

T.C.
BİLECİK ŞEYH EDEBALI ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
BİYOMÜHENDİSLİK ANABİLİM DALI

**COVID-19 PATOGENEZİNİN MOLEKÜLER DÜZEYDE TANIMLANMASI VE
TAHMİNİ İÇİN SPEKTROKİMYASAL VE AÇIKLANABİLİR YAPAY ZEKÂ
YAKLAŞIMLARININ BİRLİKTE DEĞERLENDİRİLMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

GÖRKEM TOKGÖZ

TEZ DANIŞMANI
DOÇ. DR. RAFİG GURBANOV

BİLECİK, 2025

10688324

T.C.
BİLECİK ŞEYH EDEBALI ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
BİYOMÜHENDİSLİK ANABİLİM DALI

**COVID-19 PATOGENEZİNİN MOLEKÜLER DÜZEYDE TANIMLANMASI VE
TAHMİNİ İÇİN SPEKTROKİMYASAL VE AÇIKLANABİLİR YAPAY ZEKÂ
YAKLAŞIMLARININ BİRLİKTE DEĞERLENDİRİLMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

GÖRKEM TOKGÖZ

TEZ DANIŞMANI
DOÇ. DR. RAFİG GURBANOV

BİLECİK, 2025

10688324

BEYAN

“COVID-19 Patogenezinin Moleküler Düzeyde Tanımlanması ve Tahmini için Spektrokimyasal ve Açıklanabilir Yapay Zekâ Yaklaşımlarının Birlikte Değerlendirilmesi” adlı yüksek lisans tezinin hazırlık ve yazımı sırasında bilimsel araştırma ve etik kurallarına uyduğumu, başkalarının eserlerinden yararlandığım bölümlerde bilimsel kurallara uygun olarak atıfta bulunduğumu, kullandığım verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı, tezin herhangi bir kısmının Bilecik Şeyh Edebali Üniversitesi veya başka bir üniversitede başka bir tez çalışması olarak sunulmadığını, aksinin tespit edileceği muhtemel durumlarda doğabilecek her türlü hukuki sorumluluğu kabul ettiğimi ve vermiş olduğum bilgilerin doğru olduğunu beyan ederim.

Bu tez çalışmasında Bilecik Şeyh Edebali Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projesi (BAP) “COVID-19 Patogenezinin Moleküler Düzeyde Tanımlanması ve Tahmini için Spektrokimyasal ve Açıklanabilir Yapay Zekâ Yaklaşımlarının Birlikte Değerlendirilmesi” adlı, 2023-01.BŞEÜ.25-01 nolu projeden destek alınmıştır. Bu tez çalışması 050.04.01–210460 numaralı etik kurul kararı kapsamında yürütülmüştür.			
DESTEK ALINMIŞTIR	X	DESTEK ALINMAMIŞTIR	
Destek alındı ise;			
Destekleyen kurum; Bilecik Şeyh Edebali Üniversitesi			
Desteğin Türü		Proje Numarası	
1- BAP (Bilimsel Araştırma Projesi)		2023-01.BŞEÜ.25-01	
2- TÜBİTAK			
Diğer;.....			
ETİK KURUL onayı var ise;			
ETİK KURUL karar tarih/sayı:		20.10.2023/050.04.01–210460	

Görkem TOKGÖZ

Tarih

İmza

ÖN SÖZ

Tez çalışmam boyunca danışmanlığımı yürüten ve tez konumun belirlenmesinden çalışmanın sonuçlandırılmasına kadar değerli görüş ve önerilerini sunan, bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım, yardımlarını ve desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen Doç. Dr. Rafiq GURBANOV'a sonsuz teşekkürlerimi ve saygılarımı sunarım.

Çalışmalarım boyunca bilgilerinden yararlandığım, desteklerini hiçbir şekilde esirgemeyen ve her koşulda yanımda olan Öğr. Gör. Sevinç KARAÇAM KOŞ ve Arş. Gör. Kevser Kübra KIRBOĞA'ya sonsuz teşekkür ederim.

Yüksek lisans eğitimim de dâhil olmak üzere hayatımın her anında maddi ve manevi destekleriyle yanımda olan çok kıymetli annem Mesure TOKGÖZ, çok kıymetli babam İsmet TOKGÖZ, kardeşim Gökhan TOKGÖZ ve diğer aile bireylerime sonsuz teşekkür ederim.

Yoğun tempolu bu süreçte desteklerini esirgemeyen, beni hiç yalnız bırakmayan, zor anlarımı paylaştığım, maddi ve manevi yanımda olan diğer hocalarım ve arkadaşlarıma sonsuz teşekkür ederim.

Görkem TOKGÖZ

2025

ÖZET

COVID-19 PATOGENEZİNİN MOLEKÜLER DÜZEYDE TANIMLANMASI VE TAHMİNİ İÇİN SPEKTROKİMYASAL VE AÇIKLANABİLİR YAPAY ZEKÂ YAKLAŞIMLARININ BİRLİKTE DEĞERLENDİRİLMESİ

Bu tez çalışması, ATR-FTIR spektroskopisi ile spektrokimyasal ve açıklanabilir yapay zekâ (AYZ) yaklaşımlarının birleştirilmesiyle COVID-19 hastalarındaki moleküler değişiklikleri ve hastalık ilerlemesini incelemektedir. Entübe hastalardan (EC), hastane hizmetleri alan hastalardan (SC) ve iyileşen hastalardan (PC) alınan kan serumu örnekleri, olası spektrokimyasal serum biyobelirteçlerini belirlemek amacıyla analiz edilmiştir. Lipid, protein, nükleik asit konsantrasyonları ve IgG glikozilasyonu gibi spektrokimyasal parametreler kantifize edilerek hastalık şiddetini yansıtan önemli değişiklikler ortaya konmuştur. Özellikle, EC hastalarında SC ve PC gruplarına kıyasla artmış lipid içeriği, değişmiş protein konsantrasyonları ve artırılmış protein fosforilasyonu gözlemlenmiştir. Serum AGR (Albümin/Globulin Oranı) indeksi hasta grupları arasında belirgin farklılık göstermekte olup COVID-19 şiddeti için hızlı bir biyokimyasal belirteç olma potansiyeli taşımaktadır. Buna ek olarak, IgG glikozilasyonu ve glukoz konsantrasyonlarındaki değişikliklerin hastalık şiddeti ile ilişkili olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca ağır hasta gruplarının (EC ve SC) serum IgG, IgM ve IgA antikor seviyelerinde PC gruba göre artış gözlemlenmiştir. Spektral analiz, EC hastalarında gözlemlenen belirgin değişikliklerle nükleik asit konsantrasyonlarını gösteren spesifik bantları vurgulamaktadır. AYZ teknikleri, COVID-19'un etkisinin heterojenliğini vurgulamakta ve hasta kategorileri arasında hastalık şiddetini tahmin etmede çeşitli spektral özelliklerin önemini daha belirgin hale getirmektedir. Genel olarak, bu kapsamlı yaklaşım COVID-19 patogenezinin altında yatan moleküler mekanizmalara dair önemli içgörüler sunmakta ve karar alma süreçlerine ve hasta yönetimine yardımcı olmak amacıyla şeffaf ve yorumlanabilir bir tahmin algoritması önerilmektedir.

Anahtar Kelimeler: COVID-19, FTIR, Biyomarker, Açıklanabilir Yapay Zekâ, Shapley Açıklamaları, İmmüoglobulinler

ABSTRACT

CO-EVALUATION OF SPECTROCHEMICAL AND EXPLAINABLE ARTIFICIAL INTELLIGENCE APPROACHES FOR MOLECULAR-LEVEL IDENTIFICATION AND PREDICTION OF COVID-19 PATHOGENESIS

This thesis study explores the molecular alterations and disease progression in COVID-19 patients using ATR-FTIR spectroscopy combined with spectrochemical and explainable artificial intelligence (XAI) approaches. Blood serum samples from intubated patients (IC), those receiving hospital services (SC), and recovered patients (PC) were analyzed to identify potential spectrochemical serum biomarkers. Spectrochemical parameters such as lipid, protein, nucleic acid concentrations, and IgG glycosylation were quantified, revealing significant alterations indicative of disease severity. Notably, increased lipid content, altered protein concentrations, and enhanced protein phosphorylation were observed in IC patients compared to SC and PC groups. The serum AGR (Albumin/Globulin Ratio) index demonstrated a distinct shift among patient groups, suggesting its potential as a rapid biochemical marker for COVID-19 severity. Additionally, alterations in IgG glycosylation and glucose concentrations were associated with disease severity. Additionally, an increase in serum IgG, IgM, and IgA antibody levels was observed in the severely ill patient groups (EC and SC) compared to the PC group. Spectral analysis highlighted specific bands indicative of nucleic acid concentrations, with notable changes observed in IC patients. XAI techniques further elucidated the importance of various spectral features in predicting disease severity across patient categories, emphasizing the heterogeneity of COVID-19's impact. Overall, this comprehensive approach provides insights into the molecular mechanisms underlying COVID-19 pathogenesis and offers a transparent and interpretable prediction algorithm to aid decision-making and patient management.

Keywords: COVID-19, FTIR, Biomarker, Explainable Artificial Intelligence, Shapley Explanations, Immunoglobulins

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

ÖN SÖZ.....	i
ÖZET.....	ii
ABSTRACT.....	iii
İÇİNDEKİLER.....	iv
TABLolar LİSTESİ.....	vi
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	vii
KISALTMALAR VE SİMGELER LİSTESİ.....	ix
1. GİRİŞ.....	1
2. LİTERATÜR ÖZETİ.....	4
2.1. COVID-19 ve SARS-COV-2.....	4
2.2. COVID-19'un Semptomları.....	5
2.3. COVID-19 Tespit Yöntemleri.....	6
2.3.1. Moleküler Testler (RT-PCR).....	6
2.3.2. Antijen Testleri.....	6
2.3.3. Antikor Testleri (Serolojik Testler).....	7
2.3.4. Görüntüleme Yöntemleri.....	7
2.4. Zayıflatılmış Toplam Yansıma Fourier Dönüşümlü Kızılötesi (ATR-FTIR) Spektroskopisi.....	7
2.4.1. ATR-FTIR Spektroskopisinin COVID-19 Teşhisindeki Önemi.....	8
2.5. İmmüoglobulinler.....	11
2.5.1. İmmüoglobulinler ve COVID-19 Patogenezine İlişkin Kapsamlı Değerlendirme.....	11
3. MATERYAL ve METOD.....	14
3.1. Spektrokimyasal Yöntemler.....	14
3.1.1. Örneklenen Popülasyon ve Tıbbi Değerlendirme.....	14

3.1.2. ATR-FTIR Spektroskopisi Ölçümleri ve Veri Analizi.....	14
3.2. Biyokimyasal Çalışmalar	15
3.2.1. Tek Değişkenli İstatistikler.....	15
3.3. Açıklanabilir Yapay Zekâ Yöntemleri	16
3.3.1 Veri Ön İşleme.....	16
3.3.2. Hasta Temelli Modeller	17
3.3.3. Model Geliştirme	17
3.3.4. Permütasyon Özellik Önemi.....	17
3.3.5. Açıklanabilir Yapay Zekâ (AYZ).....	18
3.4. SDS-PAGE Elektroforezi ve Western Blot Yöntemleri.....	19
4. BULGULAR	21
4.1. Moleküler Yapı ve Özelliklerin Spektrokimyasal Karakterizasyonu	21
4.2. Açıklanabilir Yapay Zekâ Bulguları	29
4.2.1. Model Geliştirme ve Doğrulama	29
4.2.2. Permütasyon Özellik Önemi (PFI).....	31
4.2.3. Shapley Eklemeli exPlanations	32
4.3. Serum Proteinlerinin İmmünblotlama Sonuçları.....	33
5. TARTIŞMA.....	37
6. SONUÇ	44
KAYNAKÇA.....	45
EKLER.....	56

TABLULAR LİSTESİ

	Sayfa
Tablo 3.1. SDS-PAGE için ayırma ve yığılma jeli hazırlama prosedürü.....	19
Tablo 4.1. 3800-650 cm ⁻¹ kızılötesi spektral bölgesindeki Entübe COVID-19 (EC), Servis COVID-19 (SC) ve Post-COVID (PC) hastaların ortalama serum spektrumlarında kritik değişimler gözlemlenen bantlar ve tanımlamaları.	22
Tablo 4.2. COVID-19 hastalarının serumlarından elde edilen kızılötesi spektral bantların tanımlamaları.....	22
Tablo 4.3. Birleşik sınıflandırma modeli performansı.....	30

ŞEKİLLER LİSTESİ

Sayfa

- Şekil 4.1.** Entübe COVID-19 (EC), Servis COVID-19 (SC) ve Post-COVID (PC) hastalardan alınan serumun (a) 3800-2800 cm^{-1} ve (b) 1800-650 cm^{-1} kızılötesi spektral bölgelerindeki taban çizgisi düzeltilmiş ortalama spektrumları. Taban çizgisi düzeltme, 64 temel nokta ile Rubberband düzeltme yöntemi kullanılarak gerçekleştirilmiştir. **21**
- Şekil 4.2.** Lipitle ilişkili moleküler özelliklerdeki spektrokimyasal değişiklikler. (a) lipid/protein içeriği ($A_{2920+2852}/A_{1652+1538}$), (b) CH_2 antisimetrik (2920 cm^{-1}), (c) CH_2 simetrik (2852 cm^{-1}), (d) doymuş lipid içeriği ($A_{2852}/A_{2920+2852}$), (e) Kolesterol esterleri (ester $\text{C}=\text{O}$ germe/ 1748 cm^{-1}) ve (f) açıl zincir uzunluğu indeksi (A_{2920}/A_{2974}). Anlamlılık derecesi * $p \leq 0.05$, ** $p \leq 0.01$, *** $p \leq 0.001$ olarak gösterilmiştir. **24**
- Şekil 4.3.** Proteinle ilişkili moleküler özelliklerdeki spektrokimyasal değişiklikler. (a) Amid A (3356 cm^{-1}), (b) CH_3 simetrik (2873 cm^{-1}), (c) Amid I (1652 cm^{-1}), (d) Amid II (1538 cm^{-1}), (e) Amid III (1293 cm^{-1}), (f) protein konsantrasyon indeksi ($A_{1652}/A_{1652+1538}$), (g) protein konformasyon indeksi (A_{1652}/A_{1538}) ve (h) protein fosforilasyon indeksi (A_{1074}/A_{1538}). Anlamlılık derecesi * $p \leq 0.05$, ** $p \leq 0.01$, **** $p \leq 0.0001$ olarak gösterilmiştir. **25**
- Şekil 4.4.** (a) Albümin-globülin (AGR) indeksi, (b) IgG glikozilasyonu ($\text{C}=\text{O}/A_{1783} \text{ cm}^{-1}$) ve (c) glukoz/protein indeksi ($A_{1030}/A_{1652+1538}$) için moleküler özelliklerdeki değişiklikler ve bunlara karşılık gelen ROC eğrileri. Anlamlılık derecesi * $p \leq 0.05$, ** $p \leq 0.01$, *** $p \leq 0.001$, **** $p \leq 0.0001$ olarak gösterilmiştir. **26**
- Şekil 4.5.** (a) nükleik asit/protein indeksi ($A_{1235+1074}/A_{1652+1538}$), (b) C-H deformasyonu (720 cm^{-1}) ve (c) atanmamış bant (659 cm^{-1}) için moleküler özelliklerde karşılık gelen ROC eğrileri ile spektrokimyasal değişiklikler. Anlamlılık derecesi ** $p \leq 0.01$, *** $p \leq 0.001$, **** $p \leq 0.0001$ olarak gösterilmiştir. **28**
- Şekil 4.6.** En iyi performans gösteren Rastgele Orman Sınıflandırıcı (RFC) modeli algoritmasının ROC/AUC eğrisi ve karışıklık matrisi. **30**
- Şekil 4.7.** Örneklerde ve dalga sayısı sınıflandırmalarında Permütasyon Özelliği önem değerleri ve çubuk grafiği. **32**
- Şekil 4.8.** Örneklerde açıklanabilir makine öğrenmesi sonucu oluşan SHapley değerlerine göre önemi belirlenen özet grafiği ve dalga sayısı sınıflandırması. **33**

Şekil 4.9. Entübe COVID hastaların ponceau jel görüntüsü (a), Servis COVID hastaların ponceau jel görüntüsü (b) ve Post-COVID hastaların ponceau jel görüntüsü (c)..... **34**

Şekil 4.10. Entübe COVID hastaların Western Blot membran görüntüsü (a), Servis COVID hastaların Western Blot membran görüntüsü (b) ve Post-COVID hastaların Western Blot membran görüntüsü (c). **35**

KISALTMALAR VE SİMGELER LİSTESİ

COVID-19: Koronavirüs Hastalığı 2019

SARS-CoV-2: Şiddetli Akut Solunum Yolu Sendromu koronavirüsü 2

MERS-CoV: Orta Doğu Solunum Sendromu Koronavirüsü

EC: Entübe COVID-19, Entübe edilmiş hastalar

SC: Servis COVID-19, Hastanede servis hizmeti gören hastalar

PC: Post-COVID-19, Hastalığı atlattığı hastalar

YZ: Yapay Zekâ

AYZ: Açıklanabilir Yapay Zekâ

AGR: Albümin/Globulin Oranı

IR: Kızılötesi

FTIR spektroskopisi: Fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi

RNA: Ribonükleik Asit

Zn/Se: Çinko selenid

RT-PCR: Ters Transkripsiyon Polimeraz Zincir Reaksiyonu

ATR-FTIR spektroskopisi: Zayıflatılmış Toplam Yansıma Fourier Dönüşümlü Kızılötesi spektroskopisi

N₂: Azot Gazı

RFC: Rastgele Orman Sınıflandırıcısı

SVM: Destek Vektör Makinesi Sınıflandırıcısı

DTC: Karar Ağacı Sınıflandırıcısı

PFI: Permütasyon Özellik Önemi

Ig: İmmünoglobulin

IgA: İmmünoglobulin A

IgG: İmmünoglobulin G

IgM: İmmünoglobulin M

SDS-PAGE Elektroforezi: Sodyum Dodesil Sülfat–Poliakrilamid Jel Elektroforezi

Fc: Kristalize olan fragment

cfDNA: Hüresiz DNA

PVDF: Poliviniliden florür

cm: Santimetre

µL: Mikrolitre

mL: Mililitre

°C: Santigrat

v/v: Hacimce yüzde

w/v: Ağırlık hacimce yüzde

V: Voltaj

mA: Miliamper

mM: Milimolar

β: Beta

g/L: Litre başına gram

g: Gram

vd: ve diğçerleri

1. GİRİŞ

2019 yılının sonunda insanlık, Şiddetli Akut Solunum Sendromu Koronavirüs 2 (SARS-CoV-2) virüsünün neden olduğu koronavirüs hastalığı 2019 (COVID-19) ile karşı karşıya kaldı. SARS-CoV-2'nin hızlı ve dünya çapındaki yayılımını takiben, Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) 11 Mart 2020'de COVID-19'u küresel bir pandemi olarak ilan etti (World Health Organization, 2020). Koronavirüsler solunum, gastrointestinal, hepatik ve nörolojik hastalıklara neden olan, insanlarda, diğer memelilerde ve kuşlarda yaygın olarak bulunan zarf yapılı, segmentlenmemiş, pozitif anlamlı RNA virüsleridir. Tüm yedi koronavirüs suşunun insan hastalığına neden olduğu bilinmekte olup, bağışık olmayan bireylerde genellikle soğuk algınlığı semptomlarına yol açmaktadır. Aynı zamanda, SARS-CoV-2 şiddetli zatürre ve soğuk algınlığı belirtileri gibi birçok klinik bulgu göstermektedir (Durdagi vd., 2022). Bu hastalığın patogenezi, virüsün insan hücrelerine bağlanmasıyla başlayan karmaşık bir süreçtir. Spektrokimyasal yöntemler, hastalık patogenezinin moleküler düzeyde öngörülmesinde önemli araçlar olarak kullanılmaktadır. Spektroskopi, son zamanlarda biyomedikal uygulamalarda bir araç haline gelmiş ve klinik değerlendirmelerde önemli ilerlemeler kaydetmiştir. Fourier dönüşümlü kızılötesi (FTIR) spektroskopisi gibi teknikler basitliği, tekrarlanabilirliği ve yıkıcı olmayan doğası nedeniyle çeşitli biyolojik dokular üzerinde kullanılmıştır. Bu yöntemler yalnızca minimum örnek hazırlığı ve mikrogramdan nanograma kadar az miktarda materyal gerektirir. Fonksiyonel grupların, bağlanma türlerinin ve moleküler konformasyonların incelenmesine olanak tanıyarak moleküler düzeyde bilgi sağlarlar. Titreşim spektrumlarındaki spektral bantlar molekül spesifik olup, biyokimyasal bileşim, moleküler yapı, konformasyon ve çevre hakkında kesin detaylar sunar (Movasaghi vd., 2008; Talari vd., 2017). Bu nedenle, bu optik teknikler, COVID-19'un patogenezinin moleküler düzeyde içgörü kazanmak için potansiyel olarak yararlıdır (Calvo-Gomez vd., 2022).

Antikorlar, viral enfeksiyonlara karşı bağışıklık tepkilerine aracılık edebildikleri için patojenlere karşı humoral bağışıklıkta merkezi bir rol oynamaktadır. Humoral yanıtın mikrobiyal enfeksiyon sırasında büyük ölçüde konakçı immün reaksiyonunda yer aldığı düşünülmektedir. Serumdaki çoklu izotip antikorlar arasında farklı immünoglobülin (Ig) tipleri olarak IgA, IgD, IgG, IgM ve IgE bulunur, bunlardan IgG en fazla bulunurken IgD ve IgE son derece azdır. Bu nedenle antikor yanıtlarının değerlendirilmesinde IgA, IgG ve IgM titrelerine odaklanılmıştır (Luo vd., 2021). Bu süreçteki IgA, IgG ve IgM odaklanıldığında en önemli antikorlardan biri, kan dolaşımında en bol bulunan antikor sınıfı olan IgG'dir. Bu antikor, 7 ila 18 mg/ml arasında değişen konsantrasyonlarla insan kanında bulunan en bol antikorlardır.

Olgun plazma hücreleri tarafından üretilirler, insanlarda ve hayvanlarda iltihaplanma ve bağışıklık reaksiyonlarının düzenlenmesinde önemli bir rol oynarlar (Bartsch vd., 2020; Hess vd., 2013; Karsten vd., 2012). IgG molekülü antijen bağlayıcı fragman (Fab) bölgesi ve fragman kristalize edilebilir (Fc) bölge olmak üzere iki bölgeden oluşurlar. Fab bölgesi, çeşitli patojenlerin antijenlerini tanımaktan sorumluyken, Fc bölgesi, patojenlerin varlığına karşı bağışıklık sisteminin tepkisini belirleyen etkili bir işleve sahiptir. Fc bölgesi, efektör bağışıklık hücrelerinde FcγR'ler ile etkileşim yoluyla hücrel tepkiyi modüle etmekten sorumludur. Tüm IgG Fc alanları, Asn297'de kompleks N-glikanları taşıyan tek ve yüksek oranda korunmuş bir glikosilasyon bölgesi içerir (Vicente vd., 2022). Hoepel ve ark. antikorların serokonversiyon sırasında hastalık şiddetinin artmasında rol oynadığını bildirmiştir. Aşırı inflamatuvar yanıtın, şiddetli COVID-19 hastalarına özgü iki antikor özelliğine bağlı olduğunu bulmuşlardır (Hoepel vd., 2021).

Öte yandan, Luo ve ark. IgA, IgG ve IgM'nin SARS-CoV-2 viral yükü ile ilişkili olmadığını göstermiştir, bu durum antikor yanıtı ile nazofaringeal sürüntülerde saptanan viral antijen arasında belirgin bir korelasyon olmadığını düşündürmektedir. Asemptomatik hastalardan ciddi hastalara kadar (14'ü şiddetli semptomlarla, 23'ü orta semptomlarla, 20'si hafif semptomlarla ve 6'sı asemptomatik semptomlarla başvuran 63 COVID-19 hastası) COVID-19'daki antikor ve sitokin yanıtlarını analiz etmiş ve komorbiditeler, erkek cinsiyet ve ilerleyen yaş dâhil olmak üzere çeşitli risk faktörlerinin konakçı bağışıklık yanıtı COVID-19 hastaları üzerindeki etkisini değerlendirmişlerdir (Luo vd., 2021). Bu veriler bir biyobelirteç olarak COVID-19 hastalarından alınan serum IgG'nin yapısal yönlerinin araştırılmasının önemini vurgulamaktadır.

