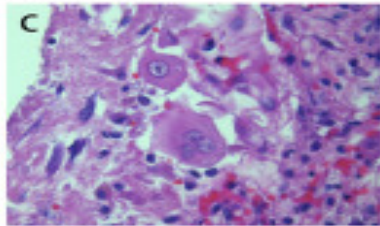
A Cytological abnormalities



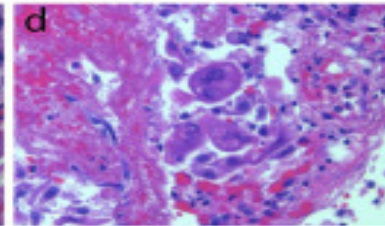
Patient: 207.20
Staining: H&E



Patient: 291.20
Staining: H&E

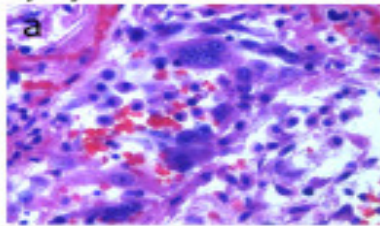


Patient: 291.20
Staining: H&E

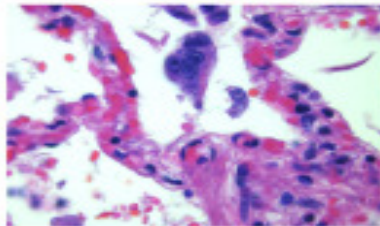
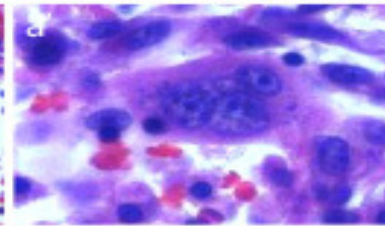


Patient: 291.20
Staining: H&E

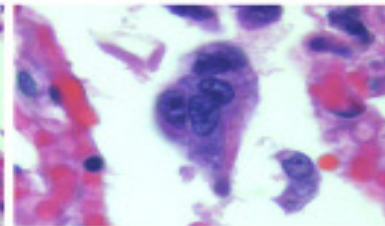
C Syncytia



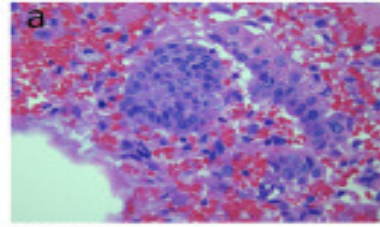
Patient: 207.20
Staining: H&E



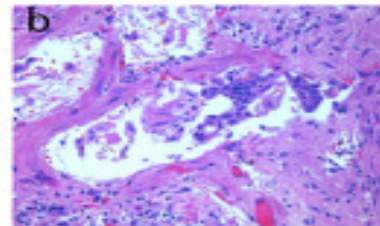
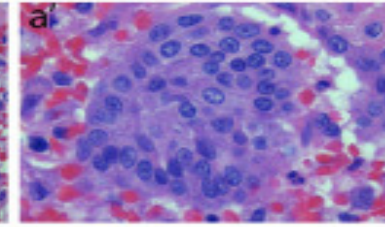
Patient: 210.20
Staining: H&E



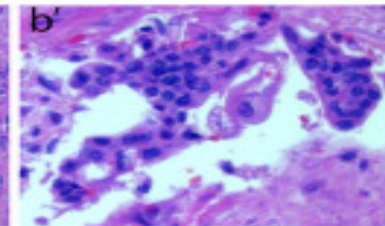
B Squamous metaplasia



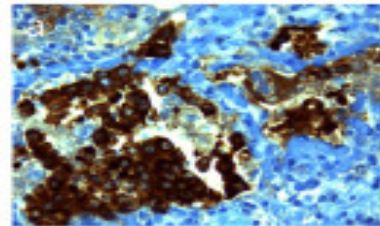
Patient: 210.20
Staining: H&E



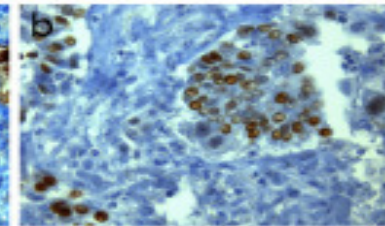
Patient: 314.20
Staining: H&E



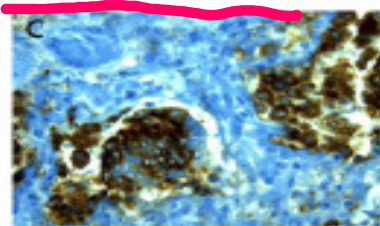
D



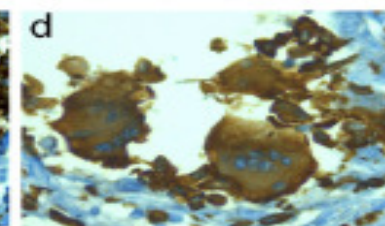
Patient: 210.20
Staining: Surfactant A, Bluing



Patient: 210.20
Staining: TTF1, Bluing



Patient: 210.20
Staining: Napsin, Bluing



Patient: 308.20
Staining: CD163, Bluing

Bussani, R., Schneider, E., Zentilin, L., Collesi, C., Ali, H., Braga, L., ... & Giacca, M. (2020). Persistence of viral RNA, pneumocyte syncytia and thrombosis are hallmarks of advanced COVID-19 pathology. *EBioMedicine*, 61, 103104.

Sonuçlar

COVID-19,

- yaygın akciğer trombozu
- pnömositlerde ve endotelyal hücrelerde viral RNA'nın uzun süre kalıcı
- enfekte hücre sinsitisinin varlığı ile karakterize edilen benzersiz bir hastalık
- COVID-19 özelliklerinin birçoğu, virüs bulaşmış hücrelerin hastalık süresi boyunca devam etmesine bağlı olabilir.

