

5. BÖLÜM / CHAPTER 5

Çağımızın Seri Katili Koronavirüs'ün Etki Mekanizmaları ve İlgili Klinik Laboratuvar Analizleri

The Serial Killer of Our Age: Coronavirus. Mechanisms Used by Coronavirus and Relevant Clinical Laboratory Parameters

Uzay Görüm^{1,2}

¹Nişantaşı Üniversitesi, İktisat Fakültesi, Sağlık Yönetimi Bölümü, İstanbul, Türkiye

²Karolinska Enstitüsü Tıbbi Biyokimya ve Biyofizik Bölümü, Stockholm, İsveç

e-posta: druzay@gmail.com

ORCID: U.G. 0000-0002-3124-0184

Öz

Koronavirüs hastalığı-2019 (COVID-19), şiddetli akut solunum sendromu koronavirüs-2'nin (SARS-CoV-2) neden olduğu akut bir solunum yolu enfeksiyon hastalığıdır. Klinik bulgular Akut solunum sıkıntısı sendromu (ARDS)'ye benzemekle beraber aynı değildir: yüksek pozitif son ekspiratuar basınç (PEEP) ve solunan havanın oksijen oranı (FIO₂) seviyelerine, akciğer dokusunda orantısız bilgisayarlı tomografi (BT) değişikliklerine, hipoksemiye, orantısız olarak yüksek D-dimer seviyelerine rastlanmaktadır. Ne yazık ki, sadece akciğerler etkilanmemektedir, hastalığın çoklu organ yetmezliğine neden olabilecek ciddi sonuçları da vardır. Bu virüs, çekirdek veya DNA içermeyen olgun kırmızı kan hücrelerine bile saldırabilmektedir. Bu da, durumu daha ilginç ve anlaşılması zor bir hale getirmektedir. Hastalığın hafif formlarında lenfopeni (en yaygın bulgu), lökopeni ve CRP artışı gözlenirken; ileri formlarda AST, ALT, CK, D-dimer, ferritin ve LDH seviyeleri yükselmektedir. Bu inceleme, COVID-19'daki laboratuvar değişikliklerini ve bu değişikliklerin nedenlerini özetlemek için yazılmıştır. COVID-19 hakkında hala birçok tartışma bulunmakla birlikte, araştırmacılar aşı geliştirebilmek için yoğun bir şekilde çalışmaktadırlar. Elde edilen tüm veriler sorunun hızlı çözüme ulaşmasına katkıda bulunacaktır. İnsanlık tarihi aslında bugüne kadar çeşitli aralıklarla ortaya çıkan birbirinden farklı, bir kısmı birbiriyile akraba olan çeşitli bakteri ve virüs salgınlarıyla doludur. Koronavirüs hakkında bilinenler henüz sınırlı ve virüsün kullandığı silahların bütün detayları tanınmasa da insan vücudunda yaptığı etkiler tanımlanabilmektedir. Burada genel olarak koronavirüs hakkında şu ana kadar bildiklerimiz ve klinik laboratuvara yansıyan etkileri detaylı olarak tartışılmıştır.

Anahtar Kelimeler: COVID-19, RT-PCR, immünokimyasal test, test kullanımı

ABSTRACT

Coronavirus disease-2019 (COVID-19) is an acute respiratory infectious disease caused by severe acute respiratory syndrome coronavirus-2 (SARS-CoV-2). Clinical findings are similar but not the same as with Acute Respiratory Distress Syndrome (ARDS): high positive end expiratory pressure (PEEP) and fraction of inspired oxygen (FIO₂) levels, computed tomography (CT) changes in lung tissue disproportionate with hypoxemia, disproportionately high D-dimer levels. Unfortunately, lungs are not the only organs to be affected, there are severe outcomes of the disease which may cause multiorgan failure. The virus can even attack the mature red blood cells which contain neither nucleus nor DNA. This makes the situation very interesting and difficult to understand. In mild forms of the disease, lymphopenia (the most common finding), leukopenia and CRP increase are observed; while in advanced forms, AST, ALT, CK, D-dimer, ferritin and LDH levels increase. This review was written to summarize the laboratory changes in COVID-19 and the reasons of those changes. There are still many debates nearly about all aspects, but investigators work hard to find vaccine. The more we know, the faster we can find solution(s) to the problem.