Mevcut araştırmalar, COVID-19'un şiddeti ve buna bağlı ölüm riskini, demografik, biyokimyasal ve moleküler belirtiler de dâhil olmak üzere birçok hastalık faktörüyle ilişkilendirmiştir (Gallo Marin vd., 2021; Gao vd., 2021). Bununla birlikte, SARS-CoV-2'ye karşı bağışıklık tepkilerinin moleküler düzeyde tam ve kapsamlı bir şekilde anlaşılması hala eksiktir. Bu nedenle, öngörücü biyomarkerlerin tanımlanmasını sağlayarak hastalık patogenezi ve şiddeti ile ilişkili bağışıklık tepkilerinin belirlenmesi ve karakterize edilmesi hayati önem taşımaktadır. Diğer yandan, pandemi sırasında SARS-CoV-2 ile enfekte olmuş hastaların yoğun bir şekilde hastanelere kabul edilmesi, hastalık şiddeti ve ölüm oranıyla ilgili hasta özellikleri ve laboratuvar bulgularının tam olarak anlaşılması gerektiğini göstermektedir. Bu çerçevede, yapay zekâ (YZ) teknolojileri, görüntü girdilerini karar destek araçları olarak kullanarak insan hatalarını en aza indirmek ve teşhis verimliliğini artırmak için uygulanmaktadır (L. Wang vd., 2021). Ancak geleneksel yapay zekâ modelleri, birçok araştırmacı ve profesyonel için bir kara

kutu modeli olarak hizmet etmekte ve tıbbi tahmin amaçları da dâhil olmak üzere çeşitli görevlerde kullanılmaktadır. Bu tür geleneksel yapay zekâ yöntemleri, doktorların doğru kararlar almasına ve yorum yapmasına yardımcı olacak ayrıntılar ve açıklamalardan yoksundur. Açıklanabilir yapay zekâ (AYZ), yapay zekâ tabanlı kara kutu modellerini daha açıklanabilir ve şeffaf beyaz kutu modellere dönüştürme fırsatı sunar (Barredo Arrieta vd., 2020; Kırboğa vd., 2023; Kırboğa vd., 2023).

Bu tez çalışması kapsamında, COVID-19 tanısıyla hastaneye yatırılan hastalardaki hastalık ilerlemesi ve moleküler değişiklikler değerlendirilmiştir. COVID-19'u önleme, teşhis etme ve tedavi etme için birçok strateji mevcut olmasına rağmen, SARS-CoV-2 ile enfekte bireylerin hastalığın çeşitli şiddet seviyelerinde yüksek oranlarda hastaneye yatmaları ve artan ölüm oranları, hastalık biyomarkerlerinin tanımlanması ve doğrulanması gerekliliğini acil hale getirmektedir. Bu bağlamda kan serumu, kolay erişilebilir ve son derece bilgi verici bir biyolojik sıvı olduğu için erken hastalık tespitinde ideal bir aday olarak öne çıkmaktadır (Koehler vd., 2022; Yonar vd., 2022). Kızılötesi (IR) spektroskopisi, farklı analiz teknikleriyle birlikte değerlendirildiğinde, hastalıkları tahmin etme ve tedavi etkinliğini değerlendirme açısından değerli bir araç haline gelmektedir (Barauna vd., 2021; Dogan vd., 2021; Zhang vd., 2021). Bu nedenle, ATR-FTIR spektroskopi tekniği çeşitli istatistiksel analizler ve açıklanabilir yapay zekâ yaklaşımları ile birlikte ele alınmıştır. Bu tezin amacı, Bilecik Eğitim ve Araştırma Hastanesi'ne başvuran COVID-19 hastalarının serum biyomoleküllerindeki değişiklikleri değerlendirmektir. Bu kapsamlı yaklaşımla, entübe edilmiş hastalarda (Entübe COVID-19/EC), hastanede servis hizmeti gören hastalarda (Serviste COVID-19/SC) ve hastalığı atlattığı hastalarda (Post-COVID-19/PC) erken hastalıkla ilişkili biyomarkerleri tanımlamak ve doğrulamak hedeflendi. AYZ yaklaşımları, spektral veri setlerini analiz etmek için kullanıldı. Amaç, hasta bakımında karar verme sürecine yardımcı olmak için moleküler veri kaynağı olarak IR spektrumlarını kullanarak şeffaf ve yorumlanabilir bir tahmin algoritması geliştirmektir. Hastalığın ilerlemesini tahmin eden faktörlerin belirlenmesi, profesyonellerin hastaları önceliklendirmesine, tedavi planlarını kişiselleştirmesine, klinik ilerlemeyi izlemelerine ve potansiyel olarak morbidite ve mortaliteyi azaltmalarına yardımcı olabilir. Pandeminin yönetiminde, moleküler verilerin hızlı bir şekilde işlenmesi ve hastalık patogenezinin anlaşılması, karar verme süreçlerini hızlandırabilir ve hasta yönetimini iyileştirebilir.

2. LİTERATÜR ÖZETİ

2.1.COVID-19 ve SARS-COV-2

COVID-19, "2019 Koronavirüs Hastalığı"nın kısaltması olup, SARS-CoV-2 (Şiddetli Akut Solunum Sendromu Koronavirüsü 2) adı verilen virüs tarafından tetiklenen bulaşıcı bir hastalıktır. İlk olarak Aralık 2019'da Çin'in Wuhan şehrinde tespit edilmiştir ve o zamandan bu yana dünya genelinde bir pandemiye dönüşerek hem sağlık sistemlerini hem de küresel ekonomiyi derinden etkilemiştir.

SARS-CoV-2, COVID-19 pandemisine neden olan virüsdür ve koronavirüs ailesine aittir. Koronavirüsler hayvanları ve insanları enfekte edebilen büyük bir virüs ailesidir. Bu virüs ailesi, hafif soğuk algınlığından ölümcül solunum yolu hastalıklarına kadar çeşitli enfeksiyonlara yol açabilir. Özellikle SARS-CoV (2003'teki SARS salgını) ve MERS-CoV (2012'deki Orta Doğu Solunum Sendromu Koronavirüs Salgını) gibi üyeleri ciddi hastalıklara yol açabilir. SARS-CoV-2, genetik olarak bu virüslerle benzerlik taşır (Keni vd., 2020; Mallah vd., 2021). SARS-CoV-2, pozitif anlamda tek zincirli bir RNA virüsüdür ve genetik materyali, protein bir kapsül içinde korunur ve lipit bir zarla çevrilidir. Virüsün yüzeyinde yer alan "spike" (S) proteinleri, hücreye girişini sağlayarak özellikle insanlardaki ACE2 reseptörleri ile bağlanır. Bu protein, virüsün bulaşıcılığında ve hastalığın yayılmasında kilit rol oynar. SARS-CoV-2'nin genetik yapısı yaklaşık 29,900 nükleotid içerir. Araştırmalar, virüsün büyük ihtimalle yarasalardan kaynaklandığını ve insanlara bulaşmadan önce muhtemel bir ara konak üzerinden geçtiğini göstermektedir. Bulaşma, ağırlıklı olarak solunum damlacıkları yoluyla gerçekleşir, ancak aerosoller yoluyla ve virüs bulaşmış yüzeylerle temas sonucunda da yayılabilir. Kapalı ve havalandırması yetersiz alanlar, yakın temas gibi faktörler bulaşma riskini artırır (Brant vd., 2021; Cevik vd., 2020).

COVID-19, esas olarak enfekte bir kişinin öksürmesi, hapşırması veya konuşması sırasında ortaya çıkan solunum damlacıkları yoluyla bulaşır. Ayrıca, virüs bulaşmış yüzeylere dokunduktan sonra yüz bölgesine temas edilmesiyle de yayılabilir, ancak bu yol daha az yaygındır. Hastalığın şiddeti kişiden kişiye değişebilir; bazıları hafif semptomlar gösterirken, diğerleri ağır solunum yetmezliği, organ yetmezliği veya ölümlü sonuçlanabilen ciddi vakalar yaşayabilir. Özellikle yaşlılar ve altta yatan kronik hastalıkları olan bireyler yüksek risk altındadır (Van Damme vd., 2020).

Pandemiyle mücadelede sosyal mesafe, maske takma, karantina uygulamaları ve aşılama kampanyaları gibi küresel halk sağlığı önlemleri alınmıştır. Bu tedbirler, virüsün yayılmasını yavaşlatmayı ve sağlık sistemlerinin çökmesini engellemeyi hedeflemiştir.

Araştırmalar virüsün davranışı, yayılma biçimi ve hastalık üzerindeki etkilerini anlamaya yönelik olarak hızla ilerlemiş olup bu da tedavi ve aşı geliştirilmesine önemli katkılarda bulunmuştur (Mallah vd., 2021; Van Damme vd., 2020).

Virüsün replikasyonu ve bağışıklık sisteminin buna verdiği yanıt, farklı klinik sonuçlara yol açar. Semptomlar hafif grip benzeri etkilerden ciddi solunum yetmezliği ve çoklu organ yetmezliğine kadar değişiklik gösterebilir. Salgın boyunca virüsün genetik yapısında meydana gelen mutasyonlar, bulaşıcılığın artması ve aşıların etkinliği gibi faktörler üzerinde önemli etkiler yaratmıştır. Bilim insanları, bu mutasyonları ve virüsün davranışını sürekli olarak izlemeye devam ederek gelecekteki sağlık önlemlerini geliştirmeye çalışmaktadır (Brant vd., 2021; Y. Yang vd., 2020).

2.2.COVID-19'un Semptomları

COVID-19 hastalığı, SARS-CoV-2 virüsünün neden olduğu bir enfeksiyon olup semptomları geniş bir yelpazede değişiklik gösterebilir. COVID-19 hastalarında en yaygın semptomlar arasında öksürük, halsizlik, tat ve koku bozuklukları, kas ağrıları ve ateş bulunmaktadır. Yapılan bir çalışmada, COVID-19 pozitif hastalarda tat bozukluğu (%35,7), koku kaybı (%23,1) ve ishal (%21,7) gibi semptomların daha yaygın olduğu, bu semptomların negatif gruptan anlamlı şekilde daha fazla görüldüğü bulunmuştur. Ayrıca, 65 yaş altındaki hastalarda tat bozukluğu, kas ağrısı ve ateş gibi semptomların daha yaygın olduğu gözlemlenmiştir. Diğer taraftan, 65 yaş üstü hastalarda öksürük ve halsizlik daha sık rapor edilmiştir. Tat ve koku bozuklukları, COVID-19'u diğer viral solunum yolu enfeksiyonlarından ayıran önemli bulgular arasında yer almaktadır ve bu semptomlar genellikle hastalığın hafif seyirli formlarında görülmektedir (Çalıca Utku vd., 2020).

COVID-19 hastalarında, SARS-CoV-2'nin çeşitli doku ve organ sistemlerine etkisi sonucu ortaya çıkan ağrı semptomları sıkça rapor edilmiştir. Baş ağrısı (%1,7–33,9), boğaz ağrısı (%0,7–47,1), kas ve eklem ağrısı (%1,5–61,0), göğüs ağrısı (%1,6–17,7) ve karın ağrısı (%1,9–14,5) en yaygın ağrı türleri olarak belirtilmiştir. Bu semptomlar, genellikle inflamatuvar yanıt, sinir sistemi invazyonu, hipoksi veya viral hasara bağlı olarak gelişir. Ağrı semptomlarının belirlenmesi, COVID-19 tanısının doğruluğunu artırırken daha hedefe yönelik tedavi yaklaşımlarının geliştirilmesine olanak tanır. Özellikle şiddetli enfeksiyonlarda göğüs ve karın ağrısı, daha geniş organ hasarına işaret edebilir ve bu semptomların erken tespiti, hastalık seyrini anlamada kritik rol oynar (Weng vd., 2021).

Hastalık, farklı şiddet derecelerinde seyredabilmektedir. Hafif semptomlar genellikle genç ve sağlıklı bireylerde görülrken, ileri yaşlı kişilerde veya diyabet, hipertansiyon, obezite

gibi kronik rahatsızlıkları olan bireylerde hastalık daha ağır ilerleyebilir ve zatürre, akut solunum sıkıntısı sendromu (ARDS) gibi ciddi komplikasyonlara neden olabilir. Ayrıca, COVID-19 bazı durumlarda nörolojik komplikasyonlara da yol açabilir; örneğin beyin sisi, baş dönmesi ve duyuusal bozukluklar rapor edilmiştir.

COVID-19 sonrası görülen "uzun COVID" ise, hastalığın daha da karmaşık bir yönüdür. Bu durum enfeksiyon geçtikten aylar sonra bile devam eden belirtileri içerir. Yorgunluk, dikkat eksikliği, göğüs ağrısı, kalp çarpıntısı, nefes darlığı ve kas zayıflığı uzun COVID'in en yaygın semptomları arasındadır. Araştırmalar, Omicron varyantından önce enfekte olanlarda uzun COVID görülme sıklığının daha yüksek olduğunu ve bu durumun aşılanmamış bireylerde daha şiddetli seyrettiğini göstermiştir. Bu semptomların çeşitliliği, COVID-19'un teşhisinde ve tedavisinde kapsamlı bir yaklaşımın önemini vurgulamaktadır. Salgının başlangıcından bu yana yapılan bilimsel çalışmalar, semptomların yönetimi ve uzun COVID'in anlaşılması için rehber niteliğindedir. Geliştirilen aşılar ve terapötik stratejiler, özellikle yüksek risk grubundaki bireylerin semptomlarını hafifletmek ve uzun vadeli komplikasyonları önlemek adına büyük bir potansiyele sahiptir (Thaweethai vd., 2023).

2.3.COVID-19 Tespit Yöntemleri

COVID-19, insan vücudunda farklı semptomlara sebebiyet veren ve farklı şiddet derecelerinde seyreden bir hastalıktır. Bu yüzden COVID-19 hastalığının tespiti için moleküler testler, antijen testleri, antikör testleri, tıbbi görüntüleme yöntemleri gibi birkaç farklı yöntem kullanılmaktadır. Bu teşhis yöntemleri, enfeksiyonun erken ve doğru bir şekilde belirlenmesinde kritik rol oynamaktadır.

2.3.1.Moleküler Testler (RT-PCR)

En yaygın kullanılan yöntem, burun veya boğazdan alınan örneklerde SARS-CoV-2 genetik materyalini (RNA) tespit eden ters transkriptaz-polimeraz zincir reaksiyonu (RT-PCR) testidir. RT-PCR testleri, yüksek doğruluk oranlarıyla öne çıkar, ancak örneğin kalitesi ve zamanlaması sonuçları etkilemektedir (Borges do Nascimento vd., 2021; Hanson vd., 2024).

2.3.2. Antijen Testleri

Bu testler, virüsün yüzeyinde bulunan antijenleri tespit eder. Hızlı sonuçlar vermesi avantaj sağlarken, doğruluk oranları RT-PCR testlerine göre genellikle daha düşüktür. Özellikle erken aşamalarda yüksek virüs yüküne sahip olan kişilerde daha etkili sonuç vermektedir (Hanson vd., 2024).

2.3.3. Antikor Testleri (Serolojik Testler)

Antikor testleri kişinin bağışıklık sisteminin virüse karşı ürettiği antikorları tespit eder. Antikor testleri, genellikle enfeksiyon sonrası bağışıklık yanıtını incelemek için kullanılır ve akut enfeksiyon tanısı için uygun değildir (Borges do Nascimento vd., 2021).

2.3.4. Görüntüleme Yöntemleri

Bilgisayarlı tomografi (BT) gibi görüntüleme teknikleri, akciğerlerde COVID-19'la ilişkili hasarları tespit etmek için kullanılır. Özellikle hastalığın ilerleyen safhalarında, BT taramaları tipik "buzlu cam" opasiteleri gibi özellikleri ortaya koymaktadır (Hanson vd., 2024).

Bu hastalık tespit yöntemleri pandeminin farklı aşamalarında enfeksiyonların izlenmesi ve kontrol altına alınması için geliştirilmiş ve optimize edilmiştir. COVID-19 testleri, hastalığın yayılmasını önlemek için gereken önlemleri belirlemek ve bireylerin uygun tıbbi tedaviye erişmesini sağlamak için kritik öneme sahiptir.

2.4. Zayıflatılmış Toplam Yansıma Fourier Dönüşümlü Kızılötesi (ATR-FTIR) Spektroskopisi

ATR-FTIR spektroskopisi, kan, tükürük ve idrar gibi biyolojik örneklerdeki moleküler izleri belirlemek için kullanılan ileri düzey bir analitik tekniktir. Bu yöntem, farklı biyomoleküllerin kızılötesi ışığı nasıl emdiğini ölçerek örneğin detaylı biyokimyasal profilini ortaya çıkarır ve bu işlem kapsamlı bir ön hazırlık gerektirmediği için oldukça verimli, hızlı ve maliyet açısından uygundur.

Hastalık biyobelirteçlerinin tespitinde ATR-FTIR spektroskopisinin önemli bir rolü vardır. Erken ve non-invaziv (cerrahi olmayan) teşhis imkânı sağlayan bu teknoloji kanser, otoimmün hastalıklar ve nörodejeneratif hastalıklar gibi durumlarda biyomoleküler değişiklikleri tespit etme potansiyeline sahiptir. Örneğin, kanser teşhisinde ATR-FTIR spektroskopisi sağlıklı ve kanserli dokular arasındaki protein, lipid ve nükleik asit farklarını saptayarak etkili bir ayırt edici olabilir. Bu teknoloji hastalıkların farklı evrelerini belirlemeye ve kişiselleştirilmiş tıp uygulamalarına da katkı sağlar. Ancak ATR-FTIR spektroskopisinin klinik kullanıma geçişi için örneklerin işlenmesi ve verilerin analizinde standart protokollerin geliştirilmesi gereklidir (Tafulo ve Ga, 2009). Ayrıca, tanısal doğruluğu artırmak için ATR-FTIR spektroskopisi verilerine genellikle makine öğrenimi teknikleri uygulanır. Algoritmalar, spektral verilere dayanarak hastalıkları sınıflandırmada yardımcı olur ve multipl skleroz veya artritin farklı formları gibi karmaşık hastalıkları yüksek hassasiyetle tespit edebilir (Kokot vd., 2024). ATR-FTIR spektroskopisi, COVID-19 tanısında da non-invaziv ve hızlı bir yöntem

olarak değerlendirilmektedir. Çalışmalar özellikle kan, tükürük ve nazofaringeal sürüntü örneklerinde moleküler yapısal değişiklikleri inceleyerek SARS-CoV-2 varlığını belirlemektedir. Spektrum analizleri enfekte ve sağlıklı bireyleri ayırt etme potansiyeline sahiptir. Bu analizlerde virüsün ve bağışıklık tepkisinin moleküler izleri tespit edilebilir, bu da makine öğrenimi algoritmalarıyla desteklendiğinde tanısal doğruluğu artırmaktadır. ATR-FTIR spektroskopisinin kolay taşınabilirliği de saha testlerini mümkün kılar (Barauna vd., 2021).

2.4.1. ATR-FTIR Spektroskopisinin COVID-19 Teşhisindeki Önemi

COVID-19 küresel pandemisi hızlı ve güvenilir teşhis yöntemlerine olan ihtiyacı önemli ölçüde artırmıştır. COVID-19'un hızlı ve doğru bir şekilde teşhisi, hastalığın yayılmasını kontrol altına almak için kritik öneme sahiptir. ATR-FTIR spektroskopisi, COVID-19 teşhisinde hızlı, düşük maliyetli ve invaziv olmayan bir yöntem olarak umut vaat etmektedir. ATR-FTIR spektroskopisi, biyolojik örneklerdeki moleküler yapıları ve değişiklikleri tanımlamak için kullanılan bir tekniktir. Bu yöntem, kızılötesi ışığın örnek tarafından absorbe edilmesiyle oluşan titreşim modlarını analiz ederek, örnekteki moleküllerin "parmak izini" oluşturur (Naseer vd., 2021). Bu parmak izi, farklı hastalık durumlarını ve hatta hastalığın şiddetini ayırt etmek için kullanılabilir. COVID-19 teşhisinde ATR-FTIR spektroskopisinin kullanımı üzerine yapılan araştırmalar, bu yöntemin yüksek doğruluk, duyarlılık ve özgüllük oranlarına sahip olduğunu göstermektedir (Barauna vd., 2021; Calvo-Gomez vd., 2022; Martinez-Cuazitl vd., 2021).

Martinez-Cuazitl ve ark. (2021), tükürük örneklerinde ATR-FTIR spektroskopisi kullanarak COVID-19 pozitif hastalarını sağlıklı bireylerden ayırt etmeyi başarmışlardır. COVID-19 pozitif hastaların tükürük örneklerinde özellikle immunglobulin bölgelerinde ve amid I bölgesinde belirgin değişiklikler gözlemlenmiştir. Çalışmada, COVID-19 hastalarının tükürük örneklerindeki IgG, IgM ve IgA antikorlarının seviyeleri de değerlendirilmiş olup, bu antikorların seviyelerinin hastalığın varlığını ve şiddetini belirlemede önemli bir rol oynayabileceği öne sürülmüştür (Martinez-Cuazitl vd., 2021). Diğer bir çalışmada ise Wood ve ark. (2021), tükürük örneklerinde COVID-19 belirteçlerini tespit etmek için özel olarak üretilmiş bir yansıma aksesuarına sahip taşınabilir bir kızılötesi spektrometre önermişlerdir. Çalışmada, saflaştırılmış SARS-CoV-2 viryonları, senkrotron IR, Raman spektroskopisi ve atomik kuvvet mikroskobu (AFM)-IR teknikleri ile karakterize edilmiştir ve tükürük örneklerinde COVID-19 belirteçlerinin hızlı bir şekilde tespiti için bir yöntem geliştirilmiştir (Wood vd., 2021). Barauna ve arkadaşlarının (2021) yaptığı bir çalışma, SARS-CoV-2 enfeksiyonlarının hızlı ve etkili bir şekilde tespit edilmesi için ATR-FTIR spektroskopisi

yönteminin uygulanabilirliğini incelemiştir. COVID-19 pandemisi sırasında, mevcut test yöntemlerinin (özellikle RT-qPCR) zaman alıcı ve maliyetli olması, hızlı ve pratik test yöntemlerine olan ihtiyacı artırmıştır. ATR-FTIR spektroskopisi, test sonuçlarını yalnızca 2 dakika içinde sağlayarak, virüsün yayılmasını önlemek için kritik bir zaman avantajı sunmaktadır; bu, özellikle kalabalık alanlarda ve acil durumlarda önemlidir. Araştırmada, klinik ortamlarda alınan faringeal sürüntülerdeki tükürük örnekleri ATR-FTIR spektroskopisi ile değerlendirilmiş ve hasta gruplarını doğru bir şekilde sınıflandırmak için bir genetik algoritma-lineer diskriminant analiz (GA-LDA) algoritması kullanılmıştır. Çalışmada, ATR-FTIR spektroskopisi ile yapılan testlerin %95 duyarlılık ve %89 özgüllük gibi yüksek doğruluk oranları sağladığı bildirilmiştir, bu da yöntemin güvenilirliğini göstermektedir. Ayrıca, ATR-FTIR spektroskopisi virüsün varlığını belirlemek için spesifik spektral işaretler kullanarak, RNA gibi nükleik asit bileşenlerini tespit etme yeteneğine sahiptir; bu, virüsün düşük konsantrasyonlarda bile tespit edilmesini mümkün kılmaktadır (Barauna vd., 2021).

COVID-19 patogenezindeki moleküler değişiklikleri belirlemede tükürük örnekleri kadar serum örnekleri de oldukça önemli biyolojik sıvılardır. Geleneksel PCR testleri altın standart olarak kabul edilse de hızlı ve düşük maliyetli alternatiflerin geliştirilmesi önem arz etmektedir. Bu kapsamda Calvo-Gomez ve ark. (2022) tarafından COVID-19'un erken teşhisi ve hastalığın şiddetinin değerlendirilmesi için ATR-FTIR spektroskopisi teknolojisinin ve kemometrik analizlerin potansiyeli araştırılmıştır. Araştırmada, serum örneklerinin IR spektrumları kullanılarak SARS-CoV-2 enfeksiyonu ve COVID-19 hastalığının şiddeti üzerine bir model geliştirilmiştir. Elde edilen sonuçlar; SARS-CoV-2 enfeksiyonu için %94,55 duyarlılık ve %98,44 özgüllük, şiddetli COVID-19 hastalığı için %70,97 duyarlılık ve %94,95 özgüllük, hafif hastalık için ise %33,33 duyarlılık ve %94,64 özgüllük göstermektedir. Bu çalışma kapsamında ayrıca dang humması enfeksiyonu da değerlendirilmiş olup aynı algoritma ile farklı bir virüse karşı seçiciliğin mümkün olduğu, ancak her iki virüs için de bağımsız modeller oluşturulduğu tespit edilmiştir (Calvo-Gomez vd., 2022). Zhang ve arkadaşları da (2021), serum örneklerinde ATR-FTIR spektroskopisi ve çok değişkenli analiz kullanarak COVID-19'u normal kontrollerden ve diğer yaygın solunum yolu viral enfeksiyonlarından ayırt etmede etkili bir yöntem olduğunu ortaya koymuştur. Çalışmada, COVID-19 hastalarının serum örneklerindeki protein ve lipit yapılarında değişiklikler tespit edilmiştir. Özellikle serum albümin seviyelerinde azalma ve immünoglobulin seviyelerinde artış rapor edilmiştir (Zhang vd., 2021). Bir başka çalışmada Bandeira ve ark. (2022), COVID-19 hastalarında IgG glikosilasyonunu araştırmak için mikro-Fourier dönüşümü kızılötesi yansıma spektroskopisini (mikro-FTIR) kullanmışlardır. Çalışmada, sağlıklı ve COVID-19 hastası bireylerin kan serumu

örnekleri incelenmiş olup 1 µL kurutulmuş biyolojik sıvıdan toplanan FTIR verileri, kemilüminesan immünolojik testlerin (CLIA ve ELISA) sinyal-kesme oranıyla karşılaştırılmıştır (Bandeira vd., 2022).