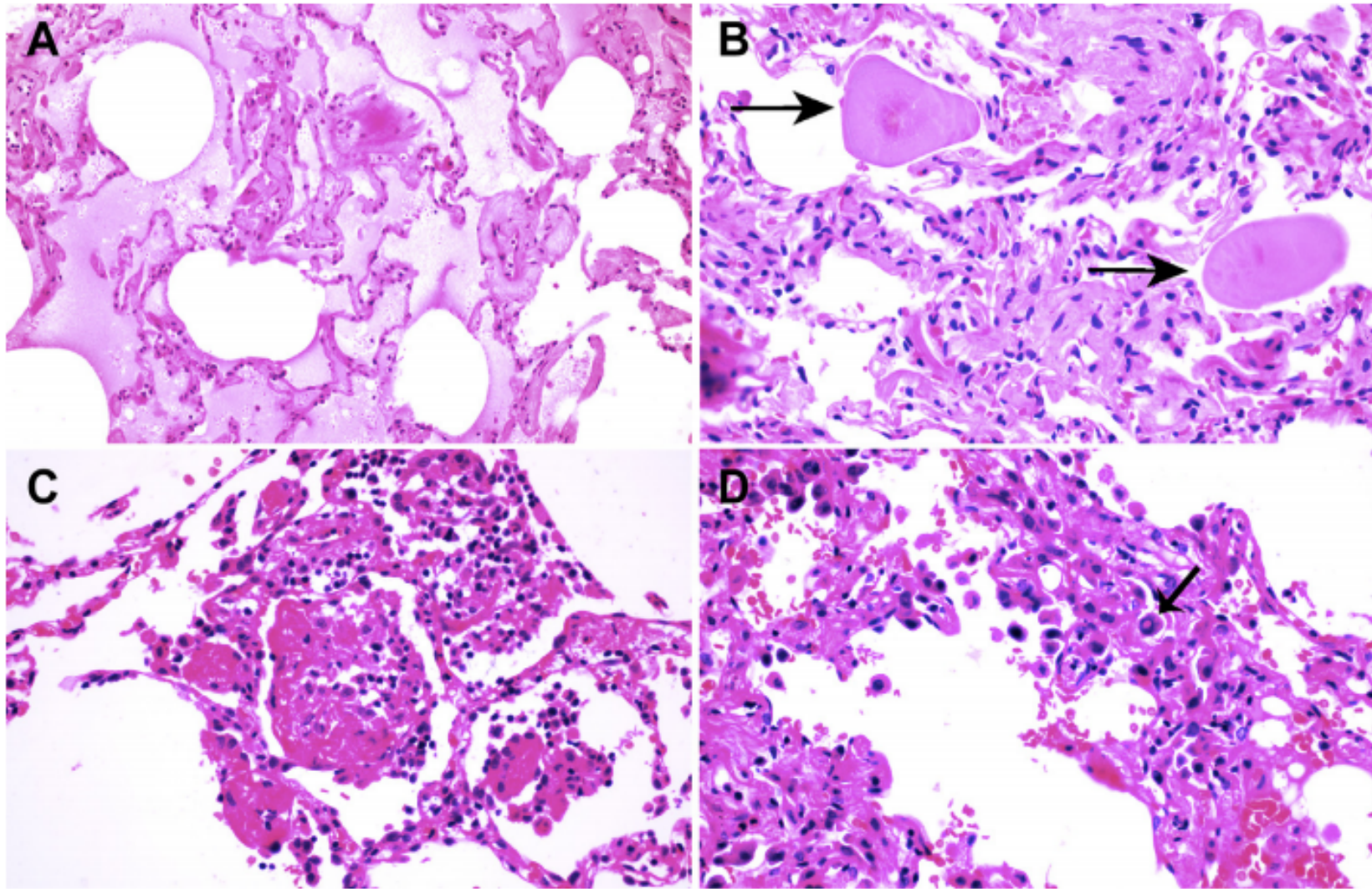


Figure 2. Histologic changes from case 1. (A) Proteinaceous exudates in alveolar spaces, with granules; (B) scattered large protein globules (arrows); (C) intra-alveolar fibrin with early organization, mononuclear inflammatory cells, and multinucleated giant cells; (D) hyperplastic pneumocytes, some with suspected viral inclusions (arrow).

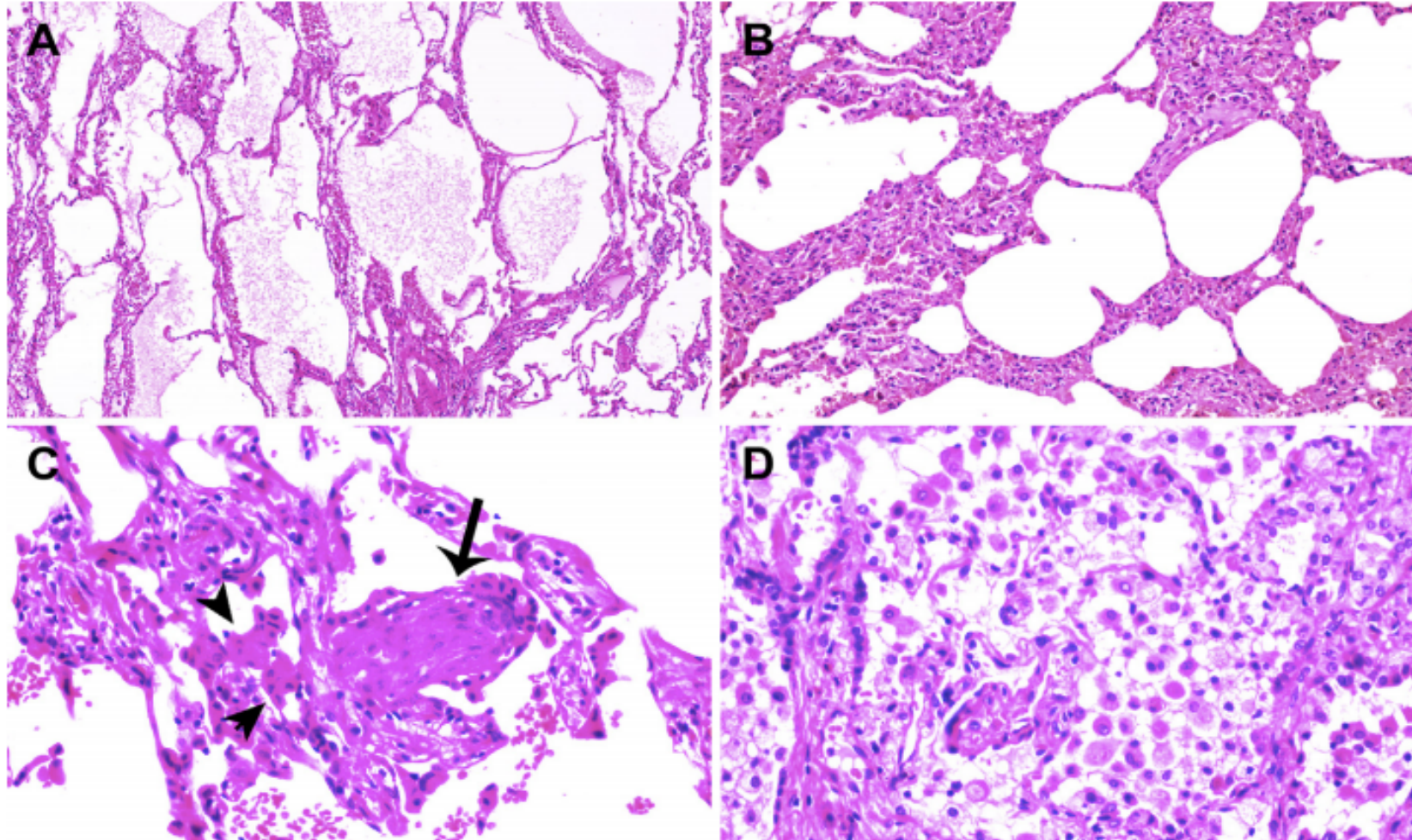


Figure 3. Histologic changes of coronavirus disease 2019 pneumonia in case 2. (A) Evident proteinaceous and fibrin exudate; (B) diffuse expansion of alveolar walls and septa owing to fibroblastic proliferations and type II pneumocyte hyperplasia, consistent with early diffuse alveolar damage pattern; (C) plugs of proliferating fibroblasts or “fibroblast balls” in the interstitium (arrow); (D) abundant macrophages infiltrating airspaces and type II pneumocyte hyperplasia.