Keywords: COVID-19, RT-PCR, immunochemical test, test use

EXTENDED ABSTRACT

In history human beings experienced various bacterial and viral outbreaks which have emerged at various intervals until today. Currently in 2020, the new contagious problem is coronavirus and unfortunately, what we know about coronavirus is limited, but we are able to describe its effects on the human body, even though we still do not recognize its weapons in full detail.

Coronavirus disease-2019 (COVID-19) is an acute respiratory infection disease caused by severe acute respiratory syndrome coronavirus-2 (SARS-CoV-2).

Clinical findings are similar but not the same as with Acute Respiratory Distress Syndrome (ARDS): high positive end expiratory pressure (PEEP) and Fraction of inspired oxygen (FiO₂) levels, computed tomography (CT) changes in lung tissue disproportionate with hypoxemia, disproportionately high D-dimer levels. There are many aspects to be investigated about the disease, HMGB1 is one of the proteins which is suspected to play an important role in the development of acute lung injury during COVID-19. In severe COVID-19 infections, the carcinogenic HMGB1 protein is released into the lungs in large amounts, leading to pneumonia and tissue damage.

Unfortunately, lungs are not the only organs to be affected, there are severe outcomes of the disease which may cause multiorgan failure. The virüs can even attack the mature red blood cells which contain neither nucleus nor DNA. This makes the situation very interesting and difficult to understand. In mild forms of the disease, lymphopenia (the most common finding), leukopenia and CRP increases are observed; while in advanced forms, AST, ALT, CK, D-dimer, ferritin and LDH levels increase.

Apart from direct liver damage caused by the virüs, immune deficiency, systemic inflammatory response syndrome (SIRS), cytokine secretions, ischemia and hypoxic reperfusion damage can also cause liver damage; that is, liver damage can be observed due to both direct and indirect damage.

COVID-19 also has common features with a group of diseases known as 'hyperferritinemia syndromes'; patients suffer with high ferritin levels, persistent and life-threatening hyperinflammation and thus multiorgan deficiencies can be encountered with cytokine discharge. Some features of COVID-19 are as similar as if they were members of hyperferritinemic syndromes: lymphopenia, decreases in NK activity and number, abnormal liver function tests, coagulopathy and hyperferritinemia.

This review was written to summarize the laboratory changes in COVID-19 and the reasons for those changes. There are still many debates about nearly all aspects, but investigators work hard to find a vaccine. The more we know, the faster we can find a solution(s) to the problem.

GİRİŞ

Koronavirüs hastalığı-2019 (COVID-19), Şiddetli akut solunum sendromu koronavirus-2 (SARS-CoV-2)'ün neden olduğu akut respiratuvar enfeksiyon hastalığıdır (1).

SARS-CoV-2, koronavirüs ailesinden bir virüs olup 2019 yılının son aylarında Çin'in Wuhan kentinde başlayıp dünyaya yayılarak hala (Temmuz 2020) etkin bir şekilde insan avını devam ettiren sinsi bir seri katil gibi tanımlanabilir. Çok çeşitli şekillerde tanımlamalar yapılsa da genel olarak, ani bir cinnet geçirmeden aynı yöntemlerle ve aynı şekilde, genellikle birbirinden farklı zamanlarda üçten fazla cinayet işleyen kişiler 'seri katil' olarak anılırlar. Burada, aslında 'seri' tanımını çoktan bırakıp kitle cinayetleri işlemeye başlamış bir katilin yöntemleri ve makdüllerini nasıl etkilediği özetlemeye çalışılacaktır.