COVID-19 pandemisi, Aralık 2019'da ortaya çıktığında küresel ölçekte milyonlarca insanı etkileyerek büyük sağlık krizlerine yol açmıştır. Pandeminin kontrol altına alınması amacıyla çeşitli aşilar geliştirilmiş ve uygulanmıştır. Bu aşilar arasında inaktive edilmiş bir virüs aşısı olan CoronaVac, özellikle Türkiye gibi ülkelerde yaygın bir şekilde kullanılmıştır. Aşı uygulamasının biyomoleküler etkilerini anlamak için yapılan bir çalışmada Fourier dönüşüm infrared (FTIR) spektroskopisi ve kemometrik analizler kullanılarak CoronaVac'ın sağlıklı insan serumundaki etkileri incelenmiştir. Sonuçlar aşının lipid, protein ve nükleik asitlerle ilişkilendirilen çeşitli fonksiyonel gruplarda önemli değişimlere yol açtığını göstermiştir. Özellikle amide I, amide II ve amide III gibi proteinlerle ilişkili bantlarda belirgin bir artış saptanmıştır. Ayrıca, 1241 cm⁻¹'de gözlenen PO₂⁻ antisimetrik gerilme bandı gibi nükleik asit ve fosfolipidlere ait bölgelerde de anlamlı değişiklikler kaydedilmiştir. Lipit-protein oranında azalma, protein içeriğinin arttığını göstermiştir. Bununla birlikte kısa zincirli lipidlerin arttığı ve protein fosforilasyonunun yükseldiği tespit edilmiştir. Bu biyomoleküler değişiklikler, aşılanan bireylerin serum spektrumlarının aşılınmamış bireylerden başarılı bir şekilde ayrılmasına olanak tanımıştır (Dogan vd., 2021).

Bu çalışmalar, ATR-FTIR spektroskopisi ve çok değişkenli analizlerin, karmaşık veri setlerinden değerli bilgiler elde etmek için etkili bir yöntem sunduğunu ortaya koymaktadır. Bu teknik, bir numuneye kızılötesi ışık göndererek moleküler yapısını analiz eder ve ardından istatistiksel yöntemlerle bu verileri işler. Yapılan çalışmalar, bu yöntemin sağlık personelinin COVID-19'un şiddetini hızlı bir şekilde değerlendirmesine olanak tanıdığını göstermektedir. Bu sayede, acil durumlarda hasta önceliklendirilmesi kolaylaşabilir ve serum, tükürük gibi biyolojik sıvılarda bulunabilecek diğer virüslerin tespiti için de potansiyel sunar. ATR-FTIR spektroskopisi ve çok değişkenli analizlerin kombinasyonu, COVID-19 tanısı ve yönetimi için hızlı, düşük maliyetli ve etkili bir araç olarak öne çıkmaktadır. Bununla birlikte, modelin güvenilirliğini artırmak ve hastalık gelişimi üzerindeki spektral katkıları daha yüksek hassasiyetle belirlemek için daha fazla araştırmaya ihtiyaç vardır. Ayrıca, FTIR spektroskopisinin hem aşı etkilerinin izlenmesinde hem de düşük maliyetli, hızlı ve etkili bir tanı aracı olarak kullanılabileceği gösterilmiştir. Bu bulgular, gelecekte yapılacak daha geniş ölçekli çalışmalar için yol göstermektedir. Sonuç olarak, bu tür yenilikçi test yöntemlerinin daha geniş bir şekilde benimsenmesi, pandemilere karşı daha etkili bir yanıt verme potansiyeline sahiptir.

2.5. İmmünoglobulinler

İmmünoglobulinler (Ig'ler) , plazma hücreleri tarafından üretilen glikoproteinlerdir. Omurgalıların bağışıklık sisteminde humoral bağışıklığın önemli bir parçasını oluştururlar. Ig'ler bakteri, virüs gibi patojenleri ve alerjenler gibi diğer yabancı maddeleri nötralize ederek vücudu korurlar. Ig'ler yapısal olarak "Y" şeklindedir. İki özdeş ağır zincir ve iki özdeş hafif zincirden oluşurlar. Hem ağır hem de hafif zincirler Ig'nin antijen özgüllüğünü belirleyen değişken bölgeler içerir. Ağır zincirler ayrıca Ig'nin efektör fonksiyonlarını belirleyen sabit bölgeler içerir. Memelilerde beş ana Ig sınıfı veya izotipi vardır: IgA, IgD, IgE, IgG ve IgM. Her izotip, ağır zincirinin sabit bölgesindeki farklılıklar ve farklı efektör fonksiyonlar ile karakterizedir (Luo vd., 2021; Stjepanovic vd., 2022). IgA, vücudun mukozal yüzeylerinde bulunan başlıca immünoglobulindir. Tükürük, gözyaşı ve anne sütü gibi salgılarda da bulunur. IgA, patojenlerin vücuda girmesini engelleyerek mukozal bağışıklığa aracılık eder. IgD, B hücrelerinin yüzeyinde bulunur ve B hücresi aktivasyonunda rol oynar. IgE, alerjik reaksiyonlarda ve parazit enfeksiyonlarına karşı bağışıklıkta rol oynar. Mast hücreleri ve bazofiller gibi bağışıklık hücrelerinin yüzeyine bağlanır ve histamin gibi enflamatuvar mediatörlerin salınımını tetikler. IgG, insan serumunda en bol bulunan immünoglobulindir. Plazental bariyeri geçerek fetüse pasif bağışıklık sağlar. IgG, opsonizasyon, kompleman aktivasyonu ve antikor bağımlı hücre aracılı sitotoksiste gibi çeşitli mekanizmalar yoluyla patojenleri yok eder. IgM, bir patojene maruz kaldıktan sonra üretilen ilk immünoglobulindir. Kompleman aktivasyonunda ve patojenlerin yok edilmesinde etkilidir. Ig'ler enfeksiyonlara, otoimmün hastalıklara ve alerjilere karşı bağışıklıkta önemli bir rol oynar. Ig'lerin yapısı, fonksiyonu ve düzenlenmesini anlamak, bu hastalıkların önlenmesi ve tedavisi için yeni stratejiler geliştirmek için gereklidir (Barzegar-Amini vd., 2022; Wasiluk vd., 2023).

2.5.1. İmmünoglobülinler ve COVID-19 Patogenezi İlişkin Kapsamlı Değerlendirme

COVID-19 pandemisi, dünya genelinde sağlık sistemlerini derinlemesine etkileyen ve uzun süreli sonuçlar doğuran bir kriz oluşturmuştur. Bu bağlamda, COVID-19'un ciddiyeti ve hastalığın yayılımı ile ilişkili immün yanıtların kapsamlı biçimde incelenmesi hem klinik hem de araştırma alanında giderek daha fazla önem kazanmaktadır. Vrettou vd. (2021) tarafından gerçekleştirilen detaylı bir çalışmada, hastaneye kabul sırasında düşük IgG seviyelerinin, COVID-19'un hafif düzeyden kritik aşamasına kadar olan hastalarda kötü sonuçları öngördüğü ifade edilmiştir. COVID-19 hastalarında yapılan bu çalışmada, hastaneye kabul sırasında düşük immünoglobulin G (IgG) seviyeleri, daha yüksek mortalite oranları ile ilişkilendirilmiştir.

Özellikle IgG seviyeleri 690 mg/dl'nin altında olan hastalar, yeterli IgG seviyelerine sahip olanlara göre daha yüksek ölüm riski taşımaktadır. Bu durum, düşük IgG seviyelerinin COVID-19'un şiddetli formlarındaki bağışıklık yanıtındaki bozulmalarla bağlantılı olabileceğini göstermektedir. IgG, humoral bağışıklıkta önemli bir bileşen olup, patojenlerle savaşmak için gereklidir. Bu bulgular, COVID-19 hastalarının tedavisinde IgG seviyelerinin izlenmesinin önemini vurgulamaktadır (Vrettou vd., 2021). Başka bir araştırma, şiddetli ve hafif COVID-19 hastaları arasındaki serum toplam IgA seviyelerini kapsamlı bir şekilde karşılaştırmış ve bu bağlamda hastaların klinik özelliklerini derinlemesine incelemiştir. Elde edilen sonuçlar, şiddetli COVID-19 hastalarının serum IgA seviyelerinin, hafif veya asemptomatik hastalara göre anlamlı derecede daha düşük olduğunu göstermiştir (Barzegar-Amini vd., 2022). Bu durum, şiddetli hastalarda bağışıklık savunmasının zayıf olduğunu ve dolayısıyla virüsle mücadelede daha az etkili olabileceklerini ortaya koymaktadır. Ayrıca, serum IgA seviyelerinin COVID-19'un şiddetiyle ilişkili olduğu bulunmuş, bu da IgA'nın virüs enfeksiyonlarına karşı koruyucu bir rol oynadığını göstermektedir (Barzegar-Amini vd., 2022). Sonuçlar, COVID-19 hastalarının bağışıklık yanıtını anlamak için serum IgA seviyelerinin değerlendirilmesinin önemini vurgulamakta ve bağışıklık sistemini güçlendirmeye yönelik stratejilerin geliştirilmesi gerektiğini önermektedir. 2022 yılında Schwedler ve diğerleri tarafından yapılan bir çalışma, SARS-CoV-2'nin on farklı yapısal olmayan proteinine karşı oluşan IgG antikor yanıtının, COVID-19 hastalarının klinik sonuçlarını öngörmeye güçlü bir belirleyici olduğunu göstermiştir. Çalışma, ağır COVID-19 hastalarında serum IgG seviyelerinin hafif hastalara göre belirgin şekilde daha yüksek olduğunu ortaya koymuştur. Ayrıca, COVID-19 hastalarında IgG glikozilasyonunun yaş ve anti-spike IgG titresi ile ilişkisi incelenmiş ve hastalığın erken dönemlerinde anti-Spike IgG1 antikorlarında düşük fikoilasyon seviyeleri gözlemlenmiştir. Bu bulgular, IgG seviyelerinin ve glikozilasyon düzenlemelerinin hastalığın seyrine etkilerini anlamak için önemli bir temel oluşturmaktadır. (Schwedler vd., 2022). COVID-19 hastalığından iyileşen plazma bağışçılarında IgG alt sınıf profillerini analiz eden bir araştırma, hastalığın şiddeti ile IgG alt sınıfları arasında önemli bir ilişki olduğunu ortaya koymuştur. Çalışma, özellikle IgG1 ve IgG3 alt sınıflarındaki artışın, hastalığın daha ağır seyretmesiyle yakından ilişkili olduğunu göstermiştir (Wasiluk vd., 2023). COVID-19 pnömonisi ile ilişkili otoimmün ve immünerolojik belirteçlerin hastalık şiddeti üzerindeki etkisini inceleyen bir çalışma, yüksek serum IgA seviyelerinin yüksek viral yük ile ilişkili olduğunu ve bu durumun hastalığın seyrini olumsuz etkileyebileceğini göstermiştir. Çalışma ayrıca, IgA'nın yanı sıra IgG ve kompleman seviyelerinin de ölçülmesinin, hastaların invaziv olmayan mekanik ventilasyona (NIMV) ihtiyaç duyma olasılığını ve hastalığın genel seyrini değerlendirmede faydalı

olabileceğini ortaya koymuştur. Bu bulgular, bu immünolojik belirteçlerin COVID-19 hastalarında risk değerlendirmesi ve tedavi planlaması için potansiyel bir araç olduğunu düşündürmektedir (Stjepanovic vd., 2022). COVID-19 hastalarında galektinlerin biyobelirteç olarak kullanımını değerlendiren kapsamlı bir sistematik inceleme ve meta-analiz çalışması, yüksek Galektin-3 seviyelerinin hastaların ölüm riskiyle doğrudan ilişkili olduğunu göstermiştir. Bu bulgu, Galektin-3'ün COVID-19 hastalarında prognoz ve risk değerlendirmesi için potansiyel bir biyobelirteç olduğunu desteklemektedir (Behnoush vd., 2023).

Sonuç olarak, COVID-19 hastalarında immüoglobulinlerin, özellikle IgG alt sınıflarının ve bu antikorların glikosilasyonunun (özellikle fukozilasyon) incelenmesi, hastalığın şiddeti ve seyri hakkında önemli bilgiler sağlamaktadır. Araştırmalar, hastalığın erken dönemlerinde anti-Spike IgG1 antikorlarında gözlemlenen düşük fukozilasyon seviyelerinin, bağışıklık yanıtını etkileyebileceğini ve dolayısıyla hastalığın seyrini belirlemede rol oynayabileceğini göstermektedir. Ayrıca, IgG alt sınıflarının toplam IgG havuzuna katkısındaki farklılıklar ve IgG toplamı ile IgG alt sınıflarının toplamı arasındaki tutarsızlıklar, immüno-serolojik testlerin yorumlanmasında dikkat edilmesi gereken önemli faktörlerdir. Bu bulgular, COVID-19'un patogenezi ve olası tedavi stratejilerini daha iyi anlamak için önemli bir zemin oluşturmaktadır. Gelecekte yapılacak daha kapsamlı araştırmalar, bu gözlemlerin COVID-19'un önlenmesi, teşhisi ve tedavisi için pratik uygulamalarını tam olarak aydınlatacak ve bu alandaki bilgi birikimimize önemli katkılar sağlayacaktır. Bu sayede, hastalığın seyrini öngörmek ve kişiselleştirilmiş tedavi yaklaşımları geliştirmek mümkün hale gelebilir.

3. MATERYAL ve METOD

3.1. Spektrokimyasal Yöntemler

3.1.1. Örneklenen Popülasyon ve Tıbbi Değerlendirme

Bu tez çalışması, Haziran ve Ağustos 2021 tarihleri arasında Bilecik Eğitim ve Araştırma Hastanesi'nin COVID servisi ve yoğun bakım ünitelerinde COVID-19 enfeksiyonu pozitif tanısı ile hastaneye yatırılan kritik durumdaki 132 hastadan alınan serum örneklerini içermektedir. Tanı, RT-PCR testi ve BT taraması ile konulmuştur. Bireylerin hastalık seviyeleri Entübe COVID-19 (EC), Servis COVID-19 (SC) ve COVID-19'dan İyileşen (Post-COVID-19/PC) olarak sınıflandırılmıştır. Bu çalışma, Bilecik Şeyh Edebali Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu yönergelerine göre yürütülmüştür (etik kurul numarası: 050.04.01–210460). Gönüllü olarak katılmaya davet edilen bireyler çalışmanın amacı, önerileri ve koşulları hakkında bilgilendirilmiş ve katılmayı kabul edenler bilgilendirilmiş gönüllü onam formunu imzalamıştır. Her hastadan periferik ven ponksiyonu yoluyla 2 mL tam kan alınmış ve serumun hücresel bileşenlerden ayrılması için örnekler +4 °C'de 15 dakika boyunca 3.000 rpm'de santrifüj edilmiştir. Daha sonra serumlar 500 µL'lik alikotlara bölünmüş ve analiz edilene kadar -80 °C derin dondurucuda saklanmıştır. Çalışmaya 40 entübe (16 kadın, 24 erkek), 33 servis hastası (10 kadın, 23 erkek) ve 59 iyileşmiş (26 kadın, 33 erkek) birey dahil edilmiştir ve yaşları 22 ile 91 arasında değişmektedir. Genel olarak, bireylerin %39,4'ü kadın ve %60,6'sı erkektir. Hastalarla ilgili demografik bilgiler Tablo E.1'de sunulmuştur.

Entübasyon, solunum yetmezliği olan hastalarda hava yolunu açık tutmak ve mekanik ventilasyon sağlamak amacıyla ağız veya burun yoluyla trakeaya (nefes borusuna) bir tüp yerleştirilmesi işlemidir. Tez çalışmasındaki entübe hasta grubu, yoğun bakım ünitesinde invaziv mekanik ventilasyon altında tutulmuş ve bu süreçte sedasyon uygulanmıştır.

Dışlama kriterleri: Diğer nedenlerle entübe edilen hastalar (örneğin, travma, KOAH alevlenmesi, kalp yetmezliği, bakteriyel zatürre gibi diğer enfeksiyonlar, zehirlenmeler) çalışma dışında tutulmuştur. Ayrıca, COVID-19'un seyri bu grupta farklı olabileceği ve bu tedavilerin entübasyon riskini artırabileceği için, immünosupresif tedavi (örneğin, kemoterapi, yüksek doz steroidler) alan hastalar da çalışma dışı bırakılmıştır. Entübe hastaların klinik durumlarıyla ilgili açıklayıcı bilgiler Tablo E.2'de verilmiştir.

3.1.2. ATR-FTIR Spektroskopisi Ölçümleri ve Veri Analizi

Dondurulmuş serum örnekleri, spektroskopik incelemeden önce oda sıcaklığında çözündürüldü ve vortekste karıştırıldı. Spektrumlar, Zn/Se kristali içeren bir ATR ünitesi

(MIRacle, PIKE, ABD) ile donatılmış ATR-FTIR spektrometresi (Frontier FTIR Spectrometer, PerkinElmer, ABD) kullanılarak toplandı. Serum örnekleri, herhangi bir ön işlem yapılmadan ATR ünitesinin Zn/Se kristali üzerine 1 µl hacminde yerleştirildi ve bağlanmamış suyu uzaklaştırmak için inert azot gazı (N₂) ile 2 dakika kurutuldu. Spektrumlar, Spectrum One (PerkinElmer, ABD) yazılımı ile 4000-650 cm⁻¹ dalga boyu aralığında, 4 cm⁻¹ çözünürlükte ve 32 tarama ile elde edildi (Teker vd., 2023; Teker vd., 2024). Her ölçümden önce ortam havasının arka plan spektrumu alındıktan sonra, her serum örneği için ATR-FTIR spektrometresi ile üç ayrı ölçüm yapıldı. Bu spektrumların ortalamaları, tüm sonraki analizlerde kullanıldı. Her bir örneğin ortalama spektrumları, OPUS 5.5 (Bruker, ABD) yazılımında 64 temel nokta ile Rubberband düzeltme yöntemi kullanılarak taban çizgisi düzeltilmiş spektrumlarla analiz edildi. Daha sonra, spektral bant parametrelerinin niteliksel ve niceliksel analizleri, OPUS 5.5 (Bruker, ABD) yazılımında Bant Entegrasyonu Metodu B kullanılarak serum biyomoleküllerine özgü bantların alanı ve pozisyonu hesaplanarak değerlendirildi (Teker vd., 2024).

3.2. Biyokimyasal Çalışmalar

Serum albümin ve toplam protein seviyeleri, üretici talimatlarına göre sırasıyla BCG (Bromokrezol Yeşili) ve Biüret testleri kullanılarak spektrofotometrik olarak belirlendi. Globulin, toplam proteinden albüminin çıkarılmasıyla hesaplandı. Daha sonra, albümin konsantrasyonları globulinlere bölünerek albümin-globulin oranı (AGR) indeksi elde edildi (Y. Wang vd., 2022).

$$\text{Globulin} = \text{Toplam Protein} - \text{Albümin} \quad (3.1)$$

$$\text{Albumin/Globulin Oranı} = \frac{\text{Albümin}}{\text{Toplam Protein} - \text{Albümin}} \quad (3.2)$$

3.2.1. Tek Değişkenli İstatistikler

Spektrokimyasal parametreler arasındaki farkların istatistiksel anlamlılığını belirlemek için, GraphPad Prism 10.2.1 (GraphPad Software, LLC, ABD) istatistiksel analiz programında bağımsız t-testi kullanıldı. Anlamlılık derecesi her zaman %95 güven aralığında ayarlandı ve $P \leq 0.05$ *, $P < 0.01$ **, $P < 0.001$ ***, $P < 0.0001$ **** olarak belirtildi. Sonuçlar, ortalama \pm ortalamanın standart hatası şeklinde ifade edildi.

Her spektral parametrenin genel tahmin performansını değerlendirmek için ROC (Alıcı İşletim Karakteristiği) eğrisi analizi uygulandı. ROC eğrisi altında kalan alan (AUC) ve P

değerleri, GraphPad Prism 10.2.1 yazılımı kullanılarak %95 güven aralığında hesaplandı. Duyarlılık (% Doğru Pozitif Oranı) ve özgüllük (% Yanlış Pozitif Oranı) ROC eğrisi grafiğinde eşik değeri değıştikçe çizildi.

3.3.Açıklanabilir Yapay Zekâ Yöntemleri

Araştırma Python sürüm 3.11 kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Kullanılan kütüphaneler arasında Matplotlib sürüm 3.7.1, pip sürüm 22.0.4, Sklearn sürüm 1.2.2, Pandas sürüm 2.0.1, RDkit sürüm 2023.3.1, Shap sürüm 0.41.0, eli5 sürüm 0.13.0, scikit-plot sürüm 0.3.7 ve NumPy sürüm 1.24.3 yer almaktadır. Hesaplama işlemleri, 2,30 GHz hızında Intel® Core™ i5-8300H CPU, x64 tabanlı işlemcili 64 bit işletim sistemi ve 32 GB RAM ile donatılmış bir sistemde yürütülmüştür. Bu konfigürasyon, araştırmanın veri işleme ve analiz aşamalarında yüksek performans ve güvenilirlik sağlamak için titizlikle seçilmiştir.

3.3.1 Veri Ön İşleme

Veri ön işleme, model geliştirme sürecinde kritik bir aşamadır ve bu çalışmada kullanılan verilerin kalitesini ve doğruluğunu artırmak için titizlikle uygulanmıştır. İlk olarak, eksik veriler ve aykırı değerler tespit edilmiş ve uygun istatistiksel yöntemler kullanılarak ele alınmıştır. Kayıp veriler çoklu imputasyon teknikleri kullanılarak impute edilmiş ve aykırı değerler IQR (Interquartile Range) yöntemi kullanılarak tespit edilmiş ve yönetilmiştir (Whaley III, 2005). Ek olarak, veri normalizasyonu ve standardizasyonu gerçekleştirilmiştir. Normalleştirme min-max ölçeklendirme kullanılarak yapılmış ve verilerin Gauss dağılımını takip etmesini sağlamak için standardizasyon uygulanmıştır. Veri setimizdeki dengesizlik göz önünde bulundurularak, sınıf dengesizliğini ortadan kaldırmak için rastgele alt örnekleme uygulanmıştır. Bu yöntem, fazla temsil edilen sınıflardan örnekleri rastgele kaldırarak her sınıfın eşit şekilde temsil edilmesini sağlamıştır. Bu adımlar modelimizin doğruluğunu ve genelleştirilebilirliğini artırmak için çok önemlidir. Cinsiyet farklılıklarının çalışmadaki katılımcıların serum moleküler bileşimini etkileyebileceği düşünülmüştür. Ayrıca yaş ve diyabet, hipertansiyon ve kardiyovasküler hastalıklar gibi komorbiditeler de analizde dikkate alınmıştır. Bu faktörlerin eşit temsilini sağlamak için sınıflar arasında dengeleme prosedürleri gerçekleştirilmiştir. Erkek ve kadınların eşit temsilini sağlamak için sınıflar arasında dengeleme prosedürleri gerçekleştirilmiştir. Bu dengeleme prosedürleri, her sınıf için eşit temsil sağlamak üzere veri setinin düzenlenmesini içermekte olup bootstrap teknikleri ile desteklenmiştir. Böylece, model tahminlerinde cinsiyet farklılıklarından kaynaklanan önyargılar en aza indirilmiştir.

3.3.2. Hasta Temelli Modeller

Hasta bazlı modellerde çeşitli demografik ve klinik değişkenler kullanılmıştır. Bu değişkenler Tablo E.1'de ayrıntılı olarak listelenmiştir. Ayrıca, analizde kullanılan spesifik 'S' değişkenler de aynı tabloda tanımlanmış ve açıklanmıştır.

3.3.3. Model Geliştirme

Çalışmanın model geliştirme aşamasında, bireysel değişkenliği etkin bir şekilde yönetmek ve sınıflandırma görevlerinde yüksek doğruluk sağlamak için çeşitli algoritmalar kullanılmıştır. Kullanılan algoritmalar arasında Rastgele Orman Sınıflandırıcısı (RFC), XGB Sınıflandırıcısı, Destek Vektör Makinesi (SVM) Sınıflandırıcısı ve Karar Ağacı Sınıflandırıcısı (DTC) yer almaktadır. Bunlar veri kümesinin benzersiz zorluklarını ve özelliklerini ele almak için özel olarak seçilmiş ve ince ayarlanmıştır. RFC, yüksek doğruluğu ve çok değişkenli büyük veri kümelerini işleme kabiliyeti nedeniyle karmaşık desenleri sınıflandırmada özellikle etkiliydi (Breiman, 2001). XGB Sınıflandırıcısı, gradyan artırma çerçevesi ile hız ve performans arasında bir denge sunmuştur (Tarwidi vd., 2023). SVM Sınıflandırıcısı, net bir ayırım marjına sahip veri kümeleri için ideal olan yüksek hassasiyet sağlamıştır (Testas, 2023). DTC ise basit ve yorumlanabilir bir model yapısı sunarak veri yapısına ilişkin ilk içgörüler için faydalı olmuştur (Gilmor vd., 2021; Kotsiantis, 2013). Modellerin performansını değerlendirmek için veriler %80 eğitim seti ve %20 test setine bölünmüştür. Eğitim seti model öğrenme aşamasında kullanılırken, test seti modellerin doğruluğunu ve genellenebilirliğini bağımsız olarak değerlendirmek için kullanılmıştır. Test seti, modelin daha önce görmediği, rastgele seçilen ve gerçek dünya performansını daha iyi yansıtmak için dengelenmiş örneklerden oluşuyordu. Bu çeşitli modeller dizisi, bireysel farklılıkları barındıran ve sınıflandırma görevlerinde yüksek doğruluk sağlayan sağlam bir tahmin çerçevesinin geliştirilmesinde çok önemli bir rol oynamıştır. F1-Skoru, Geri Çağırma ve Kesinlik Puanları gibi performans ölçümleri, modellerin hem eğitim hem de görülmemiş test verilerindeki etkinliğinin altını çizerek, geliştirilen modellerin güçlü genellenebilirliğini ve güvenilirliğini göstermektedir.