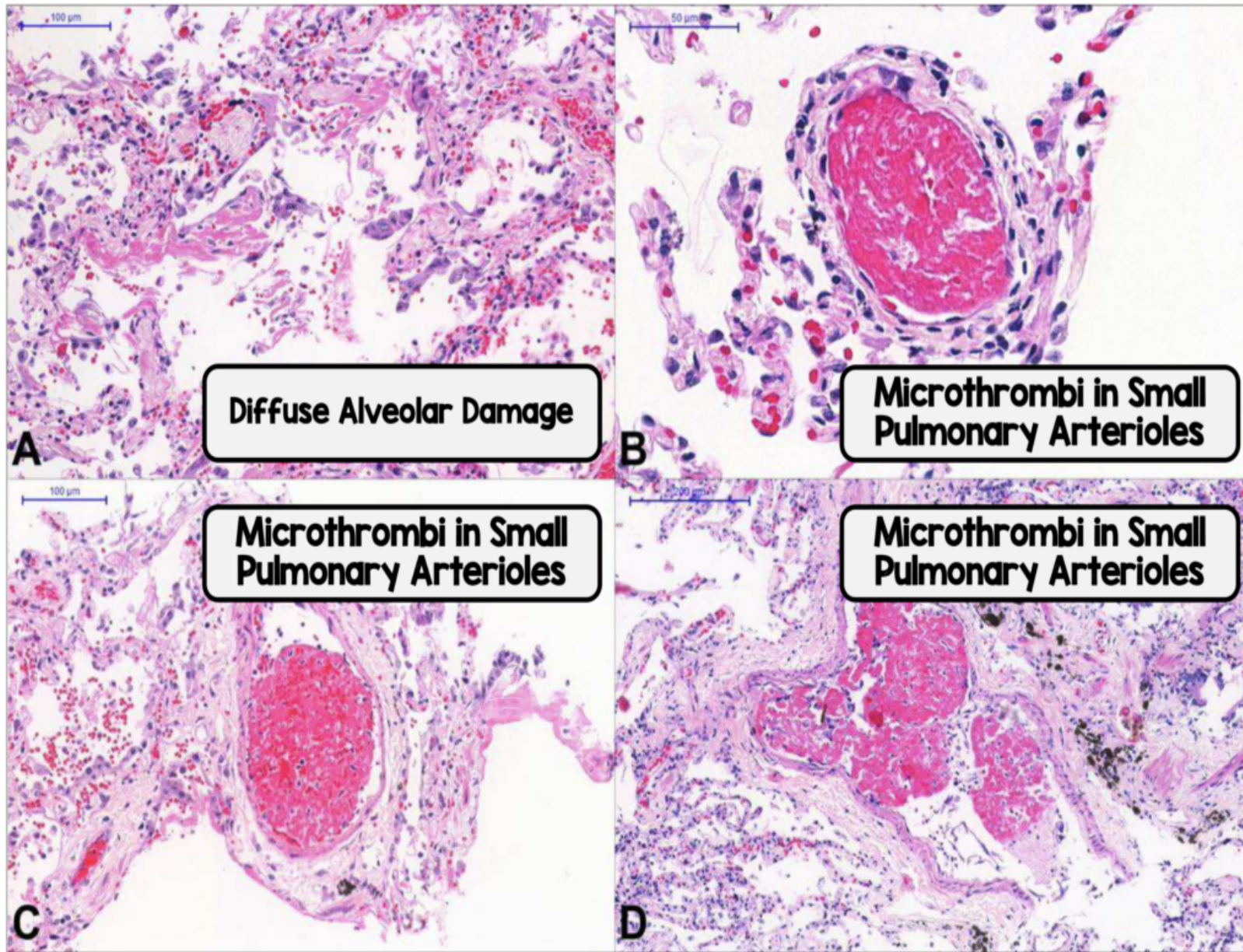
BİR ÇALIŞMA ÖRNEĞİ ; Şiddetli COVID-19'da Pulmoner Trombotik Patoloji

Brezilya, Sao Paulo'dan bir grup, COVID-19 vakalarında minimal invaziv otopsi

Ön otopside büyük damarlara erişimi yoktu ve 10 toplam ölümcül vaka incelendi.

Histolojik bulgular;

- ✓ Alveolar ve küçük hava yolu epitelinin içeren yoğun epitelyal viral sitopatik etkiler
- ✓ 8/10 vakada akciğer parankimi hasarlı ve korunmuş alanlarda küçük pulmoner arteriyollerde değişken sayıda küçük fibrinöz trombüs.
- ✓ Endotel hücre. Şişme ve pulmoner kapillerlerde çok sayıda pulmoner megakaryosit (pıhtılaşma kaskadı aktivasyonunu gösterir).
- ✓ Az sayıda ve küçük alveolar kanama ve pulmoner enfarktüs odakları
- ✓ 6/10 vakada görülen sekonder bakteriyel pnömoni belirtileri



**Yüksek oranda pulmoner
mikro tromboz gösteren
hiper pıhtılaşma**

DİĞER BİR ÇALIŞMA ÖRNEĞİ;

Sauter J L, Baine M K, Butnor K J, Buonocore D J, Chang J C, Jungbluth A A, Szabolcs M J, Morjaria S, Mount S L, Rekhtman N, Selbs E, Sheng Z-M, Xiao Y, Kleiner D E, Pittaluga S, Taubenberger J K, Rapkiewicz A V & Travis W D.

(2020) *Histopathology* 77, 915–925. <https://doi.org/10.1111/his.14201>

Insights into pathogenesis of fatal COVID-19 pneumonia from histopathology with immunohistochemical and viral RNA studies

Introduction: We describe post-mortem pulmonary histopathologic findings of COVID-19 pneumonia in patients with a spectrum of disease course, from rapid demise to prolonged hospitalisation.

Methods and results: Histopathologic findings in post-mortem lung tissue from eight patients who died from COVID-19 pneumonia were reviewed. Immunohistochemistry (IHC) and next-generation sequencing (NGS) were performed to detect virus. Diffuse alveolar damage (DAD) was seen in all cases with a spectrum of acute phase and/or organising phase. IHC with monoclonal antibodies against SARS-CoV-2 viral nucleoprotein and spike protein detected virus in areas of acute but not organising DAD, with intracellular viral antigen and RNA expression seen predominantly in patients with duration of illness less than 10 days. Major vascular findings included thrombi in

medium- and large-calibre vessels, platelet microthrombi detected by CD61 IHC and fibrin microthrombi.

Conclusions: Presence of SARS-CoV-2 viral RNA by NGS early in the disease course and expression of viral antigen by IHC exclusively in the acute, but not in the organising phase of DAD, suggests that the virus may play a major role in initiating the acute lung injury of DAD, but when DAD progresses to the organising phase the virus may have been cleared from the lung by the patient's immune response. These findings suggest the possibility of a major change during the disease course of COVID-19 pneumonia that may have therapeutic implications. Frequent thrombi and microthrombi may also present potential targets for therapeutic intervention.

Address for correspondence: W D Travis, Department of Pathology, A525, Memorial Sloan Kettering Cancer Center, 1275 York Avenue, New York, NY 10065, USA. e-mail: travisw@mskcc.org

*These authors contributed equally to this study.

© 2020 John Wiley & Sons Ltd.