İnsanlık tarihi aslında bugüne kadar çeşitli aralıklarla ortaya çıkan birbirinden farklı, bir kısmı birbiriyle akraba olan çeşitli bakteri ve virüs salgınlarıyla doludur. İnsan soyu zaten kendi çıkardıkları savaşlarda birbirlerini öldürerek evrimsel-sosyolojik seçim süreçlerini devam ettiren aslında toplamda en büyük kayıplarını bu büyük salgınlar esnasında vermiştir. Bu salgınların bir kısmı epidemiyolojik olarak belli bir bölgeye sınırlı kalıp dünya geneline yayılmazken bir kısmı da coğrafik ayırım gözetmeyip neredeyse dünya genelinde cinayetler işlemiştir. Yüzyıllarca, insanları kırıp geçiren veba, kolera ve influenza salgınları milyonlarca insanın ölümüne neden olmuştur. Nihayet öğrenilen temizlik-dezenfeksiyon kuralları ve antibiyotikler sayesinde bakteriyel salgınları azaltma başarılmış olsa da hala virüslere karşı etkin bir başarı sağlanabildiği söylenemez. Üstelik geçmiş zamanlarda ortaya çıkan salgınlarla şimdiki zaman arasında bilimin ve teknolojinin getirdiği avantajlar dışında bazı dezavantajlar da bulunmaktadır. Artık dünya üzerinde ulaşım daha hızlı olduğu için küresel salgınların yayılma hızı da eski zamanlara göre daha hızlıdır. SARS-CoV-2 salgını sırasında artık dünya genelinde iletişim olanağı da daha fazla olduğundan, küresel salgınlar sırasında dezavantaj haline gelen 'ulaşım kolaylığı' sınırlandırılarak küresel salgının etkileri yavaşlatılmaya çalışılmaktadır. Bu da hem daha az kayıp verilmesini hem de bu arada düşmanı daha fazla tanıyabilmek için zaman kazanmayı sağlamaktadır. Koronavirüs hakkında bilinenler henüz sınırlı ve virüsün kullandığı silahların bütün detayları tanınmasa da insan vücudunda yaptığı etkiler tanımlanabilmektedir. Aslında virüsün tanısı da çok kolay değildir zira COVID-19 hastalığının semptomları, mevsimsel grip (influenza) semptomlarına da benzemektedir. Her ikisinde de boğaz ağrısı, ateş, öksürük ve kas ağrıları görülebilirken ikisi arasında önemli belirleyici farklar görülmektedir (1,2). Mesela koronavirüsün bulaş oranı influenza virüslerine göre iki kattan fazladır. İnfluenza, ortalama 1,1 kişiyi enfekte ederken, yeni koronavirüs ortalama 2,5 kişiyi enfekte etmektedir. Tabii ki bu hızlı yayılımın sebeplerinden biri henüz çoğu kişinin bağışıklık kazanmamış olması olabilir, fakat bu hızın nedenini moleküler düzeyde de belirleyerek en kısa zamanda yeni tedavi edici ve/veya önleyici yöntemler geliştirmek gerekmektedir.

Şu anda COVID-19 hastalığına 200'den fazla ülkede rastlanmakta ve ölümler dünya genelinde artış göstermektedir. Vakaların çoğu akut olup hızlıca iyileşir, fakat mortalite oranı yaklaşık %3'tür ve hastalık çok ağır geçebilir veya ölüme sebebiyet verebilir (2).

COVID-19 hakkında henüz bilinmesi gereken herşey bilinmese de özellikle bazı durum ve koşullarda morbidite ve mortalitenin arttığını bilinmektedir. Sigara şu anda en güçlü risk faktörlerinden biri olarak kabul edilmektedir. COVID-19 ilişkili ölüm riskinin sigara içenler arasında %25,8 olduğu belirlenmiştir. Bu durum, sigara içenlerde hava yollarında gerçekleşen yapısal değişiklikler ve bağışıklık tepkilerinin bozulmasıyla açıklanmaktadır. Fakat bunun dışında sigara, hem hümmoral hem de hüccresel immüniteyi de azalmaktadır, yani dolaşımdaki immünoglobülin seviyelerinin ve CD4+ lenfositlerinin azalmasına, fagosit aktivitesinde ve proinflatuar sitokinlerin salınımında azalma gibi

çeşitli değişikliklere neden olarak enfeksiyonlar esnasında durumu daha da kötüleştirmektedir (3,4). Dolayısıyla sigara içmek genel olarak solunum yollarıyla ilgili bütün bakteriyel ve viral enfeksiyonlar için önemli bir risk faktörüdür.