3.3.4. Permütasyon Özellik Önemi

Permütasyon Özellik Önemi (PFI), bireysel özelliklerin bir modelin tahmin performansı üzerindeki etkisini tespit etmek için kullanılan bir tekniktir (Altmann vd., 2010). Bu yöntem, her bir özelliğin değerlerinin permütasyonu yoluyla önem puanının hesaplanmasını ve model doğruluğunda ortaya çıkan değişimin gözlemlenmesini içerir. Matematiksel olarak, bir özelliğin (f) önemi (I) formül 3.3.4.1'deki gibi ifade edilebilir:

$$I(f) = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N (Acc_{original} - Acc_{permuted_i}) \quad (3.3)$$

Burada (N) tüm özelliklerin kümesi, (S) (i) hariç özelliklerin bir alt kümesi, (v(S)) sadece (S)'deki özellikler kullanıldığında tahmin modelinin çıktısı ve (|S|) (S)'deki özelliklerin sayısıdır.

Bu tez çalışması kapsamında PFI, özellikleri en iyi performanslı model algoritmasındaki önemlerine göre sıralamak için kullanılmıştır. Permütasyon işlemi, her bir özelliğin değerlerinin veri noktaları arasında sistematik olarak karıştırılmasını ve model doğruluğundaki düşüşün ölçülmesini içermektedir. Performanstaki değişim (Delta P) ile önem puanı (I) arasındaki ilişki formül 3.3.4.2 ile verilmiştir:

$$\Delta P = - \sum_{f \in F} I(f) \quad (3.4)$$

Burada (F) tüm özelliklerin kümesidir. Performanstaki düşüş (\Delta P) ne kadar önemli olursa, permütasyonlu özelliklerin kümülatif önemi o kadar yüksek olur ve bu da modelin tahmin kabiliyetindeki kritik rollerini gösterir.

3.3.5. Açıklanabilir Yapay Zekâ (AYZ)

Makine öğrenimi alanında, Açıklanabilir Yapay Zekâ (AYZ) model tahminlerini aydınlatmak için çok önemli bir yaklaşım olarak ortaya çıkmıştır. Bu yaklaşımın merkezinde, her bir özelliğin modelin çıktısına katkısını ölçen SHAP (Shapley Additive Explanations) yöntemi yer almaktadır. Oyun teorisine dayanan SHAP, bir özellik önem sıralaması oluşturmak için Shapley değerlerinden yararlanır ve böylece modelin karar verme süreci hakkında şeffaf bir görünüm sunar (Rodríguez-Pérez ve Bajorath, 2020; Saarela ve Jauhiainen, 2021; Salih vd., 2023; Saranya ve Subhashini, 2023). Matematiksel olarak, bir özelliğin (i) katkısı (ϕ_i), tüm olası koalisyonlarda bir özelliğin ortalama marjinal katkısı olan Shapley değeri ile belirlenir. Formül, formül 3.3.5.1 ile verilmektedir:

$$\phi_i = \sum_{S \subseteq N \setminus \{i\}} \frac{|S|!(|N|-|S|-1)!}{|N|!} (v(S \cup \{i\}) - v(S)) \quad (3.5)$$

Burada (N) tüm özelliklerin kümesi, (S) (i) hariç özelliklerin bir alt kümesi, (v(S)) sadece (S)'deki özellikler kullanıldığında tahmin modelinin çıktısı ve (|S|) (S)'deki özelliklerin sayısıdır.

Bu araştırmada, ağaç tabanlı modeller için tasarlanmış bir SHAP çeşidi olan TreeSHAP'ı kullandık. TreeSHAP, özellik katkılarını yüksek verimlilikle hesaplamak için karar ağaçlarının

ve spektral dalga sayılarının doğal yapısından yararlanır. Bu yöntem bize sınıflandırma görevlerimizde örnek tabanlı ve spektral dalga sayısı tabanlı özelliklerin önemini gösterdi (Lundberg vd., 2020; J. Yang, 2021). Sonuç olarak, sınıflandırma şemasında hangi örneklerin ve spektral dalga sayılarının ve buna bağlı olarak bant konumlarının büyük önem taşıdığını belirledik. SHAP metodolojisi, araştırmacılara modellerinin iç mekaniğini incelemek ve bireysel özelliklerin tahminler üzerindeki etkisini titizlikle değerlendirmek için paha biçilmez bir araç sunar. Bu ayrıntılı anlayış, model performansının iyileştirilmesinde ve sonuçlarının güvenilirliğinin sağlanmasında önemli bir rol oynamaktadır.

3.4.SDS-PAGE Elektrofrez ve Western Blot Yöntemleri

Serum örneklerinden protein izolasyonu proteaz (Thermo Scientific) ve fosfataz inhibitör kokteyli (Thermo Scientific) içeren T-PER (Thermo Scientific) protein lizis tamponu kullanılarak yapılmıştır. Serum örneklerinin üzerine 4 kat lizis buffer solüsyonu eklenerek, 5'er dakikalık zaman aralıklarında vortekslenmek üzere 30 dakika boyunca buzda inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda proteinler, 14000xg'de, 4°C'de, 15 dakika boyunca santrifüj uygulanarak toplanmıştır.

Western blot için, %12 SDS, %30 (v/v) β-merkaptotanol, %30 (v/v) gliserol, %0,02 (w/v) bromofenol mavisi, 375 mM Tris HCl (pH 6.8) içeren 6X yükleme boyası ile 95°C'de 6 dakika kaynatılmış, %10'luk ayırma (separating) jeli ve %4'lük yığılma (stacking) jeli olacak şekilde hazırlanan SDS-PAGE'e yüklenmiş ve 70V'da stacking jel (üst jel) ve 110V'da separating jel (alt jel) boyunca yürütülmüştür (Tablo 3.1).

Tablo 3.1. SDS-PAGE için ayırma ve yığılma jeli hazırlama prosedürü.

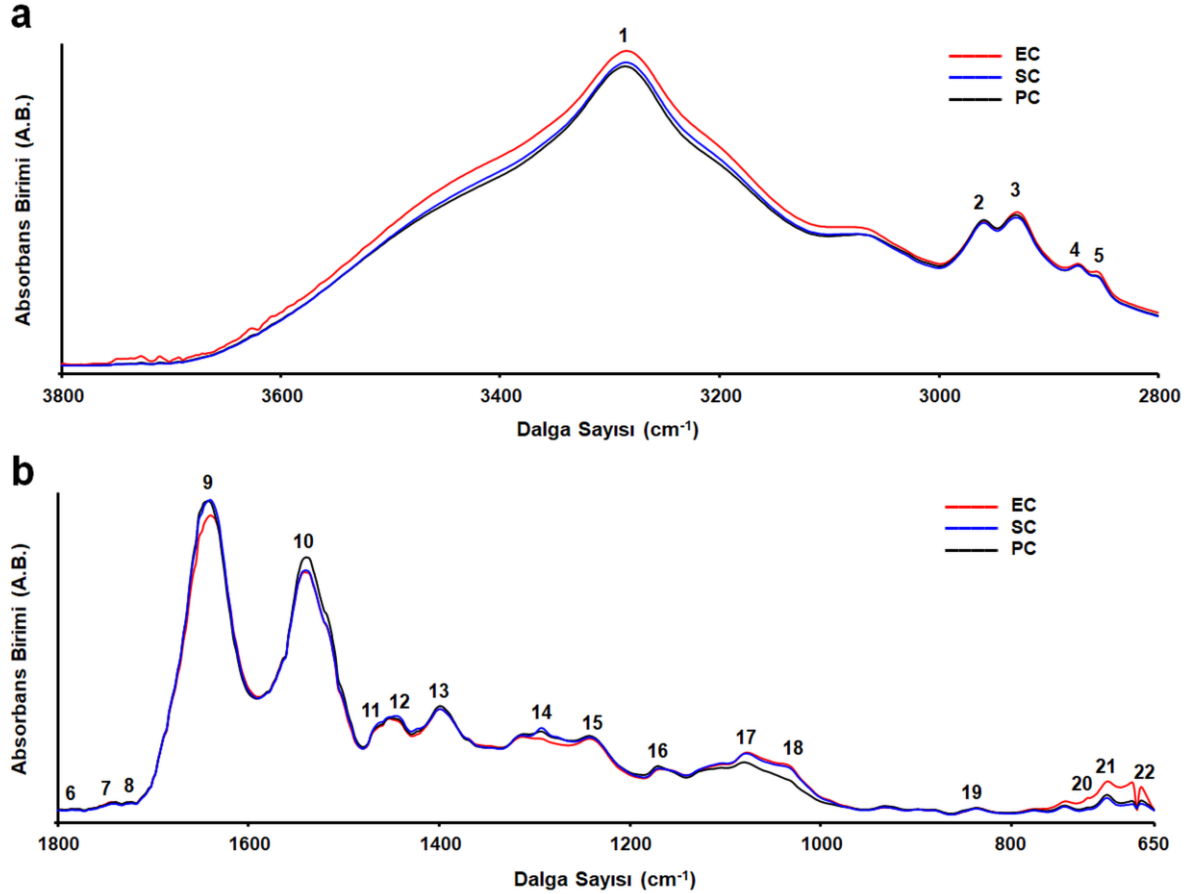
%10'luk Ayırma (Separating) Jeli	%4'lük Yığılma (Stacking) Jeli
3,240 mL dH ₂ O	1,806 mL dH ₂ O
2,08 mL 4x Separating Buffer (Tris (Applichem): 0,5 M 181,7 g/L, SDS (Applichem) 3,84 g/L pH 8,8)	779 µL 4x Stacking Buffer (Tris (Applichem): 0,5 M 60,56 g/L, SDS (Applichem) 3,84 g/L pH 6,8)
29:1 Akrilamid/bisakrilamid (Hoefer): 2,64 mL	29:1 Akrilamid/bisakrilamid (Hoefer): 397 µL
%10 APS (Merck): 40 µL	%10 APS (Merck): 14,98 µL
Temed (Biorad): 10 µL	Temed (Biorad): 3,74 µL

Jeldeki proteinlerin Poliviniliden florür (PVDF) membrana aktarımından önce membran 30 saniye metanol ile aktive edilmiş ve ardından 5 dakika 1x transfer tamponunda (1x transfer tampon: 100 mL 10x transfer tamponu, 200 mL metanol, 700 mL dH₂O; 10x transfer tamponu: 25 mM 30,2 g/L Tris (Appllichem), 192 mM 144 g/L Glisin (Serva) bileşenleri 1 L steril dH₂O ile çözündürülür) bekletilmiştir. Proteinler Hoefer TE70XP yarıkuru transfer sistemi (Massachusetts, ABD) kullanılarak 200 mA'da 1,5 saat süreyle poliviniliden diflorür (PVDF) membrana aktarılmıştır. Membran, Ponceau S (Serva; 0,2 g Ponceau S solüsyonu, karanlık ortamda 10 mL asetik asit ile çözündürülüp, dH₂O ile 200 mL'ye tamamlanarak hazırlanmıştır) solüsyonu ile oda sıcaklığında yatay çalkalayıcıda 30 dakika inkübe edilerek, inkübasyon sonunda membran üzerindeki fazla boyanın giderilmesi amacıyla dH₂O ile yıkanarak Syngene G: BOX (Synoptics Ltd.; Nuffield Road, Cambridge) görüntüleme cihazında görüntülenmiştir. Görüntülenmenin ardından Ponceau S'in membrandan tamamen giderilmesi için yatay çalkalayıcı kullanılarak 3 kez ve her biri 15 dakika olmak üzere 1X TBS-T (Tris-Buffered Saline-%0,1 Tween20, v/v) ile yıkama yapılmıştır. 1X TBS-T içerisinde hazırlanan %5'lik yağsız süt tozu ile oda sıcaklığında, yatay çalkalayıcıda 1 saat boyunca inkübe edilen membran, takiben 4°C'de gece boyu yatay çalkalayıcıda primer antikor (Biorbyt, Human IgG+IgM+IgA Antibody, Cat: orb216291) ile inkübe edilmiştir. Primer antikor toplandıktan sonra membran yatay çalkalayıcı kullanılarak 3 kez ve her biri 15 dakika olmak üzere 1X TBS-T ile yıkanmış ardından HRP konjuge ikincil antikor (Bioss, Goat Anti-Rabbit IgG Antibody, Cat: bs-0295G) ile oda sıcaklığında 1 saat inkübe edilmiştir. İkinci antikor uzaklaştırılmış ve membran oda sıcaklığında her bir yıkama 15 dakika olmak üzere 3 kez 1X TBS T ile yıkanmıştır. Bantlar ECL solüsyonu (membran Serva ve/veya Advansta markalı ECL solüsyonları ile 3 dakika oda sıcaklığında ve karanlık ortamda inkübe edilmiştir) kullanılarak Syngene G: BOX (Synoptics Ltd.; Nuffield Road, Cambridge) görüntüleme cihazında görüntülenmiştir (Collins, 2016; Wynne vd., 2013).

4. BULGULAR

4.1.Moleküler Yapı ve Özelliklerin Spektrokimyasal Karakterizasyonu

Şekil 4.1, kritik hastalardan (entübe ve servis grupları) ve iyileşmiş hastalardan alınan serumun $3800-650\text{ cm}^{-1}$ kızılötesi spektral bölgedeki taban çizgisi düzeltilmiş ortalama spektrumlarını göstermektedir. Bu bölgede seçilen alan değerleri ve konumları hesaplanan spektral bantlar etiketlenerek kritik değişimlerin gözlemlendiği bantlar Tablo 4.1’de tanımlanmıştır. Şekil 4.1a $3800-2800\text{ cm}^{-1}$ spektral penceresindeki lipit ve proteinlerle ilgili değişiklikleri göstermektedir. Öte yandan, $1800-650\text{ cm}^{-1}$ arasında sağlanan parmak izi spektral penceresi proteinlerin, karbohidratların, lipidlerin ve nükleik asitlerin fonksiyonel gruplarındaki değişiklikleri ifade eden bantlar içermektedir (Şekil 4.1, Tablo 4.2).



Şekil 4.1. Entübe COVID-19 (EC), Servis COVID-19 (SC) ve Post-COVID (PC) hastalardan alınan serumun (a) $3800-2800\text{ cm}^{-1}$ ve (b) $1800-650\text{ cm}^{-1}$ kızılötesi spektral bölgelerindeki taban çizgisi düzeltilmiş ortalama spektrumları. Taban çizgisi düzeltme, 64 temel nokta ile Rubberband düzeltme yöntemi kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

Tablo 4.1. 3800-650 cm^{-1} kızılötesi spektral bölgesindeki Entübe COVID-19 (EC), Servis COVID-19 (SC) ve Post-COVID (PC) hastaların ortalama serum spektrumlarında kritik değişimler gözlemlenen bantlar ve tanımlamaları.

No	Bant	Tanım
1	3356 cm^{-1}	N-H germe titreşimi
2	2974 cm^{-1}	CH ₃ antisimetrik germe titreşimleri
3	2920 cm^{-1}	CH ₂ antisimetrik germe titreşimleri
4	2873 cm^{-1}	CH ₃ simetrik germe titreşimleri
5	2852 cm^{-1}	CH ₂ simetrik germe titreşimleri
6	1783 cm^{-1}	C=O germe titreşimleri
9	1652 cm^{-1}	C=O bükülme titreşimleri
10	1538 cm^{-1}	N-H bükülme titreşimleri
14	1293 cm^{-1}	C-N germe ve N-H bükülme
15	1235 cm^{-1}	PO ₂ - antisimetrik germe titreşimi
17	1074 cm^{-1}	PO ₂ - simetrik germe titreşimi

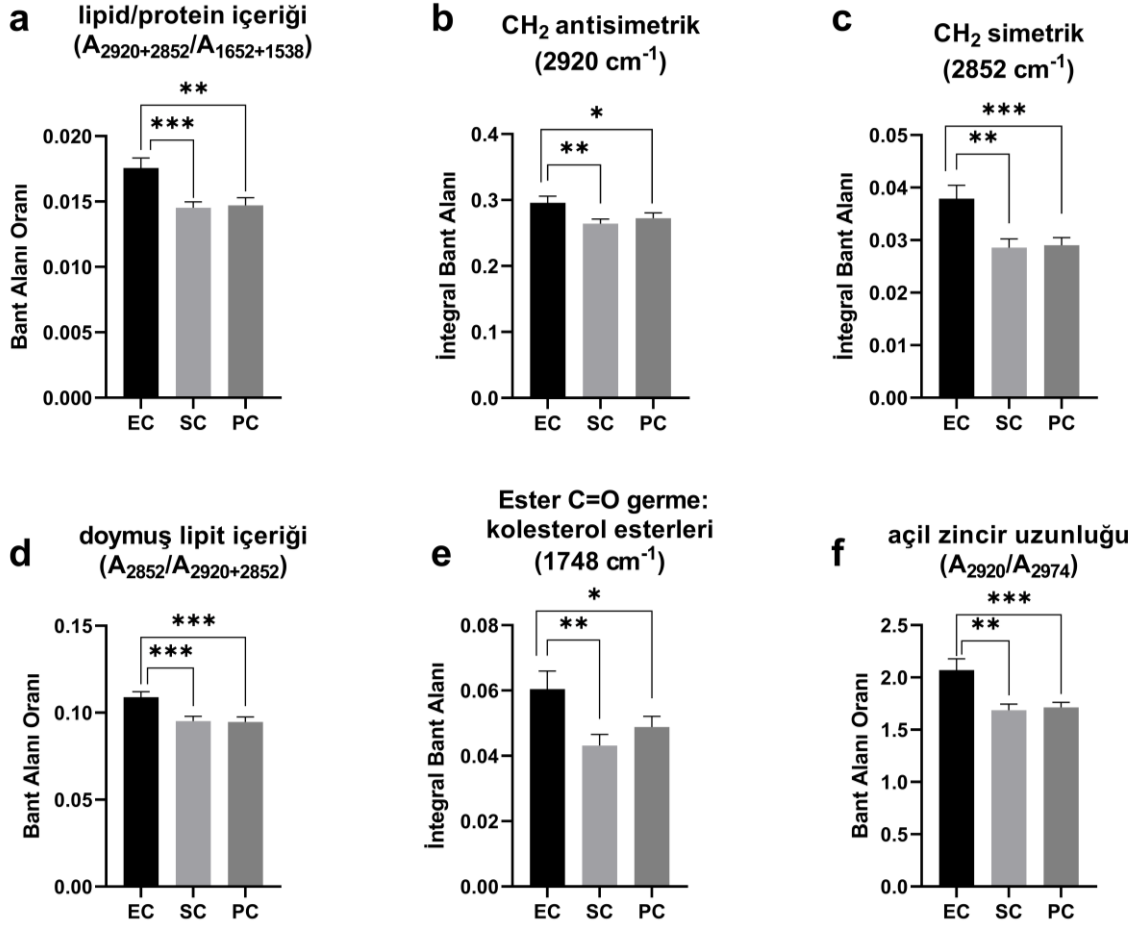
Tablo 4.2. COVID-19 hastalarının serumlarından elde edilen kızılötesi spektral bantların tanımlamaları.

Bant	Dalga sayısı (cm^{-1})	Titreşim modu/ moleküler bağ	Biyomoleküler tanımlamalar	Kaynakça
1	3356	N-H gerilme titreşimi	Proteinler (amid A)	(Koehler vd., 2022; Zhang vd., 2021)
2	2974	CH ₃ antisimetrik gerilme titreşimi	Lipitler (yağ asitleri, kolesterol esterleri); proteinler	(Dogan vd., 2021; Koehler vd., 2022; Ustaoglu vd., 2021)
3	2920	CH ₂ antisimetrik gerilme titreşimi	Lipitler (yağ asitleri)	(Dogan vd., 2021; Koehler vd., 2022; Ustaoglu vd., 2021)
4	2873	CH ₃ simetrik gerilme titreşimi	Proteinler	(Dogan vd., 2021; Yonar vd., 2022; Zhang vd., 2021)
5	2852	CH ₂ simetrik gerilme titreşimi	Lipitler (yağ asitleri)	(Dogan vd., 2021; Koehler vd., 2022; Ustaoglu vd., 2021)
6	1783	C=O	IgG karbonil grubu - glikozilasyon	(Bandeira vd., 2022)
7	1748	C=O gerilme titreşimi	Lipitler (yağ asitleri, kolesterol esterleri)	(Bandeira vd., 2022; Koehler vd., 2022; Yonar vd., 2022)
8	1725	C=O	Polisakkaritler	(Bandeira vd., 2022)
9	1652	C=O gerilme titreşimi	Proteinler (amid I)	(Ceylani vd., 2022; Koehler vd., 2022; Ustaoglu vd., 2021)
10	1538	N-H bükülme titreşimi	Proteinler (amid II)	(Ceylani vd., 2022; Koehler vd., 2022; Ustaoglu vd., 2021)
11	1467	CH ₂ bükülme	Lipitler	(Yonar vd., 2022)
12	1455	CH ₂ ve CH ₃ bükülme titreşimi	Lipitler (yağ asitleri); proteinler	(Koehler vd., 2022)
13	1400	COO ⁻ simetrik gerilme titreşimi	Proteinler, lipitler	(Zhang vd., 2021)
14	1293	C-N gerilme ve N-H bükülme	Proteinler (amid III)	(Yonar vd., 2022; Zhang vd., 2021)

Tablo 4.2.(devamı) COVID-19 hastalarının serumlarından elde edilen kızılötesi spektral bantların tanımlamaları.