Sauter J L, Baine M K, Butnor K J, Buonocore D J, Chang J C, Jungbluth A A, Szabolcs M J, Morjaria S, Mount S L, Rekhtman N, Selbs E, Sheng Z-M, Xiao Y, Kleiner D E, Pittaluga S, Taubenberger J K, Rapkiewicz A V & Travis W D. (2020) *Histopathology* 77, 915–925. <https://doi.org/10.1111/his.14201>

Özet

- COVID-19 pnömonisinin postmortem pulmoner histopatolojik bulguları
- **Hızlı ölümden (7. günden) - uzun süreli (17. güne)** hastaneye yatışa kadar

Yöntem:

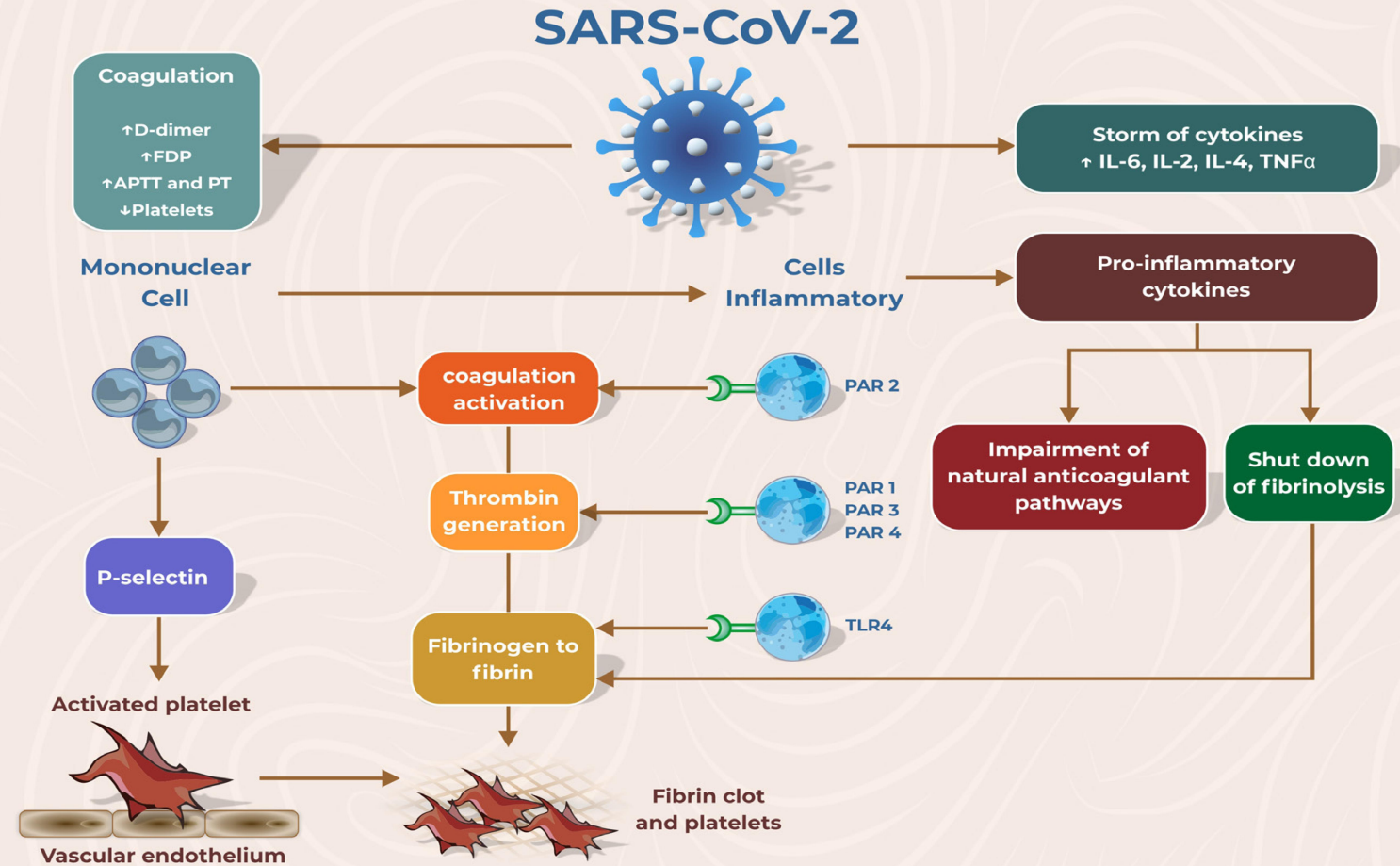
- **Ölen 8 hastanın postmortem akciğer dokusundaki histopatolojik bulgular**
- **Virüsü saptamak için : IHC ve yeni nesil dizileme (NGS)**
- **Genel histopatoloji : H&E boyama**

BULGULAR

- ✓ Yaygın alveolar hasar (DAD=Diffuse Alveolar Damage) akut faz ve/veya düzenleme fazı spektrumunun tümünde görüldü.
- ✓ SARS-CoV-2 viral nükleoprotein ve spike proteinine karşı monoklonal antikorlar içeren IHC, virüsü akut, ancak organize olmayan DAD alanlarında saptadı
- ✓ Hücre içi viral antijen ve RNA ekspresyonu, ağırlıklı olarak hastalık süresi 10 günden az olan hastalarda görüldü.
- ✓ Başlıca vasküler bulgular,
 - Orta ve büyük çaplı damarlarda trombüs,
 - CD61 IHC ile saptanan trombosit mikrotrombi ve fibrin mikrotrombi

Şekil 7. SARS-CoV-2, enflamatuar ve trombotik süreç aktivasyonu

- ✓ Sitokinlerde (sitokin fırtınası) ve pıhtılaşma bozukluklarında artışla ve trombüs oluşumuyla ilişkili
- ✓ Mononükleer hüç., trombini ve doku faktörünü proteazla aktive olan reseptörlerle bağlayarak ve fibrini Toll benzeri reseptör 4'e bağlayarak enflamatuar h. etkinleştiren aktive trombositler ve pıhtılaşma kaskadıyla etkileşim
- ✓ Enflamatuar h. aktivasyonu, proinflamatuar sitokinlerin salınması sebebiyle doğal pıhtılaşma yollarının bozulmasına ve fibrinolizin kapanmasına yol açma



PAR: proteaz ile aktive olan reseptör; TLR4: Toll benzeri reseptör 4; aPTT: aktive parsiyel tromboplastin zamanı; PT: protrombin zamanı; IL: interlökin; TNFa: tümör nekroz faktörü-a.