Hipertansiyon, diabetes mellitus gibi kronik hastalıklar ve yaşlılık da COVID-19 enfeksiyonlarında morbiditeyi ve mortaliteyi arttıran faktörlerdir.

COVID-19 hakkındaki önemli ve ilginç bir bilgi de koronavirüs enfeksiyonları sırasında erkeklerdeki ölüm oranının kadınlara göre daha yüksek olmasıdır. Bu durum erkeklerin daha fazla sigara içiyor olmasına bağlanmışsa da kesin neden tam olarak bilinmemektedir, aşağıda cinsiyet kaynaklı farkların sebepleriyle ilgili hipotezlere de değinilecektir.

SARS-CoV-2'nin KULLANDIĞI MEKANİZMALAR

Bilindiği gibi, herhangi bir virüs bir hücreyi enfekte ettiğinde, hedef hücrede replike olarak vücutta hızla yayılmaya başlar. Her virüsün hedeflediği hücreler ve organlar farklıdır. SARS-CoV-2'nin yüzeyindeki S-proteiniyle (Spike proteini = diken proteini) hedef hücrelerdeki anjiyotensin-dönüştürücü enzim2 (ACE2) reseptörüne bağlandığı belirlenmiştir. ACE2 bu virüsün hedef hücreye girmesinde rol alan en önemli protein olarak belirlenmiştir (5-7). Bunun dışında koronavirüsle ilgili yapılan çalışmalar sırasında kötü prognozdan sorumlu olabilecek bir protein daha ön plana çıkmıştır; high mobility group box 1 protein (HMGB1) olarak isimlendirilen bu protein normal koşullarda nekrotik hücrelerden ve/veya makrofaj ve monositlerden salınan, sistemik ve pulmoner enflamasyonun geç dönem başlatıcısı olan bir proteindir. Bu nedenle anti-HMGB1 antikorlarının ölümcül endoksemi, sepsis ve akut akciğer hasarına karşı koruyucu olabileceği düşünülmektedir. ACE2'nin aşırı eksprese edilmesinin HMGB1 düzeylerini düşürdüğü belirlenmiştir (8). SARS-CoV-2 virüsünün de hücreye girdikten sonra replike olurken ACE2'nin düşmesine neden olduğu, böylece de HMGB1 düzeylerini arttırarak sitokin fırtınasına yol açtığı; dolayısıyla da HMGB1'in COVID-19 enfeksiyonlarındaki kötü prognoza katkıda bulunuyor olabileceği ileri sürülmüştür (6,9).

HMGB1'in, hasara neden olan ne olursa olsun, akut akciğer hasarında hastalığın gelişiminde önemli bir rol oynayacağı düşünülmektedir. Şiddetli COVID-19 enfeksiyonlarında, kanserojen HMGB1 proteini akciğerlere büyük miktarda salınarak pnömoniye ve doku hasarına yol açabilmektedir (10). Dolayısıyla da şu anda araştırmacılar, bu şiddetli enflamatuvar reaksiyonların HMGB1'i inhibe eden ilaçlarla ya da bu proteine karşı geliştirilen antikorlarla tedavi edilebileceğine inanmaktadırlar. Fareler üzerinde yapılan deneyler, oksijen damarlarının oksijen eksikliğine duyarlılığında cinsiyet farklılıkları olduğunu göstermiştir. Dişi akciğer hücreleri, şiddetli oksijen eksikliğinde apoptoz nedeniyle ölüp HMGB1 salınımı yapamazken, erkek farelerde oksijen eksikliği, HMGB1'in yoğun bir şekilde salınmasına yol açar ve ölüm daha çok nekrotik tarzda gerçekleşir (10). Şiddetli viral enfeksiyonlar, vücudun bağışıklık sisteminin invazif virüse aşırı tepki vermesine ve büyük miktarlarda sitokin üretmeye başlamasına neden olarak sitokin fırtınasına yol açabilir. Bu da ciddi hastalıklara ve ölüme yol açabilecek ciddi iltihaplanmalara ve doku hasarına neden olabilir. Bu sitokin fırtınalarına katkıda bulunan moleküllerden biri, pro-enflamatuvar protein HMGB1'dir.