Bant	Dalga sayısı (cm ⁻¹)	Titreşim modu/ moleküler bağ	Biyomoleküler tanımlamalar	Kaynakça
15	1235	PO ₂ ⁻ antisimetrik bükülme titreşimi	Nükleik asitler, fosfolipitler	(Bel'skaya vd., 2021; Ceylani vd., 2022; Koehler vd., 2022)
16	1163	Ester C-O-C antisimetrik gerilme titreşimi	Lipidler (fosfolipidler, trigliseridler ve kolesterol esterleri)	(Zhang vd., 2021)
17	1074	PO ₂ ⁻ simetrik gerilme titreşimi	Nükleik asitler, fosfolipitler	(Koehler vd., 2022; Ustaoglu vd., 2021; Zhang vd., 2021)
18	1030	C-O gerilme titreşimi	Karbohidratlar	(Koehler vd., 2022; Ustaoglu vd., 2021)
19	834	DNA'nın A-form ve B-form sarmal konformasyonu	Nükleik asitler (DNA)	(Yonar vd., 2022)
20	720	C-H deformasyonu		(Talari vd., 2017)
21	700		Tanımlanmamış bant	
22	659		Tanımlanmamış bant	

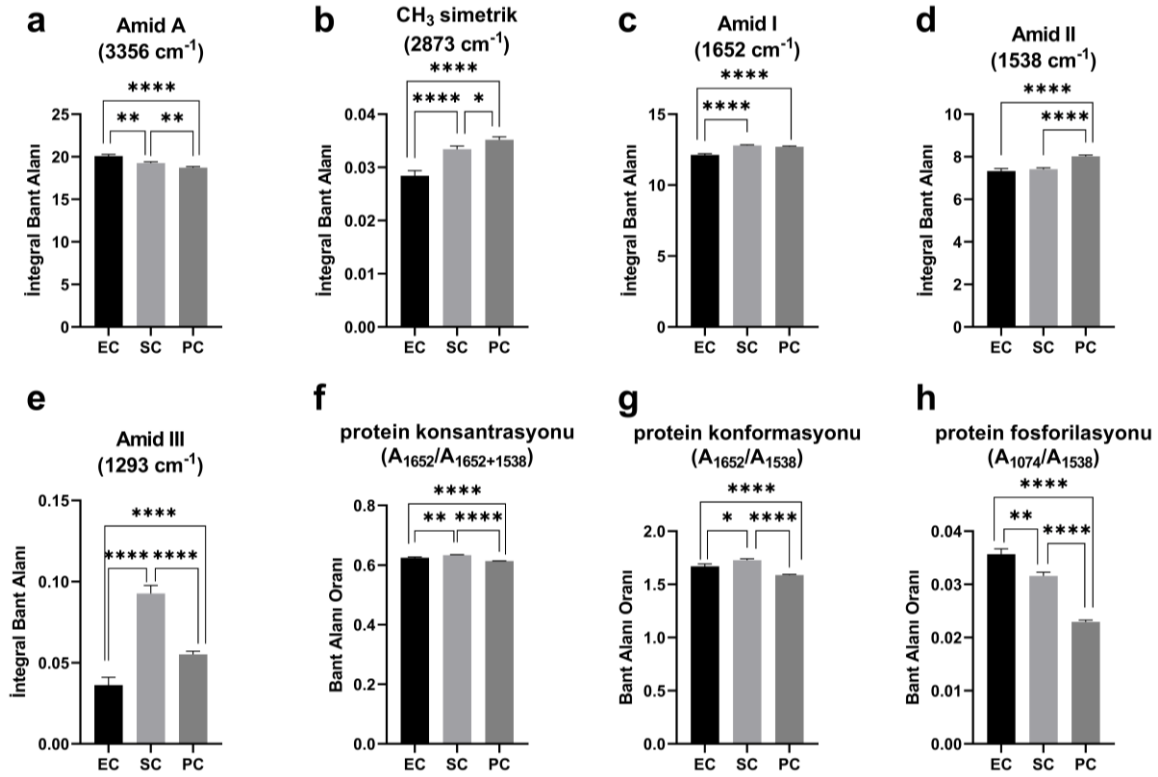
Lambert-Beer yasasına göre, kızılötesi spektroskopide değişen absorpsiyon bantlarının yoğunluğu veya alanı, ilgili molekülün konsantrasyonu ile doğru orantılıdır. Sonuç olarak, lipid, protein ve nükleik asit miktarları ve yapıları, proteinlerin fosforilasyonu, IgG glikozilasyonu ve glukoz konsantrasyonları dâhil olmak üzere çeşitli spektrokimyasal parametreler hesaplanmıştır. Bu parametreler, moleküllerin bileşimi ve davranışı hakkında değerli bilgiler sağlayarak araştırmacıların karmaşık biyolojik sistemleri ve kimyasal etkileşimleri anlamalarına yardımcı olur. Şekil 4.2, lipidlerle ilişkili çeşitli spektrokimyasal parametrelerdeki kantitatif değişiklikleri göstermektedir. Entübe hastalarda (EC grubu) yüksek serum lipidleri, lipid/protein indeksindeki artışlarla yansıtılmaktadır (Şekil 4.2a). Alifatik CH₂ gruplarına ait ~2920 cm⁻¹ (CH₂ antisimetrik gerilme) ve ~2852 cm⁻¹ (CH₂ simetrik gerilme) bantları lipitlerdeki uzun hidrokarbon zincirlerinden kaynaklanmaktadır (Yonar vd., 2022). CH₂ antisimetrik ve simetrik bantlarının integral bant alanlarının ölçümü, EC hastalarının serumlarında artmış lipid içeriğini gösterir (Şekil 4.2b-c). Lipid metabolizmasındaki modülasyonlar doymuş lipidler ve kolesterol esterlerindeki (C=O grupları) artışlara da yansımaktadır (Şekil 4.2d-e). Yağ asitlerinin açıl zinciri uzunluğu, hücre zarının genel metabolik aktivitesi ile ilişkili önemli bir parametredir. Daha yüksek bir açıl zinciri uzunluğu değeri daha uzun zincirli yağların varlığını gösterirken, daha düşük bir değer daha kısa zincirli ve/veya daha dallanmış lipitlerin varlığına işaret eder (Ceylani vd., 2022; Yonar vd., 2022). Diğer COVID-19 hasta gruplarıyla karşılaştırıldığında EC hastaları için artan açıl zinciri uzunluğu hesaplanmıştır (Şekil 4.2f).



Şekil 4.2. Lipitle ilişkili moleküler özelliklerdeki spektrokimyasal değişiklikler. (a) lipid/protein içeriği ($A_{2920+2852}/A_{1652+1538}$), (b) CH₂ antisimetrik (2920 cm^{-1}), (c) CH₂ simetrik (2852 cm^{-1}), (d) doymuş lipid içeriği ($A_{2852}/A_{2920+2852}$), (e) Kolesterol esterleri (ester C=O germe/ 1748 cm^{-1}) ve (f) açıl zincir uzunluğu indeksi (A_{2920}/A_{2974}). Anlamlılık derecesi * $p \leq 0.05$, ** $p \leq 0.01$, *** $p \leq 0.001$ olarak gösterilmiştir.

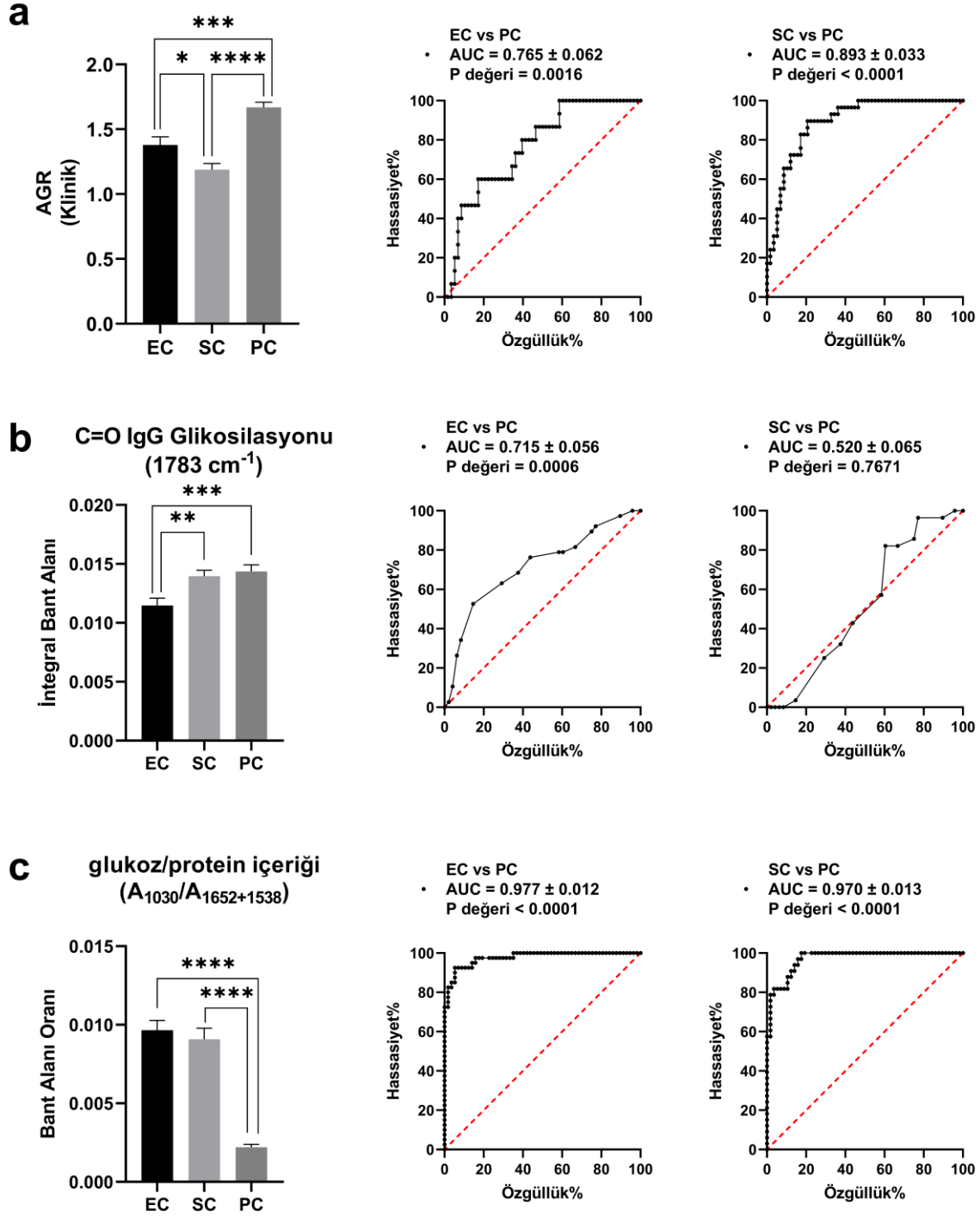
Proteinle ilgili farklı spektrokimyasal parametreler Şekil 4.3'te gösterilmiştir. Çeşitli amid bantlarından ve CH₃ simetrik germe bandından (Dogan vd., 2021) kaynaklanan proteinlerin alt yapısal varlıklarının hesaplamaları, amid A bandı hariç EC grubundaki proteinlerde önemli bir azalma olduğunu göstermiştir (Şekil 4.3a-e). Amid I bandı proteinlerin C=O gerilmesinden kaynaklanırken, amid II ve amid A bantları sırasıyla N-H bükülmesinden ve N-H gerilmesinden ortaya çıkmaktadır. Öte yandan, amid III bandı proteinlerin hem C-N gerilmesini hem de N-H bükülmesini yansıtmaktadır (Tablo 4.2). İyi bilinen protein bantlarının oranı yani amid I/amid I + amid II indeksi biyolojik sistemlerdeki protein konsantrasyonunu ifade eder (Yonar vd., 2022). Ayrıca, amid I/amid II oranı protein konformasyonu için bir indekstir (Ceylani vd., 2022). Sonuçlar, protein konsantrasyonlarının ve konformasyonel değişikliklerin EC grubunda PC grubuna kıyasla sırasıyla daha yüksek ve daha güçlü olduğunu

ve SC grubuna kıyasla bunun tersinin geçerli olduğunu göstermiştir (Şekil 4.3f-g). Diğer hasta gruplarıyla karşılaştırıldığında EC grubu için fosforile proteinlerin miktarının arttığı gösterilmiştir (Şekil 4.3h).



Şekil 4.3. Proteinle ilişkili moleküler özelliklerdeki spektrokimyasal değişiklikler. (a) Amid A (3356 cm^{-1}), (b) CH_3 simetrik (2873 cm^{-1}), (c) Amid I (1652 cm^{-1}), (d) Amid II (1538 cm^{-1}), (e) Amid III (1293 cm^{-1}), (f) protein konsantrasyon indeksi ($A_{1652}/A_{1652+1538}$), (g) protein konformasyon indeksi (A_{1652}/A_{1538}) ve (h) protein fosforilasyon indeksi (A_{1074}/A_{1538}). Anlamlılık derecesi * $p \leq 0.05$, ** $p \leq 0.01$, **** $p \leq 0.0001$ olarak gösterilmiştir.

Albüminler ve globulinler kanın ana bileşenleridir. Spesifik olmayan bağışıklık yanıtlarındaki modülasyonların, özellikle de serum AGR indeksindeki değişimin, hastalığın varlığı ve sonuçlarıyla ilişkili olduğu tespit edilmiştir (Suh vd., 2014; Ulloque-Badaracco vd., 2022). Bu nedenle, bu çalışmada EC, SC ve PC hasta grupları arasında immün yanıtların ve COVID-19 ilerlemesinin değerlendirilmesi için serum AGR indeksi (serum albümin/total protein - albümin olarak hesaplanır) kullanılmıştır. Sonuçlar, hasta grupları arasında AGR endeksinde önemli bir değişim olduğunu ortaya koymuştur (Şekil 4.4a). Bu endeks EC grubunda PC grubuna kıyasla azalmıştır (EC grubu/AUC = 0,765). Bununla birlikte, en düşük değer SC grubu için hesaplanırken, PC grubu için tam tersi olmuştur (SC grubu/AUC = 0,893). Dolayısıyla, AGR indeksi COVID-19 hastalarının bakımı ve hastaneye yatışı sırasında hızlı bir biyokimyasal parametre olarak kabul edilebilir.

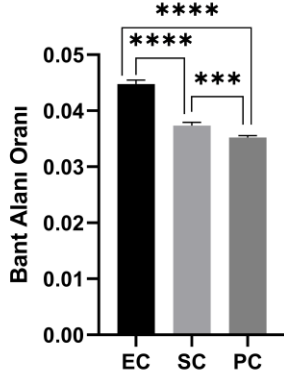


Şekil 4.4. (a) Albümin-globülin (AGR) indeksi, (b) IgG glikozilasyonu (C=O/A₁₇₈₃ cm⁻¹) ve (c) glukoz/protein indeksi (A₁₀₃₀/A₁₆₅₂₊₁₅₃₈) için moleküler özelliklerdeki değişiklikler ve bunlara karşılık gelen ROC eğrileri. Anlamlılık derecesi * p ≤ 0.05, **p ≤ 0.01, ***p ≤ 0.001, ****p ≤ 0.0001 olarak gösterilmiştir.

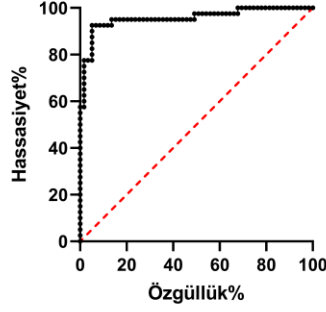
Bandeira ve arkadaşları, COVID-19 hastalarından alınan serum örneklerinde IgG yapısal özellikleri üzerine yaptıkları çalışmada, IgG glikozilasyon seviyelerinin önemli bir göstergesi olarak 1702-1785 cm^{-1} spektral aralığının önemini vurgulamışlardır. Ayrıca, bu spektral pencerenin COVID-19 vakalarının ciddiyetine bağlı olarak farklı alt popülasyonları keşfetmek için kullanılabileceğini öne sürmüşlerdir (Bandeira vd., 2022). Bulgularımıza göre, IgG glikozilasyonuna (IgG'deki C=O grupları) atanan 1783 cm^{-1} bandının integral alanı, entübe hastalarda (EC grubu/AUC = 0,715) PC grubuna kıyasla hastalık şiddeti arttıkça azalmıştır (Şekil 4.4b). Glukoz, şeker metabolizması için hayati bir moleküldür. EC grubunda glukoz konsantrasyonu 0,977 AUC değeri ile diğer hasta gruplarına göre daha yüksekti (Şekil 4.4c). Bu nedenle, IgG glikozilasyon düzeyi ve glukoz endeksleri COVID-19 şiddetinin erken tahmininde dikkate alınabilir.

PO_2 fonksiyonel gruplarındaki titreşimler, serumdaki nükleik asitlerin veya fosfolipidlerin fosfodiester grupları tarafından ortaya çıkar (Yonar vd., 2022). Ayrıca, insan serumundaki iki ana fosfolipidin (sfingolipidler ve lisesitin) COVID-19'un şiddetiyle birlikte arttığı bildirilmiştir (Zhang vd., 2021). 1235 cm^{-1} ve 1074 cm^{-1} dalga boyundaki bantlar sırasıyla PO_2^- fonksiyonel gruplarının antisimetrik ve simetrik gerilme titreşimleri olarak tanımlanmıştır. Sonuçlarımız 0,956 AUC değeri ile EC grubunda daha yüksek nükleik asit konsantrasyonları olduğunu göstermiştir (Şekil 4.5a). Ayrıca, 720 cm^{-1} 'deki C-H deformasyon bandı 0,898 AUC değeri ile EC grubunda yüksek oranlarda ortaya çıkmaktadır (Şekil 4.5b). Kritik değişiklikler henüz atanmamış bantlarda da görülmüştür. Özellikle EC grubunda 659 cm^{-1} 'deki belirgin ve ayırt edici bandın (AUC = 0,884) potansiyel bir biyobelirteç olarak özel dikkat gerektirdiğini göstermektedir (Şekil 4.5c).

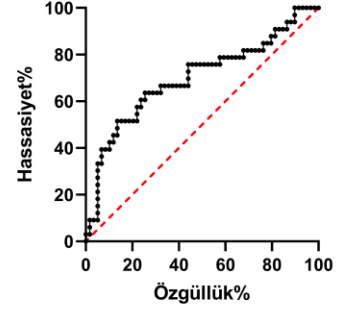
a nükleik asit/protein içeriği
($A_{1235+1074}/A_{1652+1538}$)



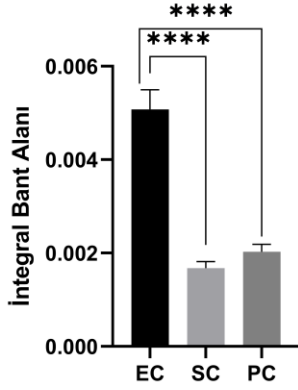
EC vs PC
• AUC = 0.956 ± 0.022
P değeri < 0.0001



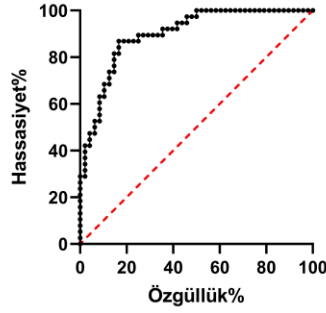
SC vs PC
• AUC = 0.699 ± 0.060
P değeri = 0.0016



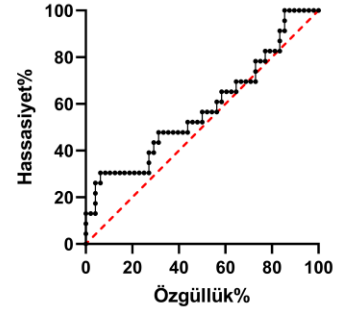
b C-H deformasyonu
(720 cm^{-1})



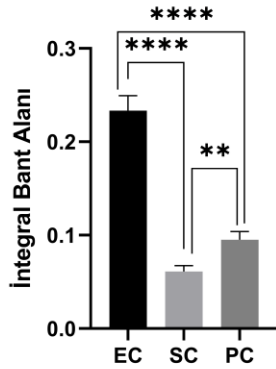
EC vs PC
• AUC = 0.898 ± 0.032
P değeri < 0.0001



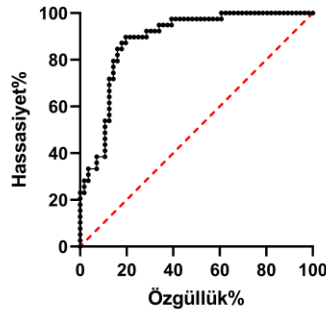
SC vs PC
• AUC = 0.579 ± 0.075
P değeri = 0.2796



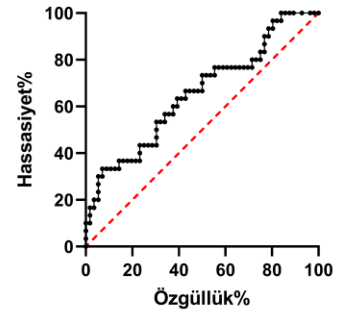
c 659 cm^{-1}



EC vs PC
• AUC = 0.884 ± 0.034
P değeri < 0.0001



SC vs PC
• AUC = 0.655 ± 0.062
P değeri = 0.0180



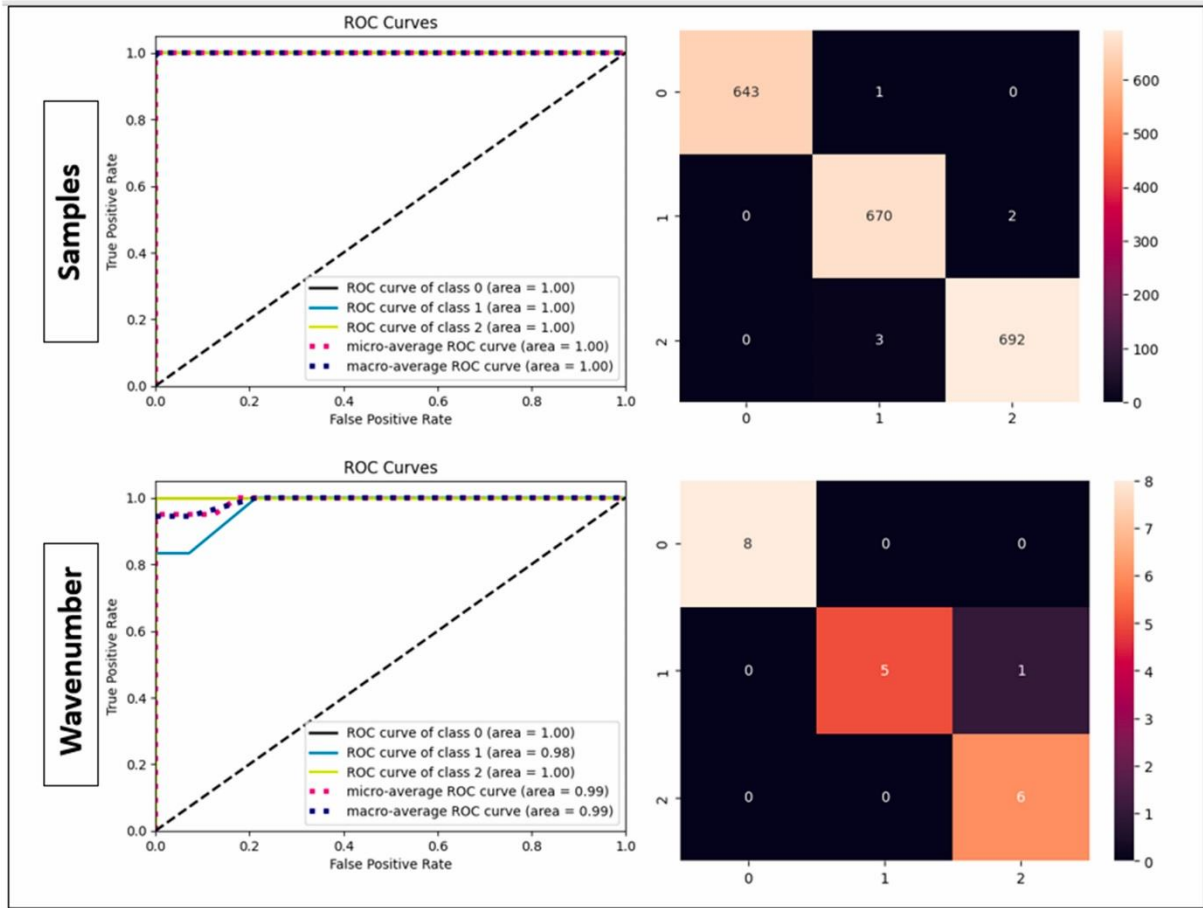
Şekil 4.5. (a) nükleik asit/protein indeksi ($A_{1235+1074}/A_{1652+1538}$), (b) C-H deformasyonu (720 cm^{-1}) ve (c) atanmamış bant (659 cm^{-1}) için moleküler özelliklerde karşılık gelen ROC eğrileri ile spektrokimyasal değişiklikler. Anlamlılık derecesi $**p \leq 0.01$, $***p \leq 0.001$, $****p \leq 0.0001$ olarak gösterilmiştir.

4.2.Açıklanabilir Yapay Zekâ Bulguları

4.2.1. Model Geliştirme ve Doğrulama

Hasta bazlı analizlerde ilk olarak en iyi 50 özelliği belirlemek için Permütasyon Özellik Önemi (PFI) uygulandı. Daha sonra, bu bireysel hasta özelliklerinin COVID sonrası, servis veya entübe durumların sınıflandırılmasına katkısını değerlendirmek için SHAP (Shapley Additive exPlanations) kullandık. Bu, hastalık durumlarının bireysel özelliklere göre nasıl farklılık gösterdiğini anlamamızı sağladı. Dalga boyuna dayalı analizlerde SHAP, belirli dalga boylarının sınıflandırma modeline katkısını incelemek için kullanıldı ve hangi dalga boylarının hastalık durumlarını moleküler düzeyde ayırt etmede daha etkili olduğunu belirlememize yardımcı oldu. Bu iki analitik yaklaşım, modelimizin performansını kapsamlı bir şekilde analiz etmemizi ve farklı veri türlerinin (demografik ve spektral) sınıflandırma başarısı üzerindeki etkisini göstermemizi sağladı.

Model geliştirme aşamasında, sınıflandırma modellerinin oluşturulmasını ve değerlendirilmesini kolaylaştırmak için scikit-learn paketi kullanılmıştır. Paketin metriklerinden elde edilen sınıflandırma raporları, model performansının kapsamlı bir değerlendirmesini sağlamıştır (Şekil 4.6 ve Tablo 4.2).



Şekil 4.6. En iyi performans gösteren Rastgele Orman Sınıflandırıcı (RFC) modeli algoritmasının ROC/AUC eğrisi ve karışıklık matrisi.