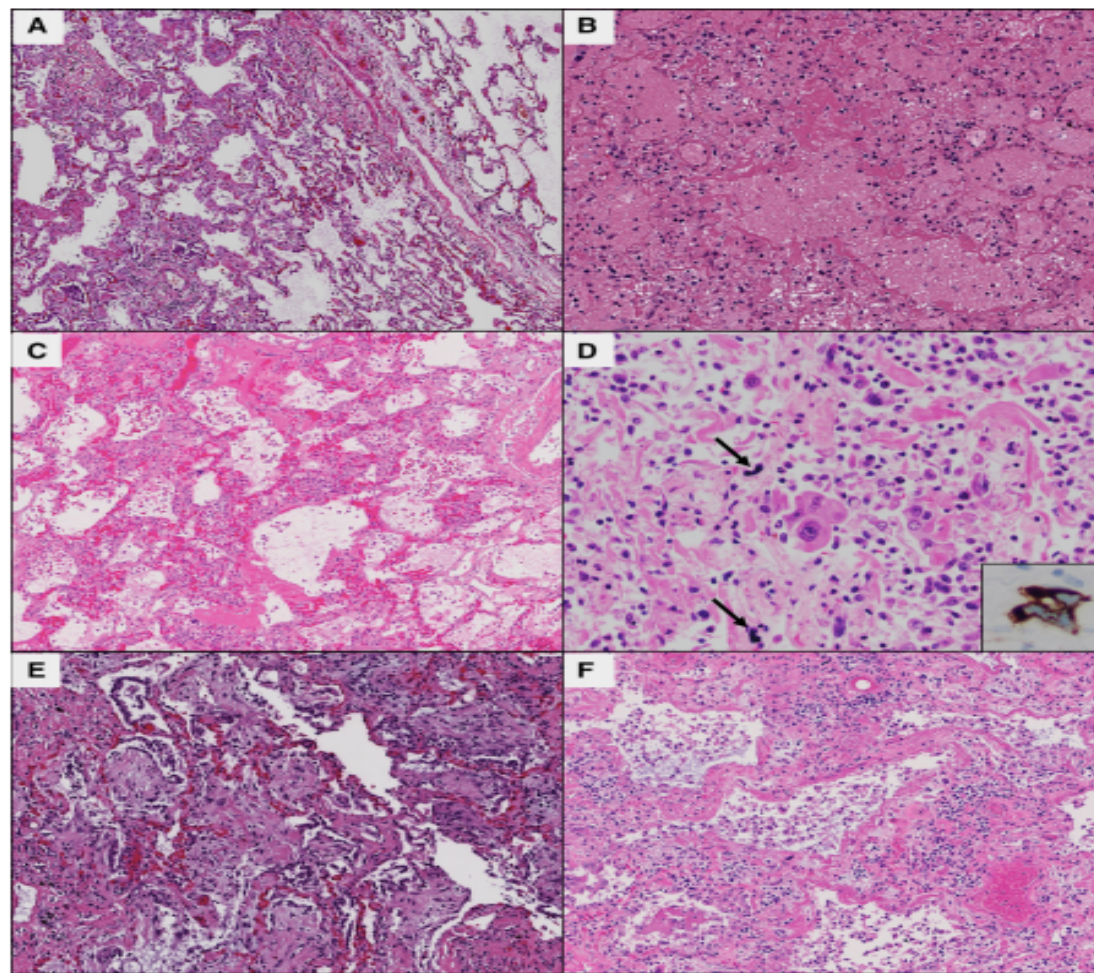


Figure 1. Spectrum of diffuse alveolar damage (DAD) seen in COVID-19 pneumonia. **A.** All cases demonstrated DAD, seven of eight of which showed a component of acute phase DAD. Note the demarcation between affected lung parenchyma with thickened alveolar septa and hyaline membranes (lower left) and the relatively preserved lung parenchyma (upper right) separated by a thickened oedematous interlobular septum. **B.** Oedema of variable severity was seen in all cases and is marked in this example. Note also the conspicuous hyaline membranes. **C.** The presence of interstitial neutrophilic infiltrates was focally seen in areas with acute DAD. **D.** Reactive type II pneumocytes within alveolar spaces showed abundant eosinophilic cytoplasm, irregular nuclear contours, occasional binucleation, vesicular condensed chromatin and prominent macronucleoli. Intracapillary megakaryocytes (arrows) were also present within alveolar capillaries and were highlighted by CD61 immunohistochemistry (inset). **E.** Lungs from six patients showed organising phase DAD alone or in combination with acute phase DAD, with characteristic type II pneumocyte and fibroblastic proliferation within alveolar walls and focal intraluminal plugs of loose connective tissue. **F.** Some areas within organising DAD showed interstitial chronic inflammation.

Table 1. Disease course and histopathologic findings in autopsy lung tissue from patients who died from COVID-19 pneumonia

Patient	Duration from onset of symptoms to death (days) [§]	Mechanical ventilation (duration in days) [§]	Attempted resuscitation	Phase of DAD	Interstitial inflammation [†]	Airway changes	Vascular changes [‡]	Infarct present
1	7	No	Yes	Acute	Neutrophils (ADAD)	Marked acute bronchitis and bronchiolitis; aspiration pneumonia	Acute vascular inflammation in areas of acute pneumonia; focal chronic venular inflammation; platelet microthrombi	No
2	3	No	Yes	Acute	Neutrophils (ADAD)	Mild acute bronchitis and bronchiolitis	Platelet microthrombi	No
3	9	Yes (2)	Yes	Acute and organising	Lymphocytes (ODAD) and neutrophils (ADAD)	Mild acute bronchitis and bronchiolitis; mild focal chronic bronchiolitis	Medium sized arterial thrombi; fibrin and platelet microthrombi; mild chronic venular inflammation	No
4	16	Yes (1)	No	Acute and organising	Lymphocytes (ODAD) and neutrophils (ADAD)	Mild acute bronchitis and bronchiolitis; mild focal chronic bronchiolitis	Platelet microthrombi	No
5	13	Yes (4)	Yes	Organising and acute (focal)	Lymphocytes (ODAD) and neutrophils (ADAD)	Mild acute bronchitis and bronchiolitis	Medium sized arterial thrombi; platelet microthrombi; mild chronic venular inflammation	Yes
6	20	Yes (11)*	No	Organising	Lymphocytes (ODAD) and eosinophils	Mild chronic bronchitis and bronchiolitis	Large arterial thrombus; Platelet microthrombi	No
7	25	Yes (9)	No	Organising and acute (focal)	Lymphocytes (ODAD) and neutrophils (ADAD)	Mild acute and chronic bronchitis and bronchiolitis	Acute vascular inflammation in areas of acute pneumonia; platelet microthrombi	No
8	17	Yes (<1)	No	Organising and acute (focal)	Lymphocytes (ODAD) and neutrophils (ADAD)	Mild acute and chronic bronchiolitis; mucus plugging in proximal bronchi	Large and medium sized arterial thrombi; fibrin and platelet microthrombi; mild chronic venular inflammation	No

ADAD, Acute phase of DAD; DAD, Diffuse alveolar damage; ODAD, Organising phase of DAD.

*Patient was intubated twice, initially for 10 days, then off for 4 days before reintubating for 1 day.

[†]The neutrophils were seen focally in areas of acute DAD and the lymphocytes in areas of organising DAD.

[‡]Vascular changes seen on histological examination of haematoxylin and eosin (H&E)-stained slides without assistance of immunohistochemistry include thrombi, fibrin microthrombi and vasculitis. Platelet microthrombi by CD61 immunohistochemistry were seen in all cases.

[§]Clinical and limited pulmonary pathology data for patients 1–5, 7 and 8 are published separately.²⁰