SARS-CoV-2'nin kullandığı temel patojenik moleküler mekanizmalardan biri de, Hemogloblin (Hb) Beta-1 zincirine saldırmak ve yapısındaki demiri ayırarak demiri dolaşımda serbest bırakmaktır (11). Hb, bu şekilde oksijenle bağlanma kapasitesini kaybeder ve ana organlara oksijen verilemez. Oluşan ferroptozise bağlı gelişen lipoferoksidasyonu takiben hızla gelişen çoklu organ yetmezliği ile birlikte dirençli hipoksiye katkıda bulunur (12,13). Ayrıca, dolaşıma salınan serbest demir, akciğerlerde güçlü

bir oksidatif hasara neden olabileceği için de çok toksiktir (14). Kısır döngüye gidiş bununla da kalmaz, serbest demirden kaynaklanan toksisite alveoler makrofajların enflamasyona katılmasına neden olarak göğüs tomografilerindeki karakteristik değişikliklere yol açar (15). Vücut ise Hb sentez oranını artırarak bu durumu telafi etmeye çalışır. Bu da hastalarda Hb'nin ve ferritinin neden yüksek olduğunu açıklar. Oluşan monositozun nedeni vücudun fazla demir yükünü yutmak için makrofajlara ihtiyaç duymasından, lenfopeninin nedeni de yine aynı nedenle lökosit (White Blood Cell: WBC) farklılaşmasının lenfositlerden değil monositlerden yana olmasıdır (15).

Bütün bu bilinen, araştırılan ve maalesef henüz bilinmeyenlere bağlı olarak koronavirüs enfeksiyonlarında karşılaşılan laboratuvar bulgularına odaklanarak ilginç klinik bulgulara açıklama getirilmeye çalışılmaktadır.

KORONAVİRÜSTE LABORATUVAR BULGULARI

Koronavirüsün insan vücudunda yaptığı ve sadece şu ana kadar yalnızca bir kısmı belirlenebilmiş olan bu etkilere bağlı olarak klinikte ilginç laboratuvar bulgularıyla karşı karşıya kalınmaktadır. Klinikte ARDS'ye benzeyen ama çok da tipik olmayan bulgular, yüksek pozitif son ekspiratuvar basınç (positive end expiratory pressure: PEEP) ve solunan havanın oksijen oranı (Fraction of inspired oxygen: FiO₂), hızla oluşan belirgin hipoksemi ile orantısız yer yer cam görüntüsünde bilgisayarlı tomografi (BT) bulguları, enfeksiyonun şiddetiyle orantısız derecede yüksek D-dimer seviyeleri; virüsün çekirdeği ve DNA'sı olmayan olgun kırmızı kan hücrelerine saldırıyor olması, durumu iyice ilginç ve içinden çıkılması zor bir hale sokmaktadır (16).

Özetle, hastalığın hafif formlarında lenfopeni (en yaygın bulgu), lökopeni, CRP artışı izlenirken ilerlemiş formlarında ise AST, ALT, CK, D-dimer, ferritin ve LDH artışlarına rastlanmaktadır (17,18).

Çok miktarda immün sistem hücresi aşırı aktive olarak yoğun miktarlarda sitokin ve kemokin (TNF- α , interferon- γ (IFN- γ), IL-6, IL-8) salınımı ile akut respiratuvar distress sendromuna (ARDS), iskemiye ve hipoksiye neden olur, bu da ileri hücre hasarı ve nekrozla sonuçlanır (18). Oluşan kısır döngü sadece akciğer hasarına yol açmaz, aynı zamanda karaciğer, miyokard ve böbrek hasarına da yol açarak hastayı çoklu organ yetmezliğine götürebilir.