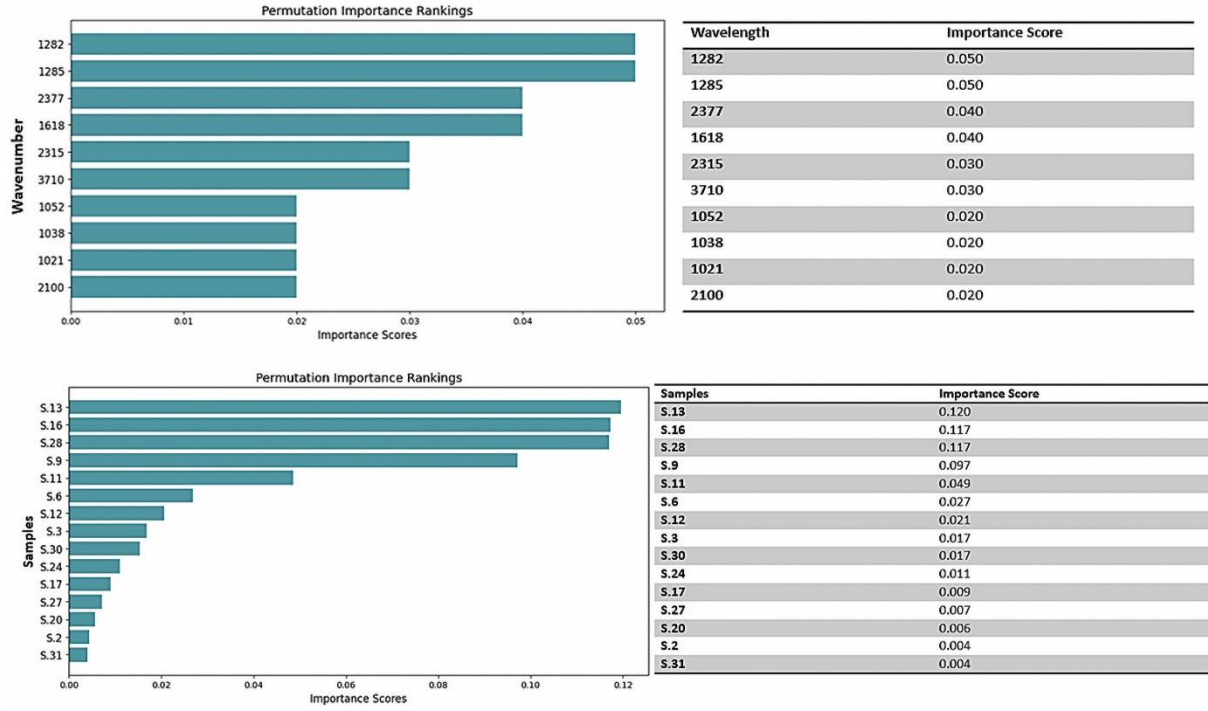
Tablo 4.3. Birleşik sınıflandırma modeli performansı.

Modeller	Train Accuracy	Test Accuracy	F1-Score	Recall Score	Precision Score	Özgüllük	Model Tipi
Random Forest Classifier (RFC)	1,000	0,996	0,996	0,996	0,996	0,996	Hasta bazlı
XGBClassifier	0,982	0,965	0,965	0,965	0,965	0,965	Hasta bazlı
SVM Classifier (SVM)	0,999	0,996	0,996	0,996	0,996	0,996	Hasta bazlı
Decision Tree Classifier (DTC)	1,000	0,980	0,980	0,980	0,980	0,980	Hasta bazlı
Random Forest Classifier (RFC)	1,000	0,950	0,950	0,950	0,950	0,950	Dalga boyu bazlı
XGBClassifier	1,000	0,900	0,900	0,900	0,900	0,900	Dalga boyu bazlı
SVM Classifier (SVM)	0,569	0,550	0,550	0,550	0,550	0,550	Dalga boyu bazlı
Decision Tree Classifier (DTC)	1,000	0,900	0,950	0,950	0,950	0,950	Dalga boyu bazlı

[Hasta bazlı analizlerde SHAP, bireysel hasta özelliklerinin COVID sonrası, servis veya entübe durumların sınıflandırılmasına katkısını değerlendirmek için kullanılmıştır. Bu, hastalık durumlarının bireysel özelliklere göre nasıl farklılık gösterdiğini anlamamızı sağladı. Dalga boyuna dayalı analizlerde, belirli dalga boylarının sınıflandırma modeline katkısı SHAP kullanılarak incelenmiştir. Bu, hangi dalga boylarının hastalık durumlarını moleküler düzeyde ayırt etmede daha etkili olduğunu belirlememize yardımcı oldu. Bu iki analitik yaklaşım, modelimizin performansını kapsamlı bir şekilde analiz etmemizi ve farklı veri türlerinin (demografik ve spektral) sınıflandırma başarısı üzerindeki etkisini göstermemizi sağladı].

4.2.2. Permütasyon Özellik Önemi (PFI)

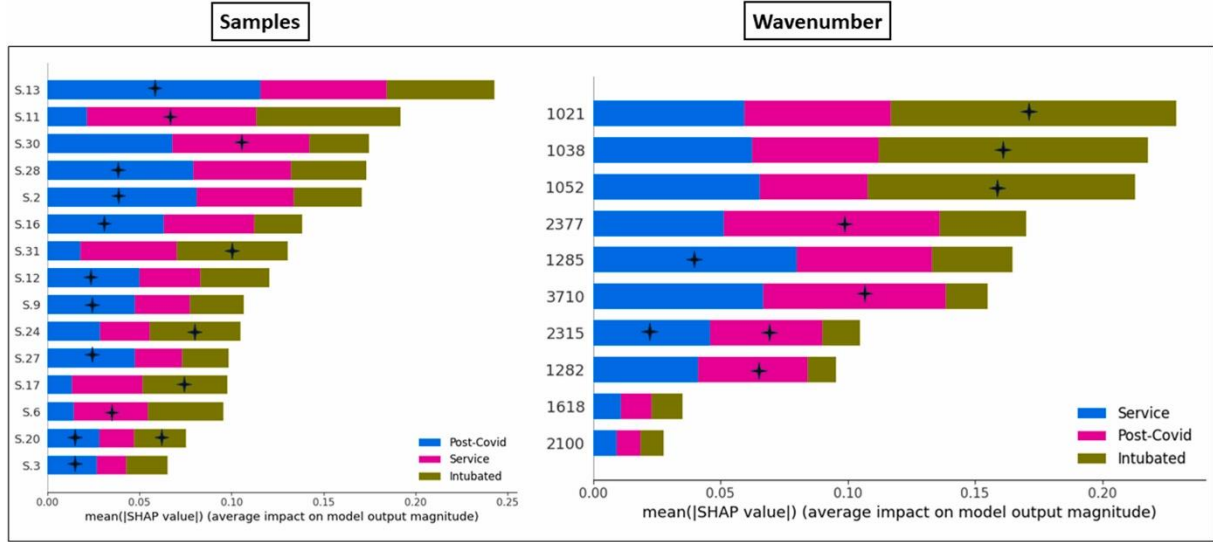
RFC modelinin sınıflandırmadaki etkinliğinin değerlendirilmesinde PFI analizi etkili olmuştur. Analiz, S.13, S.16, S.9, S.11, S.6, S.12 ve S.3 özelliklerinin çok önemli olduğunu ve S.13'ün (PFI skoru: 0.120) modelin çıktısı üzerinde en önemli etkiye sahip olduğunu ortaya koymuştur. Benzer şekilde, S.16 ve S.28 (PFI skoru: 0.117) özellikleri de performansın kritik belirleyicileri olarak tanımlanmıştır. Buna karşılık, S.17 özelliği minimum bir etki göstermiştir (PFI skoru: 0,009). Ayrıca, PFI skorları 0,050 olan 1282 cm^{-1} ve 1285 cm^{-1} dalga sayıları, COVID-19 tahmini için modelin doğruluğunu önemli ölçüde etkilediği kabul edilmiştir. Daha düşük önem puanlarına sahip olmalarına rağmen 2377 cm^{-1} , 1618 cm^{-1} , 2315 cm^{-1} ve 3710 cm^{-1} dalga sayıları da modelin veri analizine kayda değer katkıda bulunanlar olarak vurgulanmış ve COVID-19 ile ilgili özelliklerin tanımlanması ve sınıflandırılmasındaki potansiyel faydalarının altını çizmiştir (Şekil 4.7).



Şekil 4.7. Örneklerde ve dalga sayısı sınıflandırmalarında Permütasyon Özelliği önem değerleri ve çubuk grafiği.

4.2.3. Shapley Eklemeli exPlanations

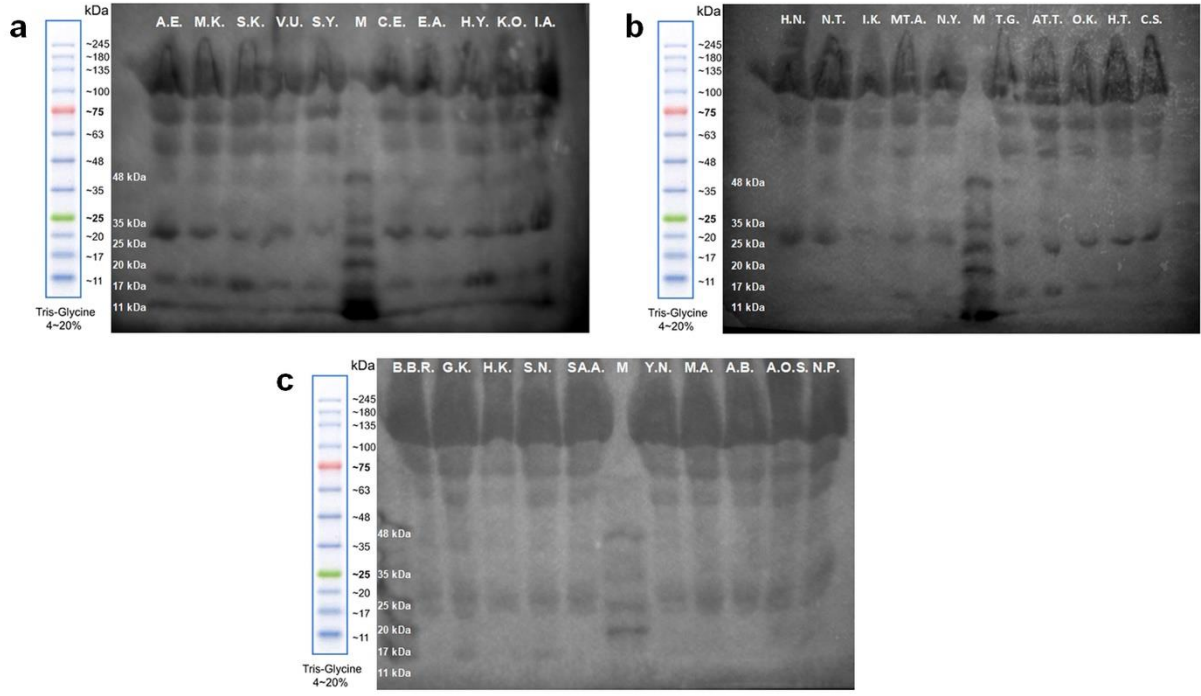
Çalışmanın ileri analitik aşamasında, modelin öngörücü davranışı hakkında daha derin içgörüler elde etmek için PFI skorları tarafından belirlenen ilk 50 özelliğe SHAP uygulandı. Her bir özelliğin modelin çıktısına katkısını açıklayan SHAP analizi, farklı hasta kategorileri arasında özellik öneminin farklı modellerini ortaya çıkardı. Bireysel verilere dayalı COVID sonrası analizde, S.13, S.28, S.2, S.16, S.12, S.9, S.27, S.20 ve S.3 özelliklerinin oldukça etkili olduğu görülmüştür. Hastane içi hizmet alan hastalar için S.11, S.30 ve S.6 özellikleri öne çıkarken, entübe edilenler için S.31, S.24, S.17 ve S.20 özellikleri öne çıkmıştır. Dalga boyuna dayalı analizde, 2377 cm^{-1} , 3710 cm^{-1} , 2315 cm^{-1} ve 1282 cm^{-1} dalga sayıları COVID sonrası bağlamda önemliyken, 1285 cm^{-1} ve 2315 cm^{-1} hastane servislerindeki hastalar için ve 1021 cm^{-1} , 1038 cm^{-1} ve 1052 cm^{-1} entübe hastalar için çok önemlidir. Bu bulgular, COVID-19'un etkisinin heterojenliğinin altını çizmekte ve SHAP'ın karmaşık özellik etkileşimlerini çözme potansiyelini vurgulamakta, böylece COVID-19'un sınıflandırılmasında model tahminlerini yönlendiren faktörlerin daha net anlaşılmasını sağlamaktadır (Şekil 4.8).



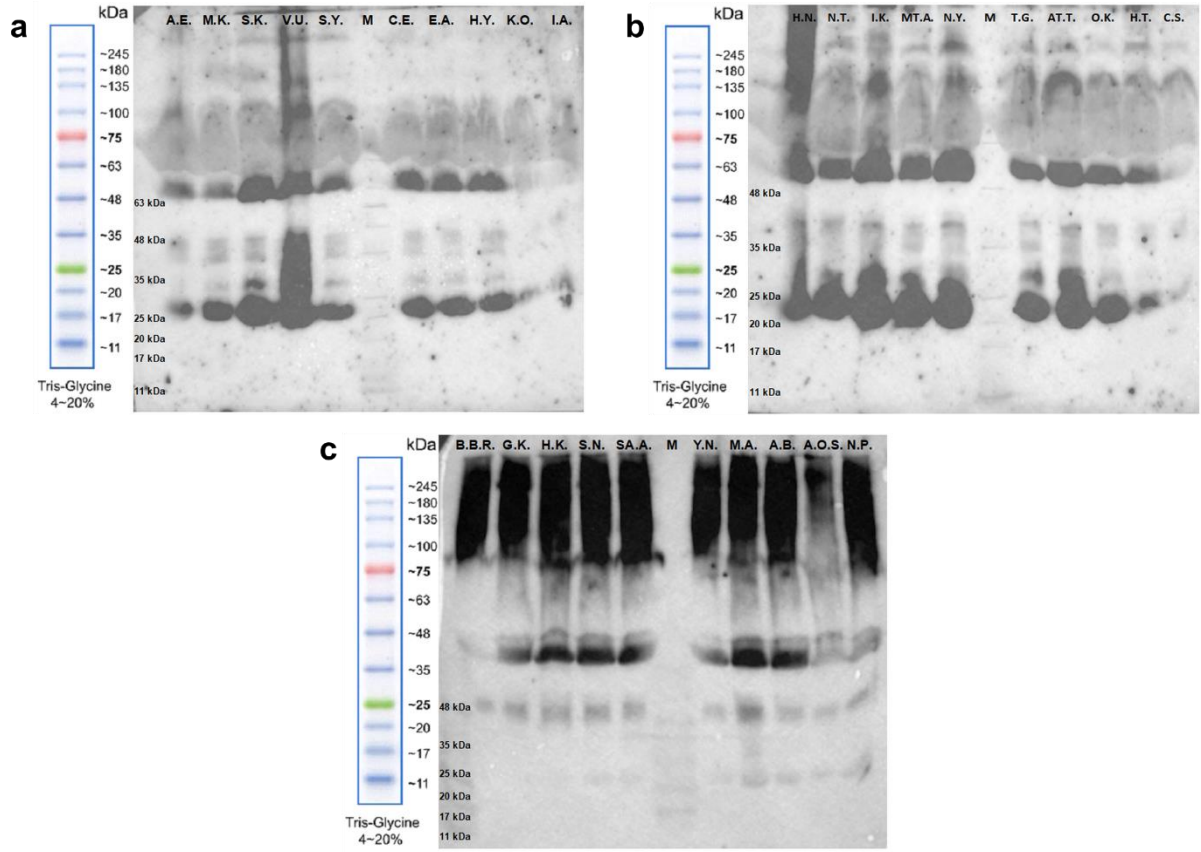
Şekil 4.8. Örneklerde açıklanabilir makine öğrenmesi sonucu oluşan SHapley değerlerine göre önemi belirlenen özet grafiği ve dalga sayısı sınıflandırması.

4.3. Serum Proteinlerinin İmmünblotlama Sonuçları

Bu tez çalışması kapsamında farklı şiddet derecelerindeki her bir gruptan (Entübe COVID, Servis COVID ve Post-COVID) 5 kadın ve 5 erkek olmak üzere toplam 30 hastanın serumları ile proteinlerin immünblotlama analizleri yapılmıştır. Bu analizler kapsamında seçilmiş olan hasta serumlarındaki proteinler %10 SDS-PAGE jelde ayrılmıştır. Serumdaki proteinlerin molekül ağırlığı Opti-Protein XL Marker (ABM Inc, Cat No: G266) kullanılarak tespit edilmiştir. Elde edilen sonuçlar Şekil 4.9 ve 4.10' da verilmiştir.



Şekil 4.9. Entübe COVID hastaların ponceau jel görüntüsü (a), Servis COVID hastaların ponceau jel görüntüsü (b) ve Post-COVID hastaların ponceau jel görüntüsü (c).



Şekil 4.10. Entübe COVID hastaların Western Blot membran görüntüsü (a), Servis COVID hastaların Western Blot membran görüntüsü (b) ve Post-COVID hastaların Western Blot membran görüntüsü (c).

Şekil 4.9’da 3 farklı grubun ponceu jel görüntüleri incelendiğinde Post-COVID (Şekil 4.9.c.) gruptaki hastaların total protein yoğunluklarının diğer iki gruba göre daha yüksek olduğu gözlenmektedir. Öte yandan, Servis COVID (Şekil 4.9.b.) grubundaki hastaların total protein yoğunluğunun diğer gruplara göre daha düşük olduğu gözlenmektedir.

Standart teknikler kullanılarak membrana aktarılan proteinler Immünoglobülin G (Ig G), Immünoglobülin M (Ig M) ve Immünoglobülin A (Ig A) antikorları (Biorbyt, Human IgG+IgM+IgA antibody (HRP), Cat No: orb216291) ile inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrası elde edilen sonuçlar şekil 4.10’da verilmiştir. IgG, IgM ve IgA antikorları yaklaşık 25 kDa ve 55-80 kDa arasında bant vermektedir (Invitrogen, Cat: A18847). Şekil 4.10 incelendiğinde en yoğun bantlar Entübe COVID (Şekil 4.10.a.) ve Servis COVID (Şekil 4.10.b.) durumunda görülmektedir. Bu durum Entübe COVID ve Servis COVID durumundaki hastalarda IgG, IgM ve IgA antikorlarının daha yüksek olduğunu göstermektedir. Post-COVID durumundaki hastalarda ise bu bantlarda azalma görülmektedir. Schwedler ve arkadaşlarının (2022) yaptığı bir çalışmada ağır COVID-19 hastalarının serum IgG seviyelerinin hafif hastalara kıyasla

belirgin bir şekilde daha yüksek olduğu bildirilmiştir (Schwedler vd., 2022). Diğer bazı çalışmalarda ise serum IgA konsantrasyonundaki değişimlerin COVID-19 şiddeti ile ilişkili olduğu ileri sũrũlmüřtũr (Barzegar-Amini vd., 2022; Stjepanovic vd., 2022). Bu alışmalar ile elde edilen sonuçlar kıyaslandığında; Entũbe ve Servis COVID gibi hastalığın daha ağır geçirildiği gruplarda IgG, IgM ve IgA antikorlarının hastalığı atlatmış gruptaki (Post-COVID) hastalara gũre daha yüksek olduğu gũrũlmektedir.

5. TARTIŞMA

Yakın zamanda yapılan bir COVID-19 çalışması, amid I ve amid II bölgelerine atfedilen spektral absorbanlarda hafif bir kayma ve azalma olduğunu göstermiştir, bu da protein üretiminde potansiyel bir azalmaya işaret etmektedir (Martinez-Cuazitl vd., 2021). Ek olarak, konakçı protein seviyelerinde bir azalma gözlenmiştir, bu da diğer viral enfeksiyonlarda görülen protein translyasyon inhibisyonunun tutarlı bir modelini göstermektedir. Sonuçlarımızla uyumlu olarak, sitokin üretimi ile ilişkili CK2 ve p38 MAPK yollarında gözlenen hiperfosforilasyonun yanı sıra, protein bolluğunda bir azalma ile birlikte fosforile proteinlerde bir artış olmuştur. Fosforilasyondaki bu değişimler, enfeksiyon sırasında koopere edilen önemli hücresel süreçlerin faaliyetlerindeki değişikliklere işaret etmektedir (Bouhaddou vd., 2020).

Bulgularımızla tutarlı olarak, COVID-19 enfeksiyonu ile ilgili çalışmalar, serum ve tükürük gibi hastalık pozitif biyolojik sıvılarda (Calvo-Gomez vd., 2022; Martinez-Cuazitl vd., 2021; Wood vd., 2021), muhtemelen hastalık şiddeti ile ilişkili genelleştirilmiş enflamatuvar yanıt ve kan dolaşımındaki hücresiz DNA'daki (cfDNA) artışla ilişkili olarak, nükleik asitlerin artan birikimini göstermektedir. Son bulgular, serum açlık glukozunda ve kan HbA1c'sinde bir artış olduğunu göstermiştir; her ikisi de tam remisyonun ardından önemli ölçüde azalmış ve COVID-19 enfeksiyonunun başlangıcından önce gözlemlenen seviyelere dönmüştür (Alshammari vd., 2023). Lipidler söz konusu olduğunda, şiddetli COVID-19 hastalarının serumlarında artmış seramid seviyeleri sergiledikleri belgelenmiştir. Dahası, daha uzun zincirlere sahip seramidlerin birikimi, kardiyovasküler risk faktörlerinin göstergesi olan geleneksel plazma lipid belirteçleri ile ilişkili olmasa da, olumsuz sonuçlarla ilişkilendirilmiştir. Lipid biyogenez yolları sürecinde lipid moleküllerinin yapısındaki değişiklikler, endozomların hücre yüzeyindeki reseptör aracılı mekanizmalar yoluyla virüslerin girişini etkileyebilir ve virüslerin yayılmasını düzenleyebilir (Caterino vd., 2021). CH₂/CH₃ oranındaki değişimler moleküller arası zincir düzensizliğinde bir artışa işaret edebilir ve uzun CH₂ zincirlerinin yüksek konsantrasyonları potansiyel olarak hücre zarı-iskeletinin bütünlüğünü zayıflatır (Martinez-Cuazitl vd., 2023).

Başta albümin ve globülinler olmak üzere serum proteinleri sistemik inflamasyon olaylarında önemli rol oynar. Bu nedenle, albümin-globülin oranı (AGR) bulaşıcı hastalıkların ciddiyetini ve mortalitesini tahmin etmek için kullanılmıştır. Düşük AGR oranı, COVID-19 dâhil olmak üzere birçok hastalıkla ilişkilendirilmiştir (Fukuda vd., 2024; Ulloque-Badaracco vd., 2022). Son raporlar, şiddetli COVID-19 hastalarının şiddetli olmayan COVID-19 hastalarına göre daha düşük AGR değerlerine sahip olduğunu göstermektedir. Ayrıca, hayatta

kalmayan COVID-19 hastalarının AGR değerlerinin hayatta kalan hastalardan daha düşük olması, AGR'nin COVID-19 için öngörücü değerine işaret etmektedir (Ulloque-Badaracco vd., 2022). Albümin, COVID-19'un klinik ilerlemesinde çok önemli olarak araştırılmıştır. Kritik hastalık sırasında enflamatuar yanıtla bağlantılı olan hipoalbümineminin mortalitenin bir öngörücüsü olduğu bildirilmiştir. Bu durum, kapiller sızıntıda artışa neden olan ve böylece albüminin intravasküler ve ekstrasvasküler kompartmanlar arasındaki dağılımını değiştiren sitokinlerin ve kemokinlerin salınımından kaynaklanmaktadır (Martinez-Cuazitl vd., 2021).

IgG glikozilasyonuna olan ilgi, muhtemelen antikorların terapötik amaçlar için artan kullanımını nedeniyle öne çıkmıştır. Galaktozilasyon, fukozilasyon ve sialilasyondaki değişiklikler, IgG'nin inhibitör ve anti-enflamatuar etkilerinden kompleman aktivasyonuna ve antikora bağlı hücrel sitotoksitenin kolaylaştırılmasına kadar çeşitli işlevlerini etkileyen önemli faktörler olarak kabul edilmektedir (Cobb, 2021). Sağlıklı bireylerde IgG'nin Fragment kristalize edilebilir (Fc) bölgesi ağırlıklı olarak çekirdek fukoillenmiştir ve %90'dan fazlası bu modifikasyonu sergilemektedir. Antikor glikozilasyonunun bulaşıcı hastalıklara yanıt vermede de önemli bir rol oynadığı giderek daha fazla kabul görmektedir. Çeşitli viral ve bakteriyel enfeksiyonlardan elde edilen son kanıtlar, antikor glikozilasyonunda sadece hastalık belirteçleri olarak değil, aynı zamanda potansiyel olarak hastalığın ilerlemesini de etkileyen önemli değişiklikler olduğunu göstermektedir (Irvine ve Alter, 2020; Vadrevu vd., 2018). Sağlıklı yetişkinlerde, dolaşımdaki IgG Fc-glikanlarının yaklaşık %35'i agalaktosile yapılardan oluşur; monogalaktosile ve digalaktosile glikanların her biri sırasıyla kabaca %35 ve %15'i oluşturur. Bununla birlikte, aktif otoimmün veya inflammatuar durumları olan bireyler, genellikle proinflammatuar yanıtlarla ilişkili olan artmış agalaktozilasyona doğru bir kayma sergileme eğilimindedir. Bu ilişkiye rağmen, glikan değişiklikleri ile hastalık nedenselliği arasındaki kesin ilişki belirsizliğini korumaktadır (Irvine ve Alter, 2020).