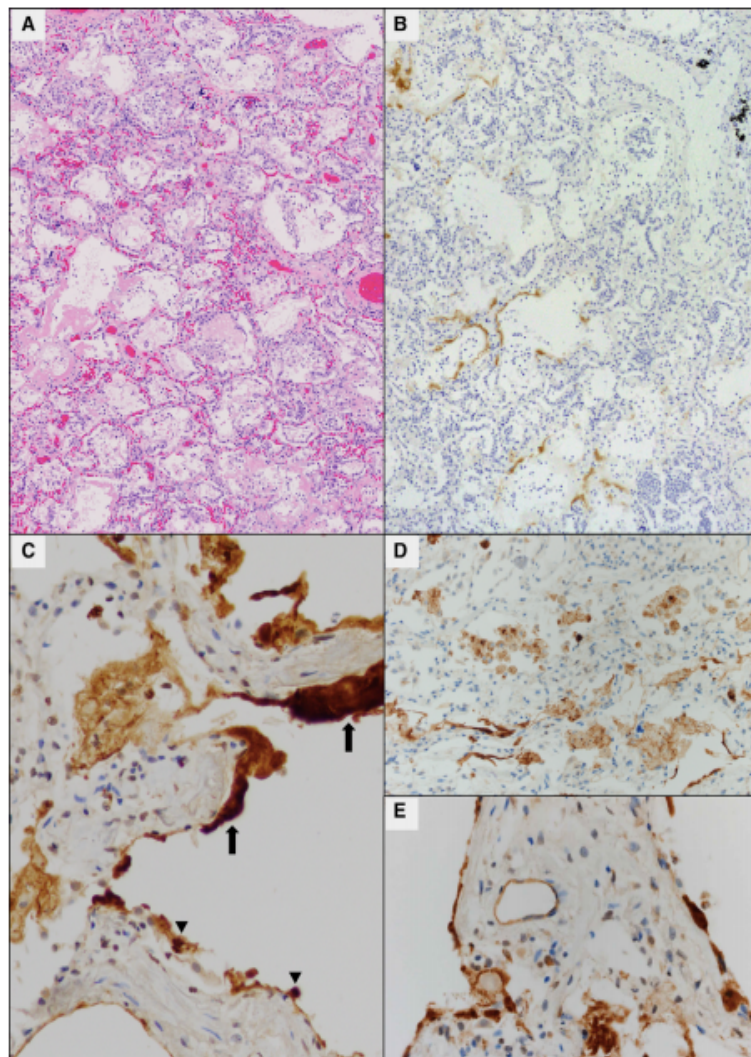


Figure 2. Viral antigen detection by immunohistochemistry (IHC) against SARS-CoV nucleoprotein [monoclonal antibody (mAb) 001]. A, In this example (case 3) both acute and organising phases of DAD are present in a single section. Areas with organising DAD (upper right) that lack hyaline membranes failed to demonstrate the presence of viral antigen by IHC, while areas with acute DAD (lower left) showed staining in hyaline membranes but not in pneumocytes (B). C, In all IHC-positive cases, viral antigen was detected in hyaline membranes (thick arrows) within areas of acute phase DAD, and in two cases diffusely within regenerating and reactive type II pneumocytes (arrowheads). Viral antigen was also present in alveolar macrophages in these latter two cases (D). In case 1, the case with the most viral antigen detected by IHC, weak cytoplasmic staining was observed in endothelial cells of scattered venules and alveolar capillaries (E).

Table 2. Viral detection by next-generation sequencing and immunohistochemistry and corresponding histology

Case	Onset to death (days)	Viral RNA*	Anti-SARS-CoV spike protein (clone 1A9)		Anti-SARS-CoV nucleoprotein (clone 001)		Histologic findings in FFPE tissue used for NGS
			Acute DAD	Organising DAD	Acute DAD	Organising DAD	
1	7	Detected	++	NA	++	NA	Acute DAD
2	3	Detected	++	NA	++	NA	Acute DAD
3	9	Detected	+	–	+	–	Acute and organising DAD
4	16	Not detected	+ [‡]	NA	+	NA	Predominantly organising DAD with focal acute DAD
5	13	Not detected	+ [‡]	NA	+	NA	Predominantly organising DAD with focal acute DAD
6	20	Not detected	NA	–	NA	–	Organising DAD
7	25	Not detected	NA [†]	NA [†]	NA [†]	NA [†]	Necrotising pneumonia
8	17	Not detected	+ [‡]	–	+	–	Organising DAD with very focal acute DAD

DAD, Diffuse alveolar damage; NA, Not applicable; ++, Strong positive; +, Positive; –, Negative; FFPE, Formalin-fixed paraffin-embedded; NGS, Next-generation sequencing.

*The range of the total reads generated from these samples is 94 185 253 to 190 608 325. The range of viral reads in positive cases is 1497–145 854. The range of viral reads in negative cases is 4–177. A threshold for detection was defined as a minimum of 1000 reads mapped to the SARS-CoV-2 genome.

[†]The section available for immunohistochemistry was entirely composed of an area of acute necrotising pneumonia without features of DAD.

[‡]Viral antigen detected in at least one section.

Özetle,

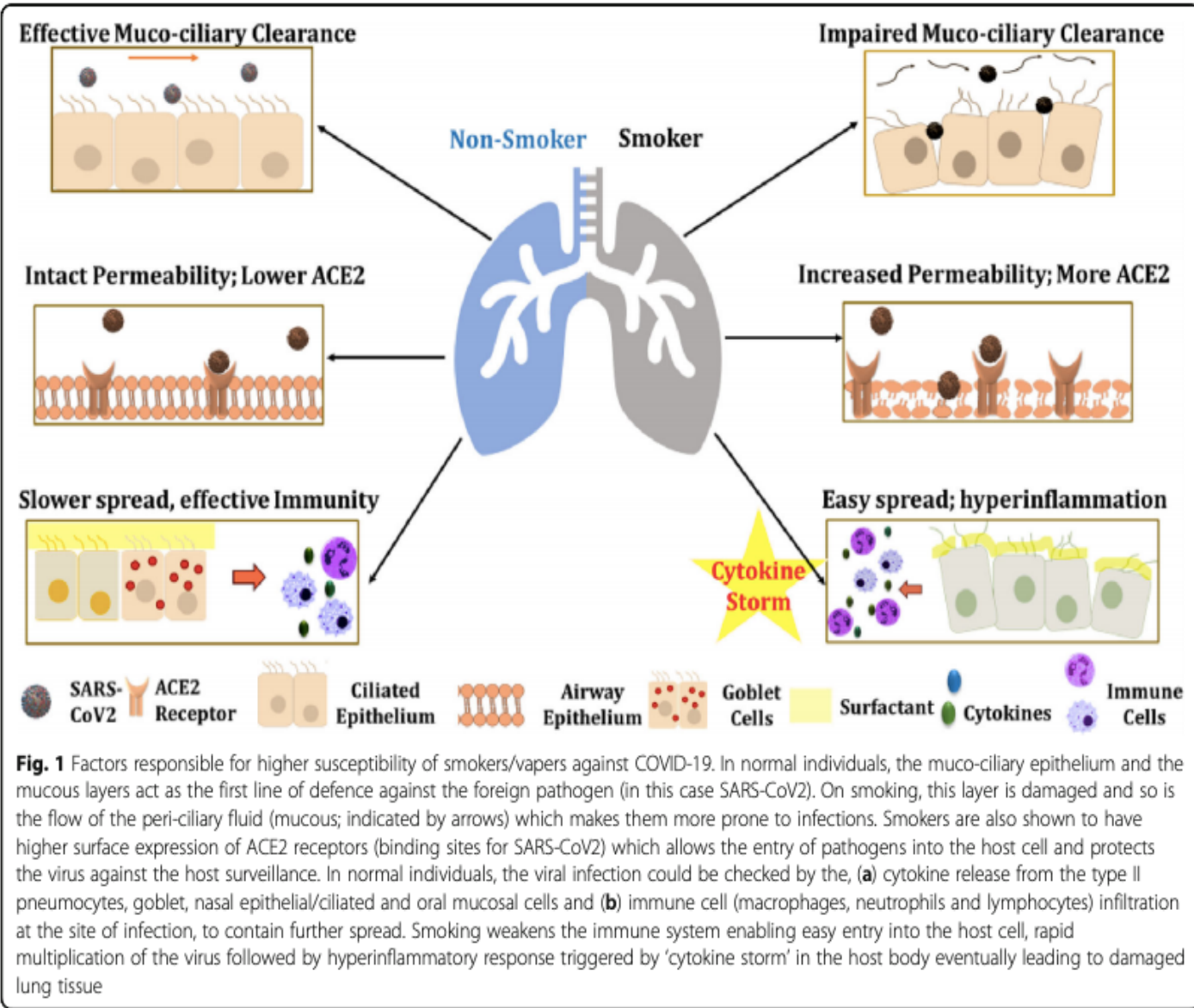
Bulgular;