Hastanelerde takip edilen vakaların yarısında karaciğer enzimlerinin yüksek olduğu gözlenmektedir. Bu durum bağışıklık sisteminin yoğun çalışmasından kaynaklanabileceği gibi olası ek sebepler de mutlaka detaylı olarak incelenmelidir. Hasta takipleri esnasında hastaların %14,8 ila %53'ünde karaciğer hasarına rastlanmaktadır (20,21). COVID-19 nedeniyle kaybedilen hastaların biyopsileriyle yapılan çalışmalarda karaciğer dokusunda orta dereceli mikrovasküler steatoz ve orta derecede portal ve lobüler aktivite görülürken bazı çalışmalarda da sinüzoidal dilatasyon, hepatik nekroz, sinüzoidal lenfositlerde artış izlenmiştir (22-24).

Virüsün direkt neden olduğu karaciğer hasarı dışında, immün yetersizlik, sistemik enflamatuvar yanıt sendromu (SIRS), sitokin salgıları, iskemi ve hipoksik reperfüzyon hasarı da karaciğer hasarına neden olabilmektedir; yani hem direkt hem de indirekt hasarlanmalar nedeniyle karaciğer hasarı görülebilmektedir (21,25).

COVID-19 hastalarında ayrıca 'hiperferritinemi sendromları' olarak bilinen bir grup hastalıkla da ortak özelliklere rastlanmıştır. Bu hastalarda yüksek ferritin düzeylerine ve sitokin deşarjıyla birlikte süren ve yaşamı tehdit edecek düzeyde hiperenflamasyona ve dolayısıyla da çoklu organ yetmezliklerine rastlanabilmektedir (26). COVID-19'un bazı özellikleri hiperferritinemik sendromların bir üyesiymiş

kadar benzerdir: lenfopeni, NK aktivitesindeki ve sayısındaki düşmeler, anormal karaciğer fonksiyon testleri, koagulopati ve hiperferritinemi gibi (27).

Çinli bilimadamları ileri vakalarda hastaların koagulopati ağırlıklı respiratuvar distres sendromu geliştirebileceklerini tespit etmişlerdir. Ölen vakaların %71,4'ünün dissemine intravasküler koagülasyon (DIC) kriterlerini karşıladığı belirlenmiştir. Yapılan çalışmalarda hastalardaki PT düzeylerinin sağlıklı kontrollere göre düşük olduğu, ancak hayatını kaybeden vakalarda zaman zaman diğer hastalara göre daha uzun PT ve PTT oranlarına rastlandığı saptanmıştır. Ayrıca D-dimer ve fibrin/fibrinojen yıkım ürünlerindeki (FDP) farkların daha büyük olduğu da belirtilmiştir. Özellikle de D-dimer değerindeki artışın ileri derecede hasta kişilerde daha belirgin derecede arttığı saptanmıştır (2,28-31). İlginç olarak, COVID-19'da trombositopeniye rastlandığı gibi trombositoz vakalarına da rastlanabilmektedir ve her iki durumdaki hastaların da hastanede kalış sürelerinin daha uzun olduğu belirlenmiştir (22).

Demir yükü ve artan Hb üretimi, tekrarlayan ve yaygın mikro- ve makrodolaşım trombozu ile birlikte artan kan viskozitesine yol açar, bu nedenle hastalarda yüksek D-dimer seviyeleri tespit edilir. Bu durum, bazı sporadik vakalardaki aniden fenalaşmanın ve ölümün nedenini açıklar. Oluşan yaygın tromboz durumu hastalık mağdurlarının otopsileriyle kanıtlanmış olup durumun gerçek bir ARDS olmadığı gözlenmiştir. Bu teori de neden hastaları bu kadar hızlı kaybettiğimizi; mekanik ventilasyonun tedavide neden çok da etkili olmadığını; ARDS'de mekanik ventilasyon protokolü kullanmanın neden yeterince fayda sağlamadığını, hatta bazen daha fazla hasarlanmaya yol açtığını açıklayabilir (18). Bütün bu durumların toplamı ferritini de COVID-19 için bir kötü prognoz göstergesi yapar. Yani ortamda ne kadar çok demir birikiyorsa bu Hb'in O₂ taşıma kapasitesini o kadar çok kaybettiği anlamına gelir. Tam bu noktada antimalaryal ilaçlardan Klorokin, Hb'yi sıtma parazitleri tarafından istila edilmeye karşı koruduğu gibi COVID-19'da da hemen hemen aynı şeyi yaparak Hb'yi virüsün istilasına karşı korur. Çünkü Klorokin porfirin ile rekabet ederek viral proteine bağlanır, böylece viral proteinin hemoglobine saldırmasını veya porfirine bağlanmasını engeller. Klorokin'in endozomal pH'ı arttırdığı, bu şekilde de virüs/hücre füzyonunu engellediği belirlenmiştir. Bu ilaç ayrıca SARS-CoV'un bağlandığı hücre yüzey reseptörlerinin glikozillenmesine de neden olmaktadır (32,33).