Sağlıklı bireyler, HBV ile ilişkili sirozu olanlar ve kronik HBV enfeksiyonu olan bireyler arasında IgG Fc glikosilasyonunu karşılaştıran bir çalışma, HBV'ye maruz kalan gruplarda kontrollere kıyasla azalmış Fc galaktozilasyonunu ortaya çıkarmış ve düşük galaktozilasyon seviyeleri fibrozis şiddeti ile pozitif korelasyon göstermiştir (Ho vd., 2015). HBV, tüberküloz ve HIV gibi kronik enfeksiyonlar genellikle yüksek agalaktosilasyon ve asialilasyon seviyeleri ile karakterize otoimmün benzeri glikan profilleri sunar. Bu bulgular, enfeksiyöz veya başka türlü çeşitli hastalıklardaki kronik enflamasyonun benzer agalaktosile IgG Fc glikosilasyon modellerine yol açabileceğini düşündürmektedir. Uzun süreli patojen maruziyeti ve bağışıklık aktivasyonu muhtemelen bu enflamasyonu devam ettirerek yüksek seviyelerde enflamasyonlu agalaktosile IgG ile sonuçlanır. Sonuç olarak, hem otoimmün

koşullarda hem de bazı bulaşıcı hastalıklarda, agalaktozile ve asialile IgG'ye yönelik çarpıklık muhtemelen ortak enflamatuar yolları yansıtır ve böylece immün aracılı enflamasyonun potansiyel bir belirteci olarak hizmet eder (Ho vd. 2015).

Son araştırmalar, F0N0 glikoform modifikasyonlu IgG3 ve IgG1 ile karakterize edilen belirli proinflamatuar antikor tiplerinin, daha hafif belirtileri olanlara ve seropozitif çocuklara kıyasla şiddetli COVID-19 semptomları yaşayan hastaların daha büyük bir kısmında arttığını göstermektedir. Özellikle, hastalığın şiddetli vakalarında gözlenen afukozillenmiş Fc glikanlarına sahip IgG1 prevalansı daha yüksektir. Ayrıca, şiddetli COVID-19 vakalarında özellikle erkeklerin yüksek Fc afukozilasyon seviyeleri sergilediği gözlemlenmiştir. Bu bulgular, enflamatuar Fc γ R yolaklarının immün-kompleks aracılı aktivasyonu, sitokin üretimi ve şiddetli COVID-19'a ilerleme arasında potansiyel bir bağlantı olduğunu düşündürmektedir. Sonuçlar ayrıca, şiddetli COVID-19 vakalarında proinflamatuar IgG antikorlarının artan oluşumunun altını çizmekte ve bu Fc yapılarının şiddetli COVID-19 ilerlemesi riskini gösteren enfeksiyon öncesi biyobelirteçler olarak hizmet edip edemeyeceğini belirlemek için enfeksiyon öncesi örnek analizlerini içeren gelecekteki boylamsal araştırmaların gerekli olduğunu önermektedir (Chakraborty vd., 2021). Çalışmanın bulgularıyla uyumlu olarak (Şekil 4.4b), Bandeira ve arkadaşları da COVID-19 hastalarının serumları arasında farklı alt popülasyonların araştırılmasına olanak tanıyan FTIR spektroskopisi yaklaşımını kullanarak şiddetli COVID-19 vakaları için IgG glikozilasyonunda bir azalma olduğunu öne sürmüştür (Bandeira vd., 2022). Çok yakın zamanda, COVID-19 hastalarının tükürüğünde azalmış IgG glikozilasyonu da bildirilmiş ve COVID-19 şiddetinin izlenmesinde değerli bir belirteç olarak FTIR spektroskopisi tabanlı 2T2D-COS analizi sunulmuştur (Karthikeyan vd., 2023, 2024).

Bu tez çalışmasında, açıklanabilir makine öğrenimi algoritmaları, IR spektral ham verileri kullanılarak kritik hasta (entübe ve servis grupları) ve iyileşmiş COVID-19 hasta gruplarının sınıflandırılmasına uygulanmıştır. COVID-19 hastalığını sınıflandırmak ve performansını değerlendirmek için şeffaf RFC algoritması geliştirilmiştir. Model, eğitim veri setinde %100 eğitim doğruluğuna ulaşmıştır, bu da aşırı uyumun göstergesi olabilir. Bununla birlikte, modelin test veri kümesi üzerindeki etkinliği test doğruluğu, hassasiyet, duyarlılık ve F1 skoru metrikleri kullanılarak değerlendirilmiştir. Test veri kümesindeki örneklerin %99,6'sını ve %95'ini doğru bir şekilde sınıflandırmıştır. Duyarlılık değerleri 1,00 ve 0,96, özgüllük değerleri ise 1,00 ve 0,95 olarak belirlenmiştir (sırasıyla örnek bazlı ve dalga sayısı bazlı). F1 skorları da 1,00 ve 0,95 olarak hesaplanmıştır. Model, duyarlılık ölçütlerinde olağanüstü performans göstermiştir. Bu çalışma için RFC'nin seçilmesi, görevle ilgili kendine özgü avantajlarından kaynaklanmaktadır. RFC, sağlamlığı ve burada kullanılan IR ham verileri

gibi yüksek boyutlu verileri yönetme kabiliyetiyle ünlüdür. Titiz parametre ayarı gerektirebilen ve aşırı uyuma eğilimli SVM veya diğer algoritmaların aksine, RFC minimum hiperparametre optimizasyonu ile etkili sonuçlar verebilir. Ayrıca RFC, tıbbi teşhislerde açıklanabilirlik için gerekli olan özellik önem skorları sunar (Langsetmo vd., 2023; Parmar vd., 2019).

Mükemmel eğitim doğruluğu ile gösterilen aşırı uyum endişesi, modelin önemli test veri seti performansı ile hafifletilmiştir. Yüksek test doğruluğu, hassasiyeti, duyarlılığı ve F1 puanı, modelin yeni verilere iyi genelleme yaptığını göstermektedir. Bu durum, hem numune bazlı hem de dalga sayısı bazlı analizler için mükemmel yakın hassasiyet değerleri ile desteklenmekte ve modelin pozitif vakaları doğru bir şekilde tanımlama konusundaki yeteneğini teyit etmektedir. Eğitim ve test performansı arasındaki küçük tutarsızlık, modelin gerçek dünya koşullarındaki uygulamasını yansıtan test verilerinde daha fazla değişkenliğe maruz kalması nedeniyle beklenen bir sonuçtur. Aşırı uyumun bir sorun olmadığından emin olmak için modelin performansı çeşitli metrikler kullanılarak titiz bir değerlendirmeye tabi tutulmuş ve sonuçlar tutarlı ve güvenilir bulunmuştur. Örnek duyarlılık ölçümleri, modelin COVID-19 vakalarını doğru bir şekilde belirleme kapasitesini vurgulamaktadır ki bu tıbbi ortamlarda büyük önem taşımaktadır.

Ayrıca, bu çalışma demografik ve klinik verilere dayalı modellerin performansını spektral verilere dayalı modellerle karşılaştırmıştır. Demografik ve klinik verilere dayalı modellerin bazı durumlarda spektral verilere dayalı modeller kadar iyi veya daha iyi performans gösterdiği görülmüştür. Bu bulgu, doğru COVID-19 hasta sınıflandırması için hazır demografik ve klinik bilgilerin kullanılma potansiyelini vurgulaması açısından önemlidir. Demografik ve klinik modeller, veri toplama kolaylığı ve klinik ortamlarda anında uygulama potansiyeli gibi pratik avantajlar sağlar. Bununla birlikte, spektral verilerin entegrasyonu, hastalık mekanizmalarını anlamak için çok önemli olan moleküler düzeydeki bilgileri dâhil ederek model hassasiyetini artırabilir.

SHAP sonuçları, COVID sonrası hastaların demografik özelliklerinde kayda değer bir eğilim olduğunu göstermektedir; hastaların çoğunluğu erkek ve 40 yaşın üzerindedir. Bu örüntü, hastaların ağırlıklı olarak erkek ve tipik olarak 45 yaşın üzerinde olduğu hastane servisi verileriyle tutarlıdır. Ayrıca, entübe edilen hastalara ilişkin veriler, 50 yaşın üzerindeki bireylerin bu prosedürü geçirme olasılığının daha yüksek olduğunu ortaya koymaktadır (Tablo E.1). Bu bulgular cinsiyet ve yaşla ilişkili bir kırılmalığa işaret etmekte olup, yaşlı erkek hastalar COVID sonrası ciddi komplikasyonlar açısından daha yüksek bir risk profili sergilemektedir. Bu eğilimin ardındaki nedenler arasında hastalığın yatkınlığına ve ilerlemesine katkıda bulunan biyolojik, sosyal ve davranışsal faktörler olabilir. Altta yatan nedenleri

anlamak, bu demografik gruplarla ilişkili riskleri azaltmak ve hedefe yönelik müdahaleler geliştirmek için bu faktörleri daha derinlemesine incelemek zorunludur. SHAP analizi, bu tür risk faktörlerinin belirlenmesi ve önceliklendirilmesi için değerli bir çerçeve sunmakta, böylece COVID-19 yükünü azaltmayı amaçlayan demografik kararlar ve halk sağlığı stratejileri hakkında bilgi vermektedir. COVID-19 çalışmalarını içeren cinsiyet yanlılığına işaret eden önceki çalışmalar, bulaşıcı hastalıkların yaygınlığı ve sonuçlarında cinsiyet farklılıklarının her yaşta ortaya çıktığını ve erkeklerin genellikle daha yüksek bakteriyel, viral, fungal ve parazitik enfeksiyon yüküne sahip olduğunu vurgulamıştır (Flanagan, vd., 2017; Gebhard vd., 2021; Sawyer, 2012). Buna ek olarak, önceki çalışmalar erkek cinsiyetinin COVID-19 ile ilgili çeşitli genel olumsuz sonuçlar için bir risk faktörü olduğunu bildirmiştir (Gebhard vd., 2021). Genetik yatkınlıklar, cinsiyet hormonları, bağışıklık sistemi tepkileri ve biyolojik olmayan nedenler, cinsiyetler arasında COVID-19 tepkilerindeki eşitsizliğe katkıda bulunmaktadır (Chaturvedi, vd., 2022). Bu farklılıkların arkasındaki nedenlerin hala tam olarak anlaşılması gerekmektedir. Denek 11 (S.11), servis durumunun önemli bir örneğidir. Yaşı 68 olan ve erkek özellikleri taşıyan bu örnek için, ileri yaş ve erkek olma durumunun hastaneye yatış durumunu önemli ölçüde etkilediği görülmektedir. COVID-19'un erkekleri ve kadınları nasıl farklı etkilediğini anlamak, başarılı müdahalelere yol açabilecek hastalık patofizyolojisini anlamaya yönelik ipuçları sağlayabilir.

COVID-19 hastalarının farklı sağlık durumlarını sınıflandırmak için AYZ/SHAP analizi kullanılmış ve belirli IR spektral dalga boylarının model tahminlerine önemli ölçüde katkıda bulunduğu gözlemlenmiştir. Özellikle, 2377 cm^{-1} , 3710^{-1} , 2315 cm^{-1} ve 1282 cm^{-1} 'deki dalga sayıları COVID-19 sonrası koşullarda önemlidir. Hastane servislerindeki hastalar için 1285 cm^{-1} ve 2315 cm^{-1} 'deki dalga sayılarının önemli olduğu belirlenirken, entübe hastalar için 1021 cm^{-1} , 1038 cm^{-1} ve 1052 cm^{-1} 'deki dalga sayılarının önemli olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.8). 3710 cm^{-1} dalga sayısı genellikle hidroksil gruplarıyla (OH) ilişkilidir ve özellikle su veya hidroksil grupları içeren diğer moleküllerin spektroskopik analizinde önemlidir (Ludwig, 2022). Bu dalga boyundaki absorpsiyon, moleküler suyun varlığını ve hidroksil gruplarının farklı koordinasyon durumlarını gösterebilir. Ek olarak, hücrelerin hidrasyon durumu veya hücre ortamında suyun varlığı gibi koşulları yansıtabilir. 2315 cm^{-1} 'deki bant COVID sonrası ve hasta vakalarda önemli bulunmuştur. Bu bant genellikle Lewis asiditesi ile ilişkilidir ve karbonil gruplarının (C=O) varlığını gösteren spektroskopik analizlerde özellikle önemlidir (Hadjiivanov vd., 2020). IgG glikozilasyonundaki C=O (Şekil 4.4, Şekil 4.8) ve ester C=O gerilmesi: karbonil grupları içeren kolesterol esterleri (Şekil 4.2e ve Şekil 4.8) gibi analizler 2315 cm^{-1} dalga sayısı ile ilişkilendirilebilir. 1282 cm^{-1} 'deki bantlar fosfat gruplarının (P=O)

titreşimleri ile ilişkilidir ve tipik olarak nükleik asit/protein içeriği ile ilgili analizlerde çok önemlidir (Fadlemoula vd., 2022). Nükleik asitlerin omurgasında bulunan fosfat grupları ve proteinlerdeki fosforile amino asitler bu dalga boyunda emilim gösterebilir. Bu nedenle, 1282 cm^{-1} dalga sayısı bandı özellikle nükleik asit/protein içeriği (Şekil 4.5, Şekil 4.8) ve protein fosforilasyonu (Şekil 4.3h ve Şekil 4.8) ile ilişkilendirilebilir.

Karbohidrat grubu bandı, 1038 cm^{-1} (C-O'nun gerilme titreşimleri), entübe gruptaki en önemli özelliği. Karaciğer dokusu hasar gören COVID-19 hastalarında, karaciğer hücrelerinin glikojen sentezlemek için glukoz kullanma yeteneği azalır, bu da insülin direncinin kötüleşmesine ve kan glukozunun yükselmesine neden olur. Wang ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada, influenza virüsünün O-GlcNAc transferaz (OGT) enzimine bağlanmak üzere IFN düzenleyici faktör 5 (IRF5) genini indükleyebildiği bulunmuştur (Q. Wang vd., 2020). Bağlantı, influenza virüsünün IRF5'in K63'e bağlı ubiquitinasyonu tetikleyerek IRF5'in O-GlcNAsylation'ına yol açtığını göstermektedir. Kan şekeri yüksek olan hastaların virüs saldırılarına karşı daha savunmasız olduğu da tespit edilmiştir. Bu etkileşim, diyabetli hastaların viral enfeksiyonlar açısından daha büyük risk altında olduğunu göstermektedir. Sitokin fırtınaları, bağışıklık sistemi tarafından aşırı aktive edilen ve çoklu sitokin salınımları ile karakterize edilen aşırı inflamatuvar yanıtlardır. Bu bağlamda, diyabetli hastaların sitokin fırtınalarına ve viral enfeksiyonlardan kaynaklanan ciddi sonuçlara daha yatkın olabileceği öngörülmektedir. Diyabet, bağışıklık sistemi yanıtlarını etkileyebilen ve enfeksiyonlara karşı savunma mekanizmalarını zayıflatabilen bir durumdur. Bu bağlantı, sitokin fırtınası olarak bilinen aşırı bir bağışıklık tepkisinin tetiklenmesinde önemli bir adımdır (Q. Wang vd., 2020). COVID-19 ve diyabet hastalarının da önemli ölçüde daha yüksek entübasyon oranları gösterdiği bildirilmiştir (Critchley vd., 2018). Ek olarak, COVID-19 hastalarından alınan tükürüğün FTIR spektrumları üzerinde yapılan bir çalışmada, düşük veya tespit edilemeyen viral yükleri olanların 1038 cm^{-1} ve 1074 cm^{-1} 'deki sakkarit (riboz) bantlarında azalma gösterdiği bulunmuştur (Kitane vd., 2021). Bu azalma, hastaların hiperglisemik bir durumdan kurtulduklarını gösteriyor olabilir (Kazmer vd., 2022).

Sars-CoV-2 virüsünün neden olduğu COVID-19 hastalığında farklı şiddet seviyeleri incelenirken immün yanıtların kapsamlı olarak ele alınması oldukça önemlidir. Diğer birçok viral hastalıkta olduğu gibi COVID-19 patogeneğinde virüse özgü IgM ve IgG'de artış gözlemlenmiştir. Çin'de COVID-19 küresel pandemisi döneminde pozitif serum IgM ve IgG tespiti, SARS-CoV-2 pnömonisi tanısını doğrulamak için alternatif bir yöntem olarak değerlendirilmiştir. Semptomların görülmesinden 10 gün veya daha sonra hastaların çoğunda SARS-CoV-2 nükleoproteinine (NP) veya reseptör bağlanma alanına (RBA) karşı IgG veya

IgM antikor seviyelerinde artış kaydedilmiştir (Dong vd., 2020). Bir diğer çalışmada, SARS-CoV-2 virüsüne özgü IgG ve IgM, semptomların başlamasından sırasıyla 17-19 gün ve 20-22 gün sonra zirve seviyelere ulaştığı bildirilmiştir. Diğer önemli bir bulgu ise şiddetli COVID-19 hastalarında IgG ve IgM antikorlarının şiddetli olmayan hastalara göre daha yüksek olmasıdır (Azkur vd., 2020). Düşük IgG seviyelerinin COVID-19 hastalarında kötü sonuçları öngördüğü bildirilmiştir. Yapılan detaylı bir çalışmada düşük IgG seviyeleri ile hastaneye kabul edilen COVID-19 hastalarında yeterli IgG seviyelerine sahip hastalara kıyasla daha yüksek ölüm riski taşıdığı tespit edilmiştir. IgG, humoral bağışıklıkta önemli bir bileşen olup, patojenlerle savaşmak için gereklidir. Bu bulgular, COVID-19 hastalarının tedavisinde IgG seviyelerinin izlenmesinin önemini vurgulamaktadır (Vrettou vd., 2021). Serum IgA seviyelerinin karşılaştırıldığı bir çalışmada elde edilen sonuçlar serum IgA konsantrasyonunun COVID-19 hastalarında hastalık sonucunu (mortalite) öngörmeye yardımcı olabileceği öne sürülmüştür. IgA'nın yanı sıra IgG ve kompleman seviyelerinin de invaziv olmayan mekanik ventilasyon (NIMV) riskini ve kötü sonucu değerlendirmede kullanılabileceği belirtilmiştir (Stjepanovic vd., 2022). Bu çalışmalar COVID-19 patogenezinde serumdaki total immünoglobülinlerin (IgG, IgM ve IgA) farklı hastalık seviyeleri için önemli bir biyobelirteç olabileceğini göstermektedir. Western Blot analizinin sonuçlarında da görüldüğü gibi (Şekil 4.10), üç farklı hastalık seviyesinde değerlendirilen COVID-19 hastalarında en yoğun antikor bantları Entübe COVID (Şekil 4.10.a.) ve Servis COVID (Şekil 4.10.b.) hastalarında görülmektedir. Hastalığın en şiddetli geçirildiği bu dönemlere kıyasla hastalığı atlattığı (Post-COVID) gruptaki bantlar incelendiğinde daha düşük antikor seviyeleri görülmektedir.

Bu tez çalışması, spektrokimyasal analizlerin ve AYZ sonuçlarının COVID-19 hastalarının farklı sağlık durumlarını sınıflandırmak için önemli moleküler belirteçleri tanımlamadaki etkinliğini göstermektedir. Bu sonuçlar, belirli dalga boylarının model tahminlerine katkısını vurgulamakta ve bu yöntemlerin potansiyelini göstermektedir. Bununla birlikte, bu bulguların kapsamı spektrokimyasal analizlerin ve AYZ metodolojisinin geniş potansiyelini tam olarak sergilemek için yetersizdir. Bu nedenle, daha kapsamlı analizler ve çeşitli algoritmaların uygulanması gerekmektedir. Farklı makine öğrenimi modelleri ve derin öğrenme tekniklerinin kullanılması, veri setlerimizde gizli olan karmaşık ilişkileri ve kalıpları ortaya çıkarabilir ve hastalığın moleküler mekanizmalarının daha ayrıntılı bir şekilde anlaşılmasını sağlayabilir. Böyle bir yaklaşım, pandemiyle mücadelede ve hastalığın daha iyi anlaşılmasında kritik bir rol oynayabilir.

6. SONUÇ

Sonuç olarak, bu tez çalışmasının bulguları, ATR-FTIR spektroskopisinin açıklanabilir yapay zekâ yaklaşımlarıyla birleştiğinde, COVID-19'lu kritik hastalarda hastalığın ilerlemesini değerlendirmede ve potansiyel biyobelirteçleri belirlemede değerli bir araç olabileceğini göstermektedir. Çalışma, COVID-19 hastalarında, özellikle de entübe hastalarda, iyileşmiş hastalara kıyasla serum biyomoleküllerinde önemli değişiklikler olduğunu ortaya koymuştur. Gözlenen değişiklikler arasında yüksek serum lipidleri, değişmiş protein yapıları, artmış fosforilasyon, azalmış IgG glikozilasyon seviyeleri ve artmış glukoz ve nükleik asit konsantrasyonları yer almaktadır. Ayrıca çalışmada serum AGR indeksi ve IgG glikozilasyonuna atanan 1783 cm^{-1} bandı dâhil olmak üzere hastalık şiddeti için potansiyel biyobelirteçler tanımlanmıştır. 720 cm^{-1} ve 659 cm^{-1} 'deki bantlar da hastalığın ilerlemesini izlemek için potansiyel biyobelirteç kapasitesine sahiptir. PFI analizi ve SHAP açıklamaları, COVID-19 hasta grupları arasında ayırım yapılmasında spesifik spektral özelliklerin ve dalga sayılarının önemini vurgulamıştır. Çalışmada son olarak serum IgA, IgM ve IgG gibi antikörlerin seviyelerindeki artışların hastalık şiddeti ile uyumlu olduğu tespit edilmiştir.

Bu tez çalışması, AYZ ve serum sıvısı ile ilişkili FTIR spektroskopisinin COVID-19 entübe, servise alınmış ve iyileşmiş hastaları ayırt etmek için etkili bir araç olduğu sonucuna varmıştır. Bu açıklanabilir ve yorumlanabilir model algoritması, moleküler tahmin önyargısı ve karmaşık vakalarda yüksek kapasiteli ve şeffaf tarama için potansiyel olarak kullanılabilir. Bu çalışmanın güçlü yönleri arasında hızlı numune hazırlama, spektral veri toplama metodolojisi ve ATR-FTIR spektral verilerine dayalı çok değişkenli açıklanabilir, yorumlanabilir ve şeffaf bir algoritmanın geliştirilmesi yer almaktadır. Gelecekteki çalışmalar, tahmin performansını iyileştirmek için örneklem büyüklüğünü artırmalıdır. COVID-19 enfeksiyonu geçiren bireylerde, bağışıklık sisteminin önemli bir parçası olan immünoglobulinlerin (özellikle IgG) ve bu proteinlerin şeker zincirleriyle modifikasyonu olan glikozilasyonunun, hastalığın ciddiyeti ve sonuçları üzerinde etkili olabileceği düşünülmektedir. Özellikle, hastalığın ağır seyrettiği ve hastaların entübe edildiği veya yoğun bakımda tedavi gördüğü durumlarda, toplam immünoglobulin seviyelerindeki yükselme, hastalığın ilerleyişini etkileyen bir faktör olabilir. Bu gözlemlerin COVID-19'un nasıl geliştiği (patogenezi) ve tedavisi için ne anlama geldiğini netleştirmek amacıyla daha kapsamlı araştırmalar yapılması gerekmektedir.

KAYNAKÇA

- Alshammari, S., AlMasoudi, A. S., AlBuhayri, A. H., AlAtwi, H. M., AlHwiti, S. S., Alaidi, H. M., ... Al-Gayyar, M. M.** (2023). Effect of COVID-19 on glycemic control, insulin resistance, and pH in elderly patients with type 2 diabetes. *Cureus*, *15*(2).
- Altmann, A., Toloşi, L., Sander, O. ve Lengauer, T.** (2010). Permutation importance: a corrected feature importance measure. *Bioinformatics*, *26*(10), 1340–1347.
- Azkar, A. K., Akdis, M., Azkar, D., Sokolowska, M., van de Veen, W., Brüggem, M., ... Akdis, C. A.** (2020). Immune response to SARS-CoV-2 and mechanisms of immunopathological changes in COVID-19. *Allergy*, *75*(7), 1564–1581.
- Bandeira, C. C. S., Madureira, K. C. R., Rossi, M. B., Gallo, J. F., da Silva, A. P. M. A., Torres, V. L., ... da Silva Martinho, H.** (2022). Micro-Fourier-transform infrared reflectance spectroscopy as tool for probing IgG glycosylation in COVID-19 patients. *Scientific Reports*, *12*(1), 1–13.
- Barauna, V. G., Singh, M. N., Barbosa, L. L., Marcarini, W. D., Vassallo, P. F., Mill, J. G., ... Martin, F. L.** (2021). Ultrarapid On-Site Detection of SARS-CoV-2 Infection Using Simple ATR-FTIR Spectroscopy and an Analysis Algorithm: High Sensitivity and Specificity. *Analytical Chemistry*, *93*(5), 2950–2958.
- Barredo Arrieta, A., Díaz-Rodríguez, N., Del Ser, J., Bennetot, A., Tabik, S., Barbado, A., ... Herrera, F.** (2020). Explainable Artificial Intelligence (XAI): Concepts, taxonomies, opportunities and challenges toward responsible AI. *Information Fusion*, *58*, 82–115.
- Bartsch, Y. C., Eschweiler, S., Leliavski, A., Lunding, H. B., Wagt, S., Petry, J., ... Hölscher, A.** (2020). IgG Fc sialylation is regulated during the germinal center reaction following immunization with different adjuvants. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, *146*(3), 652–666.
- Barzegar-Amini, M., Mahmoudi, M., Dadgarmoghaddam, M., Farzad, F., Najafabadi, A. Q. ve Jabbari-Azad, F.** (2022). Comparison of serum total IgA levels in severe and mild COVID-19 patients and control group. *Journal of Clinical Immunology*, 1–9.
- Behnoush, A. H., Khalaji, A., Alemohammad, S. Y., Kalantari, A., Cannavo, A. ve Dimitroff, C. J.** (2023). Galectins can serve as biomarkers in COVID-19: A comprehensive systematic review and meta-analysis. *Frontiers in Immunology*, *14*, 1127247.