- ❖ *COVID-19 pnömonisindeki ilk akciğer hasarının doğrudan DAD'nin akut fazındaki SARS-CoV-2'den kaynaklandığını göstermektedir.*
- ❖ *DAD iyileşme dönemine doğru viral RNA ve antijen saptanamaz hale gelir, bu da hastanın bağışıklık tepkisi tarafından olası klirensi düşündürür.*

Sonuçlar;

COVID-19 pnömonisi;

- ✓ patogenezinin hastalık seyri sırasında büyük bir değişikliğe uğrar***
- ✓ DAD'nin düzenleme aşamasına ilerleyip ilerlemediğine bağlı olarak farklı terapötik yaklaşımlar dikkate alınmalı***



- Nonsmoker mukosiliyer epitel ve mukoza tabakaları, ilk savunma hattı
- Smoker, bu tabaka ve dolayısıyla peri-siliyer sıvının akışı (mukoza; oklarla gösterilir) enfeksiyonlara daha yatkın.
- Patojenlerin konakçı hücreye girmesine izin veren ve virüsü konak gözetimine karşı koruyan daha yüksek bir ACE2 reseptör eks. artışı (SARS-CoV2 için bağlanma yerleri)
- Normal bireylerde viral enfeksiyon, (a) tip II pnömositlerden, goblet, nazal epitel / siliyatlı ve oral mukozal hücrelerden sitokin salımı ve (b) bağışıklık hücresi (makrofajlar, nötrofiller ve lenfositler) infiltrasyonu ile kontrol

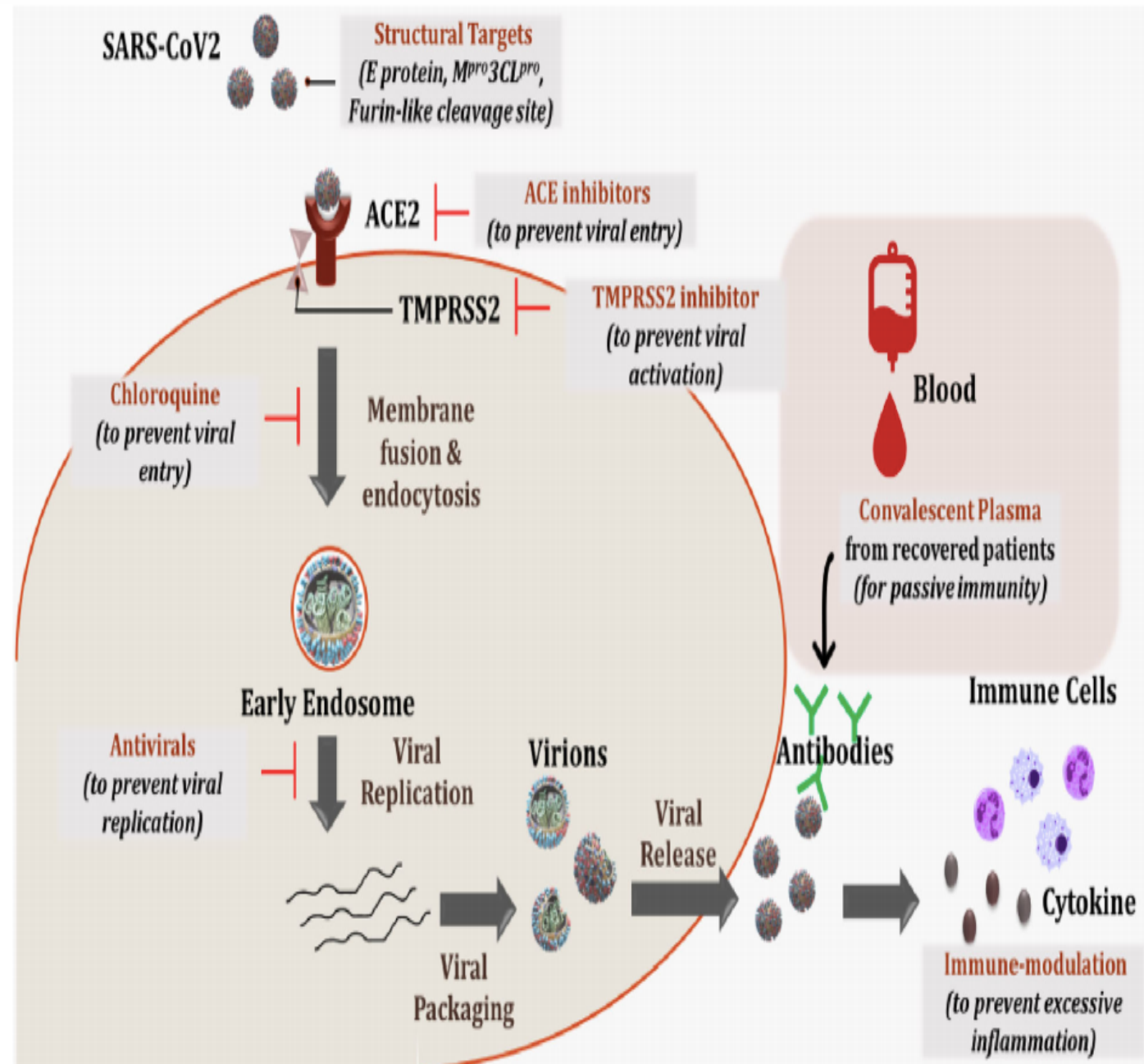
Çalışmanın Bulguları

Sigara içmek bağışıklık sistemini zayıflatarak konakçı hücreye kolay girişi, virüsün hızlı çoğalmasını ve ardından konakçı vücutta "sitokin fırtınası" ile tetiklenen hiperinflamatuar yanıtın sonunda akciğer dokusunun hasar görmesine yol açar.