KAYNAKLAR / REFERENCES

1. Lu H, Stratton CW, Tang YW. Outbreak of pneumonia of unknown etiology in Wuhan, China: the mystery and the miracle. *J Med Virol.* 2020; 92(4): 401-2.
2. Guan WJ, Ni ZY, Hu Y, Liang WH, Ou CQ, He JX, et al. China Medical Treatment Expert Group for Covid-19. Clinical Characteristics of Coronavirus Disease 2019 in China. *N Engl J Med.* 2020; 382(18):1708-20.
3. Arcavi L, Benowitz NL. Cigarette smoking and infection. *Arch Intern Med.* 2004 Nov 8;164(20):2206-16.
4. Ahmed N, Maqsood A, Abduljabbar T, Vohra F. Tobacco Smoking a Potential Risk Factor in Transmission of COVID-19 Infection. *Pak J Med Sci.* 2020; 36(COVID19-S4): S104-7.
5. Xu X, Chen P, Wang J, Feng J, Zhou H, Li X, et al. Evolution of the novel coronavirus from the ongoing Wuhan outbreak and modeling of its spike protein for risk of human transmission. *Sci China Life Sci.* 2020; 63(3): 457-60.
6. Zhang H, Penninger JM, Li Y, Zhong N, Slutsky AS. Angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2) as a SARS-CoV-2 receptor: molecular mechanisms and potential therapeutic target. *Intensive Care Med.* 2020; 46(4): 586-90.
7. Letko M, Marzi A, Munster V. Functional assessment of cell entry and receptor usage for SARS-CoV-2 and other lineage β -coronaviruses. *Nat Microbiol.* 2020; 5(4): 562-9.
8. Qi YF, Zhang J, Wang L, Shenoy V, Krause E, Oh SP, et al. Angiotensin-converting enzyme 2 inhibits high-mobility group box 1 and attenuates cardiac dysfunction post-myocardial ischemia. *J Mol Med (Berl).* 2016; 94(1): 37-49.
9. Kuba K, Imai Y, Rao S, Gao H, Guo F, Guan B, et al. A crucial role of angiotensin converting enzyme 2 (ACE2) in SARS coronavirus-induced lung injury. *Nat Med.* 2005; 11(8): 875-9.