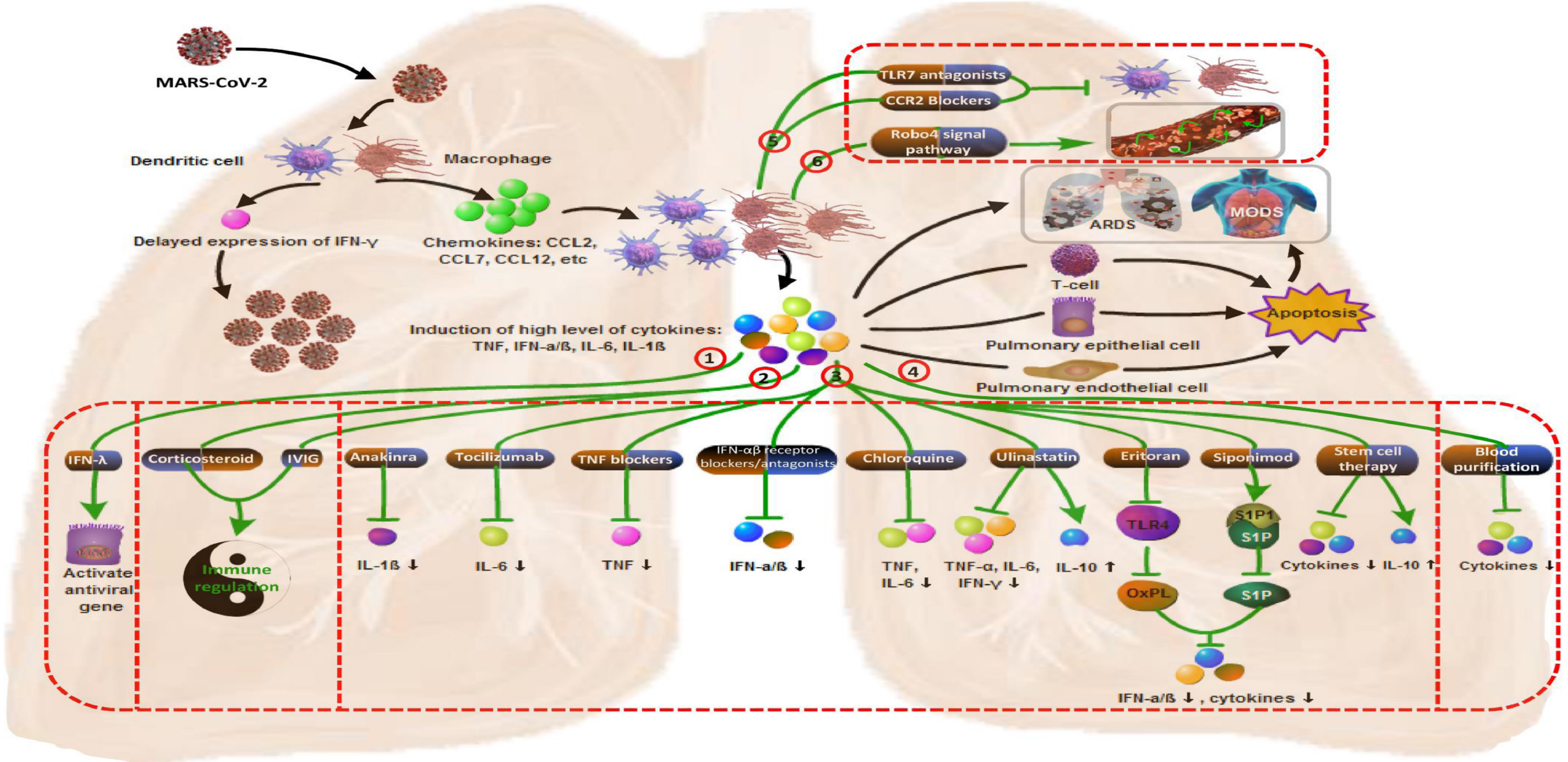
Covid-19 Tedavi Yöntemleri

- ✓ SARS-CoV2, akciğer alveolar epitelinde tip II pnömositlerdeki ACE2 reseptörlerine yüksek bir bağlanma afinitesine sahiptir. ACE inhibitörleri / ARB'ler tarafından hedeflenebilir.
- ✓ ACE2 reseptörlerine bağlanma üzerine, TMPRSS2 proteaz viral S proteinini ayırır ve viral gövdenin hücre içine yutulmasını sağlar.
- ✓ Viral proteazlar, endozomal membranın füzyonunu ve viral RNA'nın (genom) konakçının sitoplazmasına salınmasını sağlar.
- ✓ TMPRSS2 inhibitörleri veya antimalaryal ilaçlar (klorokin/hidroksiklorokin) bu yutmayı önleyebilir. Viral RNA, viral proteinleri ifade etmek için konağın çeviri mekanizmasını ele geçirir ve ayrıca viral replikasyonu ve paketlemeyi sağlar. Şu anda klinik deneylerde test edilmekte olan çeşitli antiviral ilaçların etki bölgesidir.

- Viral RNA ve protein, h. dışı boşluğa virionlar halinde paketlenir ve pro-inflamatuvar sitokinlerin/kemokinlerin salınmasına ve bağışıklık hücrelerinin infiltrasyonuna sebep olur.
- Viral yapısal molekülleri hedeflemek veya pasif bağışıklığı indüklemek için iyileşen plazmanın kullanılması gibi alternatif yaklaşımlar tedavide kullanılmaktadır.



Covid-19'da Sitokin Fırtınasının Mekanizması Ve Potansiyel Tedavi



Buraya kadar sunumu özetlersek;

COVID-19 enfeksiyonunda gözlenen histopatolojik bulgular;

- ✓ Otopsi,
- ✓ Postmortem biyopsi
- ✓ Malignite sebebiyle opere edilen olgulardan cerrahi materyallerin değerlendirilmesiyle

Öneriler

- ✓ *COVID-19 enfek. spesifik bir histopatolojik bulgu tanımlayabilmek için*
- ✓ ***farklı yaş ve fizyolojik geçmişe sahip daha fazla sayıda olgudan oluşan çalışmalar yapılmalı***
- ✓ *Ayrıca ülkemizde bakanlıktan izin verildiği takdirde in vivo/in vitro deneysel çalışmalarla moleküler, immünolojik ve immünohistokimyasal analizlerle klinik çalışmalar desteklenmeli*

KAYNAKLAR

- Ayhancı T, Altındış M. COVID-19 immünpatogenezi ve Sitokin Fırtınası. J Biotechnol and Strategic Health Res. 2020;1(Özel Sayı):65-69.
- Hanley B, Lucas SB, Youd E, Swift B, Osborn M. Autopsy in Suspected COVID-19 Cases. J Clin Pathol. 2020 May;73(5):239-242. doi: 10.1136/jclinpath-2020-206522.
- Lee IC, Huo TI, Huang YH. Gastrointestinal and Liver Manifestations in Patients with COVID-19. J Chin Med Assoc. 2020 Apr 1. doi: 10.1097/JCMA.0000000000000319.
- Li Y, Xiao SY. Hepatic Involvement in COVID-19 Patients: Pathology, Pathogenesis, and Clinical Implications. J Med Virol. 2020 May 5. doi: 10.1002/jmv.25973.
- Rokni M, Ghasemi V, Tavakoli Z. Immune Responses and Pathogenesis of SARS-CoV-2 During an Outbreak in Iran: Comparison With SARS and MERS. Rev Med Virol. 2020 May;30(3):e2107. doi: 10.1002/rmv.2107.
- Shereen MA, Khan S, Kazmi A, Bashir N, Siddique R. COVID-19 infection: Origin, transmission, and characteristics of human coronaviruses. J Adv Res. 2020;24:91–98.
- Tian S, Hu W, Niu L, et al. Pulmonary Pathology of Early-Phase 2019 Novel Coronavirus (COVID-19) Pneumonia in Two Patients With Lung Cancer. J Thorac Oncol. 2020 a. Feb 28. pii: S1556-0864(20)30132-5. doi: 10.1016/j.jtho.2020.02.010.
- Tian S, Xiong Y, Liu H, et al. Pathological Study of the 2019 Novel Coronavirus Disease (COVID-19) Through Postmortem Core Biopsies. Mod Pathol. 2020 b. Apr 14;1-8. doi: 10.1038/s41379-020-0536-x.
- Tufan A, Avanoğlu Güler A, Cerinic MM. COVID-19, Immune system Response, Hyperinflammation and Repurposing Antirheumatic Drugs. Turk J Med Sci. 2020 Apr 21;50(SI-1):620-632.

Xu Z, Shi L, Wang Y et al. Pathological Findings of COVID-19 Associated With Acute Respiratory Distress Syndrome. *Lancet Respir Med*. 2020a Apr;8(4):420-422. doi: 10.1016/S2213-2600(20)30076-X.

Xu L, Liu J, Lu M, Yang D, Zheng X. Liver Injury During Highly Pathogenic Human Coronavirus Infections. *Liver Int*. 2020b. May;40(5):998- 1004. doi: 10.1111/liv.14435.

Zeng Z, Xu L, Xie XY, et al. Pulmonary Pathology of Early Phase COVID-19 Pneumonia in a Patient With a Benign Lung Lesion. *Histopathology*. 2020 May 6. doi: 10.1111/his.14138.



DİNLEDİĞİNİZ İÇİN TEŞEKKÜRLER