10. Andersson U, Ottestad W, Tracey KJ. Extracellular HMGB1: a therapeutic target in severe pulmonary inflammation including COVID-19? Version 2. *Mol Med*. 2020; 26(1): 42.
11. Liu W and Li H. COVID-19: Attacks the 1-Beta Chain of Hemoglobin and Captures the Porphyrin to Inhibit Human Heme Metabolism. 2020. *ChemRxiv*. Preprint. <https://doi.org/10.26434/chemrxiv.11938173.v9>
12. Cavezzi A, Troiani E, Corrao S. COVID-19: hemoglobin, iron, and hypoxia beyond inflammation. A narrative review. *Clin Pract*. 2020; 10(2): 1271.
13. Hirschhorn T, Stockwell BR. The development of the concept of ferroptosis. *Free Radic Biol Med*. 2019; 133: 130-43.
14. Cao D, Zheng J, Xian LF, Tang GM, Sun XJ, Xu WG, et al. Role of iron in lung injury-induced by hyperoxia. *Undersea Hyperb Med*. 2014; 41(1): 27-31.
15. Ganz T. Macrophages and Iron Metabolism. *Microbiol Spectr*. 2016;4(5). doi: 10.1128/microbiolspec.MCHD-0037-2016
16. Grasselli G, Zangrillo A, Zanella A, Antonelli M, Cabrini L, Castelli A, et al. Baseline Characteristics and Outcomes of 1591 Patients Infected With SARS-CoV-2 Admitted to ICUs of the Lombardy Region, Italy. *JAMA*. 2020; 6(16): 1574-81.
17. Gao Y, Li T, Han M, Li X, Wu D, Xu Y, et al. Diagnostic utility of clinical laboratory data determinations for patients with the severe COVID-19. *J Med Virol*. 2020; 92(7): 791-6.
18. Zheng Y, Sun LJ, Xu M, Pan J, Zhang YT, et al. Clinical characteristics of 34 COVID-19 patients admitted to intensive care unit in Hangzhou, China. Version 2. *J Zhejiang Univ Sci B*. 2020; 21(5): 378-87.
19. Yao N, Wang SN, Lian JQ, Sun YT, Zhang GF, Kang WZ, et al. Clinical characteristics and influencing factors of patients with novel coronavirus pneumonia combined with liver injury in Shaanxi region. *Zhonghua Gan Zang Bing Za Zhi*. 2020; 28(3): 234-9.
20. Hu LL, Wang WJ, Zhu QJ, Yang L. Novel coronavirus pneumonia related liver injury: etiological analysis and treatment strategy. *Zhonghua Gan Zang Bing Za Zhi*. 2020; 28(2): 97-9.
21. Qu R, Ling Y, Zhang YH, Wei LY, Chen X, Li X, et al. Platelet-to-lymphocyte ratio is associated with prognosis in patients with Corona Virus Disease19. *J Med Virol*. 2020;10.1002/jmv.25767. doi: 10.1002/jmv.25767.
22. Xu Z, Shi L, Wang Y, Zhang J, Huang L, Zhang C, et al. Pathological findings of COVID-19 associated with acute respiratory distress syndrome. *Lancet Respir Med*. 2020; 8(4): 420-2.
23. Tian SF, Xiong Y, Liu H, Niu L, Guo J, Liao M et al. Pathological study of the 2019 novel coronavirus disease (COVID-19) through post-mortem core biopsies. *Mod Pathol*. 2020; 33:1007-14.
24. Li YY, Xiao SY. Hepatic involvement in COVID-19 patients: pathology, pathogenesis and clinical implications *J Med Virol*. 2020. doi: 10.1002/jmv.25973.
25. Zhang C, Shi L, Wang F. Liver injury in COVID-19: management and challenges. *Lancet Gastroenterol Hepatol*. 2020; 5(5): 428-30.
26. Shoenfeld Y. Corona (COVID-19) time musings: our involvement in COVID-19 pathogenesis, diagnosis, treatment and vaccine planning. *Autoimmun Rev*. 2020; 19(6): 102538. doi: 10.1016/j.autrev.2020.102538
27. Rosário C, Zandman-Goddard G, Meyron-Holtz EG, D'Cruz DP, Shoenfeld Y. The hyperferritinemic syndrome: macrophage activation syndrome, Still's disease, septic shock and catastrophic antiphospholipid syndrome. *BMC Med*. 2013; 11: 185.
28. Tang N, Li D, Wang X, Sun Z. Abnormal coagulation parameters are associated with poor prognosis in patients with novel coronavirus pneumonia. *J Thromb Haemost*. 2020; 18(4): 844-7.
29. Han H, Yang L, Liu R, Liu F, Wu KL, Li J, et al. Prominent changes in blood coagulation of patients with SARS-CoV-2 infection. *Clin Chem Lab Med*. 2020; 58(7): 1116-20.
30. Huang C, Wang Y, Li X, Ren L, Zhao J, Hu Y, et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *Lancet* 2020; 395: 497-506.