- Bel'skaya, L. V, Sarf, E. A. ve Solomatin, D. V.** (2021). Application of FTIR Spectroscopy for Quantitative Analysis of Blood Serum: A Preliminary Study. *Diagnostics*.
- Borges do Nascimento, I. J., O'Mathúna, D. P., von Groote, T. C., Abdulazeem, H. M., Weerasekara, I., Marusic, A., ... Marcolino, M. S.** (2021). Coronavirus disease (COVID-19) pandemic: an overview of systematic reviews. *BMC Infectious Diseases*, 21(1), 1–24.
- Bouhaddou, M., Memon, D., Meyer, B., White, K. M., Rezelj, V. V, Marrero, M. C., ... Kaake, R. M.** (2020). The global phosphorylation landscape of SARS-CoV-2 infection. *Cell*, 182(3), 685–712.
- Brant, A. C., Tian, W., Majerciak, V., Yang, W. ve Zheng, Z. M.** (2021). SARS-CoV-2: from its discovery to genome structure, transcription, and replication. *Cell and Bioscience*, 11(1), 1–17.
- Breiman, L.** (2001). Random forests. *Machine learning*, 45, 5–32.
- Çalica Utku, A., Budak, G., Karabay, O., Güçlü, E., Okan, H. D. ve Vatan, A.** (2020). Main symptoms in patients presenting in the COVID-19 period. *Scottish Medical Journal*, 65(4), 127–132.
- Calvo-Gomez, O., Calvo, H., Cedillo-Barrón, L., Vivanco-Cid, H., Alvarado-Orozco, J. M., Fernandez-Benavides, D. A., ... López, M. G.** (2022). Potential of ATR-FTIR-Chemometrics in Covid-19: Disease Recognition. *ACS Omega*, 7(35), 30756–30767.
- Caterino, M., Gelzo, M., Sol, S., Fedele, R., Annunziata, A., Calabrese, C., ... Fusco, F. M.** (2021). Dysregulation of lipid metabolism and pathological inflammation in patients with COVID-19. *Scientific reports*, 11(1), 2941.
- Cevik, M., Kuppalli, K., Kindrachuk, J. ve Peiris, M.** (2020). Virology, transmission, and pathogenesis of SARS-CoV-2. *The BMJ*, 371, 1–6.
- Ceylani, T., Teker, H. T., Samgane, G. ve Gurbanov, R.** (2022). Intermittent fasting-induced biomolecular modifications in rat tissues detected by ATR-FTIR spectroscopy and machine learning algorithms. *Analytical Biochemistry*, 654, 114825.
- Chakraborty, S., Gonzalez, J., Edwards, K., Mallajosyula, V., Buzzanco, A. S., Sherwood, R., ... Wang, T. T.** (2021). Proinflammatory IgG Fc structures in patients with severe COVID-19. *Nature Immunology*, 22(1), 67–73.

- Chaturvedi, R., Lui, B., Aaronson, J. A., White, R. S. ve Samuels, J. D.** (2022). COVID-19 complications in males and females: Recent developments. *Journal of Comparative Effectiveness Research*, 11(9), 689–698.
- Cobb, B. A.** (2021). The history of IgG glycosylation and where we are now. *Glycobiology*, 30(4), 202–213.
- Collins, A. M.** (2016). IgG subclass co-expression brings harmony to the quartet model of murine IgG function. *Immunology and Cell Biology*, 94(10), 949–954.
- Critchley, J. A., Carey, I. M., Harris, T., DeWilde, S., Hosking, F. J. ve Cook, D. G.** (2018). Glycemic control and risk of infections among people with type 1 or type 2 diabetes in a large primary care cohort study. *Diabetes care*, 41(10), 2127–2135.
- Dogan, A., Gurbanov, R., Severcan, M. ve Severcan, F.** (2021). CoronaVac (Sinovac) COVID-19 vaccine-induced molecular changes in healthy human serum by infrared spectroscopy coupled with chemometrics. *Turkish Journal of Biology*, 45(Special Issue 1), 549–558.
- Dong, X., Cao, Y., Lu, X., Zhang, J., Du, H., Yan, Y., ... Gao, Y.** (2020). Eleven faces of coronavirus disease 2019. *Allergy*, 75(7), 1699–1709.
- Durdagi, S., Avsar, T., Orhan, M. D., Serhatli, M., Balcioglu, B. K., Ozturk, H. U., ... Bagci-Onder, T.** (2022). The neutralization effect of montelukast on SARS-CoV-2 is shown by multiscale in silico simulations and combined in vitro studies. *Molecular Therapy*, 30(2), 963–974.
- Fadlelmoula, A., Pinho, D., Carvalho, V. H., Catarino, S. O. ve Minas, G.** (2022). Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy to analyse human blood over the last 20 years: a review towards lab-on-a-chip devices. *Micromachines*, 13(2), 187.
- Flanagan, K. L., Fink, A. L., Plebanski, M. ve Klein, S. L.** (2017). Sex and gender differences in the outcomes of vaccination over the life course. *Annual review of cell and developmental biology*, 33, 577–599.
- Fukuda, M., Aoyama, T., Hashimoto, I., Maezawa, Y., Kato, A., Hara, K., ... Cho, H.** (2024). Albumin-Globulin Ratio Is an Independent Prognostic Factor for Gastric Cancer Patients who Received Curative Treatment. *in vivo*, 38(2), 904–910.

- Gallo Marin, B., Aghagoli, G., Lavine, K., Yang, L., Siff, E. J., Chiang, S. S., ... Michelow, I. C.** (2021). Predictors of COVID-19 severity: A literature review. *Reviews in Medical Virology*, 31(1), e2146.
- Gao, Y., Ding, M., Dong, X., Zhang, J., Kursat Azkur, A., Azkur, D., ... Akdis, C. A.** (2021). Risk factors for severe and critically ill COVID-19 patients: A review. *Allergy*, 76(2), 428–455.
- Gebhard, C. E., Sütsch, C., Bengs, S., Deforth, M., Buehler, K. P., Hamouda, N., ... Brugger, S. D.** (2021). Sex-and gender-specific risk factors of post-COVID-19 syndrome: a population-based cohort study in Switzerland. *medRxiv*, 2006–2021.
- Gilmore, E., Estivill-Castro, V. ve Hexel, R.** (2021). More interpretable decision trees. *Hybrid Artificial Intelligent Systems: 16th International Conference, HAIS 2021, Bilbao, Spain, September 22–24, 2021, Proceedings 16* içinde (ss. 280–292). Springer.
- Hadjiivanov, K. I., Panayotov, D. A., Mihaylov, M. Y., Ivanova, E. Z., Chakarova, K. K., Andonova, S. M. ve Drenchev, N. L.** (2020). Power of infrared and raman spectroscopies to characterize metal-organic frameworks and investigate their interaction with guest molecules. *Chemical Reviews*, 121(3), 1286–1424.
- Hanson, K. E., Caliendo, A. M., Arias, C. A., Englund, J. A., Lee, M. J., Loeb, M., ... Mustafa, R. A.** (2024). Infectious Diseases Society of America Guidelines on the Diagnosis of COVID-19 (June 2020). *Clinical Infectious Diseases*, 78(7), e106–e132.
- Hess, C., Winkler, A., Lorenz, A. K., Holecska, V., Blanchard, V., Eiglmeier, S., ... Petzold, D.** (2013). T cell-independent B cell activation induces immunosuppressive sialylated IgG antibodies. *The Journal of clinical investigation*, 123(9), 3788–3796.
- Ho, C.-H., Chien, R.-N., Cheng, P.-N., Liu, J.-H., Liu, C.-K., Su, C.-S., ... Wu, S.-L.** (2015). Aberrant serum immunoglobulin G glycosylation in chronic hepatitis B is associated with histological liver damage and reversible by antiviral therapy. *The Journal of infectious diseases*, 211(1), 115–124.
- Hoepel, W., Chen, H. J., Geyer, C. E., Allahverdiyeva, S., Manz, X. D., de Taeye, S. W., ... den Dunnen, J.** (2021). High titers and low fucosylation of early human anti-SARS-CoV-2 IgG promote inflammation by alveolar macrophages. *Science Translational Medicine*, 13(596), 1–17.

- Irvine, E. B. ve Alter, G.** (2020). Understanding the role of antibody glycosylation through the lens of severe viral and bacterial diseases. *Glycobiology*, 30(4), 241–253.
- Karsten, C. M., Pandey, M. K., Figge, J., Kilchenstein, R., Taylor, P. R., Rosas, M., ... Petzold, D.** (2012). Anti-inflammatory activity of IgG1 mediated by Fc galactosylation and association of FcγRIIB and dectin-1. *Nature medicine*, 18(9), 1401–1406.
- Karthikeyan, S., Mata-Miranda, M. M., Martinez-Cuazitl, A., Delgado-Macuil, R. J., Garibay-Gonzalez, F., Sanchez-Monroy, V., ... Vazquez-Zapien, G. J.** (2023). Dynamic response antibodies SARS-CoV-2 human saliva studied using two-dimensional correlation (2DCOS) infrared spectral analysis coupled with receiver operation characteristics analysis. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease*, 1869(7), 166799.
- Karthikeyan, S., Vazquez-Zapien, G. J., Martinez-Cuazitl, A., Delgado-Macuil, R. J., Rivera-Alatorre, D. E., Garibay-Gonzalez, F., ... Atriano-Colorado, C.** (2024). Two-trace two-dimensional correlation spectra (2T2D-COS) analysis using FTIR spectra to monitor the immune response by COVID-19. *Journal of Molecular Medicine*, 102(1), 53–67.
- Kazmer, S. T., Hartel, G., Robinson, H., Richards, R. S., Yan, K., van Hal, S. J., ... Hill, M. M.** (2022). Pathophysiological Response to SARS-CoV-2 Infection Detected by Infrared Spectroscopy Enables Rapid and Robust Saliva Screening for COVID-19. *Biomedicines*, 10(2).
- Keni, R., Alexander, A., Nayak, P. G., Mudgal, J. ve Nandakumar, K.** (2020). COVID-19: Emergence, Spread, Possible Treatments, and Global Burden. *Frontiers in Public Health*, 8(May).
- Kitane, D. L., Loukman, S., Marchoudi, N., Fernandez-Galiana, A., El Ansari, F. Z., Jouali, F., ... Fekkak, J.** (2021). A simple and fast spectroscopy-based technique for Covid-19 diagnosis. *Scientific Reports*, 11(1), 16740.
- Kırboğa, K. K., Abbasi, S. ve Küçüksille, E. U.** (2023). Explainability and white box in drug discovery. *Chemical Biology & Drug Design*, 102(1), 217–233.
- Kırboğa, K. K., Küçüksille, E. U., Naldan, M. E., Işık, M., Gülcü, O. ve Aksakal, E.** (2023). CVD22: Explainable artificial intelligence determination of the relationship of troponin to D-Dimer, mortality, and CK-MB in COVID-19 patients. *Computer Methods and Programs in Biomedicine*, 233, 107492.

Koehler, A., Scroferneker, M. L., Pereira, B. A. S., Pereira de Souza, N. M., de Souza Cavalcante, R., Mendes, R. P. ve Corbellini, V. A. (2022). Using infrared spectroscopy of serum and chemometrics for diagnosis of paracoccidioidomycosis. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 221, 115021.

Kokot, I., Mazurek, S., Piwowar, A., Sokolik, R., Rodak, K., Kacperczyk, M., ... Maria Kratz, E. (2024). Comparative profiling of serum biomarkers and ATR-FTIR spectroscopy for differential diagnosis of patients with rheumatoid and psoriatic arthritis – a pilot study. *Spectrochimica Acta - Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 321(June).

Kotsiantis, S. B. (2013). Decision trees: a recent overview. *Artificial Intelligence Review*, 39, 261–283.

Langsetmo, L., Schousboe, J. T., Taylor, B. C., Cauley, J. A., Fink, H. A., Cawthon, P. M., ... Group, O. F. in M. (MrOS) R. (2023). Advantages and disadvantages of random forest models for prediction of hip fracture risk versus mortality risk in the oldest old. *Journal of Bone and Mineral Research Plus*, 7(8), e10757.

Ludwig, B. (2022). Infrared spectroscopy studies of aluminum oxide and metallic aluminum powders, part II: adsorption reactions of organofunctional silanes. *Powders*, 1(2), 75–87.

Lundberg, S. M., Erion, G., Chen, H., DeGrave, A., Prutkin, J. M., Nair, B., ... Lee, S.-I. (2020). From local explanations to global understanding with explainable AI for trees. *Nature machine intelligence*, 2(1), 56–67.

Luo, H., Jia, T., Chen, J., Zeng, S., Qiu, Z., Wu, S., ... Shu, Y. (2021). The Characterization of Disease Severity Associated IgG Subclasses Response in COVID-19 Patients . *Frontiers in Immunology* . <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2021.632814> adresinden erişildi.

Mallah, S. I., Ghorab, O. K., Al-Salmi, S., Abdellatif, O. S., Tharmaratnam, T., Iskandar, M. A., ... Al-Qahtani, M. (2021). COVID-19: breaking down a global health crisis. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*, 20(1), 1–36.

Martinez-Cuazitl, A., Mata-Miranda, M. M., Sanchez-Brito, M., Valencia-Trujillo, D., Avila-Trejo, A. M., Delgado-Macuil, R. J., ... Vazquez-Zapien, G. J. (2023). Clinical, Biochemical, and ATR-FTIR Spectroscopic Parameters Associated with Death or Survival in Patients with Severe COVID-19. *Journal of Spectroscopy*, 2023(1), 3423183.

- Martinez-Cuazitl, A., Vazquez-Zapien, G. J., Sanchez-Brito, M., Limon-Pacheco, J. H., Guerrero-Ruiz, M., Garibay-Gonzalez, F., ... Pereyra-Talamantes, A.** (2021). ATR-FTIR spectrum analysis of saliva samples from COVID-19 positive patients. *Scientific Reports*, *11*(1), 19980.
- Movasaghi, Z., Rehman, S. ve ur Rehman, D. I.** (2008). Fourier Transform Infrared (FTIR) Spectroscopy of Biological Tissues. *Applied Spectroscopy Reviews*, *43*(2), 134–179.
- Naseer, K., Ali, S. ve Qazi, J.** (2021). ATR-FTIR spectroscopy as the future of diagnostics: a systematic review of the approach using bio-fluids. *Applied Spectroscopy Reviews*, *56*(2), 85–97.
- Parmar, A., Katariya, R. ve Patel, V.** (2019). A review on random forest: An ensemble classifier. *International conference on intelligent data communication technologies and internet of things (ICICI) 2018* içinde (ss. 758–763). Springer.
- Rodríguez-Pérez, R. ve Bajorath, J.** (2020). Interpretation of machine learning models using shapley values: application to compound potency and multi-target activity predictions. *Journal of computer-aided molecular design*, *34*(10), 1013–1026.
- Saarela, M. ve Jauhiainen, S.** (2021). Comparison of feature importance measures as explanations for classification models. *SN Applied Sciences*, *3*(2), 272.
- Salih, A., Raisi-Estabragh, Z., Galazzo, I. B., Radeva, P., Petersen, S. E., Menegaz, G. ve Lekadir, K.** (2023). Commentary on explainable artificial intelligence methods: SHAP and LIME. *arXiv preprint arXiv:2305.02012*.
- Saranya, A. ve Subhashini, R.** (2023). A systematic review of Explainable Artificial Intelligence models and applications: Recent developments and future trends. *Decision analytics journal*, *7*, 100230.
- Sawyer, C. C.** (2012). Child mortality estimation: estimating sex differences in childhood mortality since the 1970s.
- Schwedler, C., Grzeski, M., Kappert, K., Rust, J., Heymann, G., Hoppe, B. ve Blanchard, V.** (2022). Coronavirus Disease 2019-Related Alterations of Total and Anti-Spike IgG Glycosylation in Relation to Age and Anti-Spike IgG Titer. *Frontiers in Microbiology*, *13*, 775186.

- Stjepanovic, M. I., Stojanovic, M. R., Stankovic, S., Cvejic, J., Dimic-Janjic, S., Popevic, S., ... Stjepanovic, M. M.** (2022). Autoimmune and immunoserological markers of COVID-19 pneumonia: Can they help in the assessment of disease severity. *Frontiers in Medicine*, 9, 934270.
- Suh, B., Park, S., Shin, D. W., Yun, J. M., Keam, B., Yang, H.-K., ... Cho, B.** (2014). Low albumin-to-globulin ratio associated with cancer incidence and mortality in generally healthy adults. *Annals of oncology*, 25(11), 2260–2266.
- Tafulo, P. ve Ga, G.** (2009). Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 73, 295–300.
- Talari, A. C. S., Martinez, M. A. G., Movasaghi, Z., Rehman, S. ve Rehman, I. U.** (2017). Advances in Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy of biological tissues. *Applied Spectroscopy Reviews*, 52(5), 456–506.
- Tarwidi, D., Pudjaprasetya, S. R., Adytia, D. ve Apri, M.** (2023). An optimized XGBoost-based machine learning method for predicting wave run-up on a sloping beach. *MethodsX*, 10, 102119.
- Teker, H. T., Ceylani, T., Keskin, S., Samgane, G., Allahverdi, H., Acikgoz, E. ve Gurbanov, R.** (2024). Supplementing probiotics during intermittent fasting proves more effective in restoring ileum and colon tissues in aged rats. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 28(6), e18203.
- Teker, H. T., Ceylani, T., Keskin, S., Samgane, G., Baba, B., Acikgoz, E. ve Gurbanov, R.** (2024). Reduced liver damage and fibrosis with combined SCD Probiotics and intermittent fasting in aged rat. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 28(1), e18014.
- Teker, H. T., Ceylani, T., Keskin, S., Samgane, G., Mansuroglu, S., Baba, B., ... Gurbanov, R.** (2023). Age-related differences in response to plasma exchange in male rat liver tissues: insights from histopathological and machine-learning assisted spectrochemical analyses. *Biogerontology*, 24(4), 563–580.
- Testas, A.** (2023). Support Vector Machine Classification with Pandas, Scikit-Learn, and PySpark. *Distributed Machine Learning with PySpark: Migrating Effortlessly from Pandas and Scikit-Learn* içinde (ss. 259–280). Springer.

- Thaweethai, T., Jolley, S. E., Karlson, E. W., Levitan, E. B., Levy, B., McComsey, G. A., ... Consortium, R.** (2023). Development of a Definition of Postacute Sequelae of SARS-CoV-2 Infection. *JAMA*, *329*(22), 1934–1946.
- Ulloque-Badaracco, J. R., Mosquera-Rojas, M. D., Hernandez-Bustamante, E. A., Alarcón-Braga, E. A., Herrera-Añazco, P. ve Benites-Zapata, V. A.** (2022). Prognostic value of albumin-to-globulin ratio in COVID-19 patients: A systematic review and meta-analysis. *Heliyon*, *8*(5).
- Ustaoglu, S. G., Ali, M. H. M., Rakib, F., Blezer, E. L. A., Van Heijningen, C. L., Dijkhuizen, R. M. ve Severcan, F.** (2021). Biomolecular changes and subsequent time-dependent recovery in hippocampal tissue after experimental mild traumatic brain injury. *Scientific Reports*, *11*(1), 12468.
- Vadrevu, S. K., Trbojevic-Akmacic, I., Kossenkov, A. V, Colomb, F., Giron, L. B., Anzurez, A., ... Kaplan, R. C.** (2018). Frontline science: plasma and immunoglobulin G galactosylation associate with HIV persistence during antiretroviral therapy. *Journal of leukocyte biology*, *104*(3), 461–471.
- Van Damme, W., Dahake, R., Delamou, A., Ingelbeen, B., Wouters, E., Vanham, G., ... Assefa, Y.** (2020). The COVID-19 pandemic: Diverse contexts; Different epidemics - How and why? *BMJ Global Health*, *5*(7), 1–16.
- Vicente, M. M., Alves, I., Gaifem, J., Rodrigues, C. S., Fernandes, Â., Dias, A. M., ... Pinho, S. S.** (2022). Altered IgG glycosylation at COVID-19 diagnosis predicts disease severity. *European Journal of Immunology*, *52*(6), 946–957.
- Vrettou, C. S., Vassiliou, A. G., Kakkas, I., Jahaj, E., Tsipilis, S., Athanasiou, N., ... Orfanos, S. E.** (2021). Low admission immunoglobulin G levels predict poor outcome in patients with mild-to-critical COVID-19: A prospective, single-center study. *Journal of Epidemiology and Global Health*, *11*(4), 338–343.
- Wang, L., Zhang, Y., Wang, D., Tong, X., Liu, T., Zhang, S., ... Fan, H.** (2021). Artificial Intelligence for COVID-19: A Systematic Review. *Front. Med.* *8*: 704256. *Artificial Intelligence for COVID-19: A Systematic Review*.
- Wang, Q., Fang, P., He, R., Li, M., Yu, H., Zhou, L., ... Zhang, Y.** (2020). O-GlcNAc transferase promotes influenza A virus-induced cytokine storm by targeting interferon regulatory factor-5. *Science Advances*, *6*(16), eaaz7086.

- Wang, Y., Li, C., Wang, W., Wang, J., Li, J., Qian, S., ... Liu, Y.** (2022). Serum Albumin to Globulin Ratio is Associated with the Presence and Severity of Inflammatory Bowel Disease. *Journal of Inflammation Research*, 15(null), 1907–1920.
- Wasiluk, T., Sredzinska, M., Rogowska, A., Zebrowska, A., Boczkowska-Radziwon, B., Stasiak-Barmuta, A. ve Radziwon, P.** (2023). Analysis of the IgG subclass profile and IgG sum-total discrepancy in COVID-19 convalescent plasma donors: a single-centre prospective cohort study. *Transfusion and Apheresis Science*, 62(1), 103527.
- Weng, L. M., Su, X. ve Wang, X. Q.** (2021). Pain symptoms in patients with coronavirus disease (COVID-19): A literature review. *Journal of Pain Research*, 14, 147–159.
- Whaley III, D. L.** (2005). The interquartile range: Theory and estimation. East Tennessee State University.
- Wood, B. R., Kochan, K., Bedolla, D. E., Salazar-Quiroz, N., Grimley, S. L., Perez-Guaita, D., ... Bambery, K. R.** (2021). Infrared based saliva screening test for COVID-19. *Angewandte Chemie*, 133(31), 17239–17244.
- World Health Organization.** (2020). WHO. 1 Mart 2023 tarihinde <https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019/events-as-they-happen> adresinden erişildi.
- Wynne, J. W., Di Rubbo, A., Shiell, B. J., Beddome, G., Cowled, C., Peck, G. R., ... Michalski, W. P.** (2013). Purification and Characterisation of Immunoglobulins from the Australian Black Flying Fox (*Pteropus alecto*) Using Anti-Fab Affinity Chromatography Reveals the Low Abundance of IgA. *PLoS ONE*, 8(1).
- Yang, J.** (2021). Fast treeshap: Accelerating shap value computation for trees. *arXiv preprint arXiv:2109.09847*.
- Yang, Y., Xiao, Z., Ye, K., He, X., Sun, B., Qin, Z., ... Zhao, W.** (2020). SARS-CoV-2: characteristics and current advances in research. *Virology Journal*, 17(1), 1–17.
- Yonar, D., Severcan, M., Gurbanov, R., Sandal, A., Yilmaz, U., Emri, S. ve Severcan, F.** (2022). Rapid diagnosis of malignant pleural mesothelioma and its discrimination from lung cancer and benign exudative effusions using blood serum. *Biochimica et Biophysica Acta - Molecular Basis of Disease*, 1868(10), 166473.

Zhang, L., Xiao, M., Wang, Y., Peng, S., Chen, Y., Zhang, D., ... Luo, H. (2021). Fast screening and primary diagnosis of COVID-19 by ATR–FT-IR. *Analytical chemistry*, 93(4), 2191–2199.

EKLER

Tablo E.1. Entübe Edilen COVID-19, Servis COVID-19 ve Post-COVID-19 grupların demografik verileri.

ENTÜBE COVID-19				
NO	KİŞİLER	YAŞ	CİNSİYET	ÖRNEK NO
1	A.D.	79	Kadın	S1
2	A.E.	74	Kadın	S2
3	A.K.	81	Erkek	S3
4	B.B.R.	48	Kadın	S4
5	B.D.	89	Kadın	S5
6	C.E.	60	Erkek	S6
7	C.N.	83	Kadın	S7
8	E.A.	45	Erkek	S8
9	H.S.	70	Erkek	S9
10	H.Y.	47	Erkek	S10
11	I.A.	68	Erkek	S11
12	I.K.	82	Erkek	S12
13	İM.A.	46	Erkek	S13
14	Kİ.O.	54	Erkek	S14
15	K.O.	54	Erkek	S15
16	M.A.	82	Kadın	S16
17	M.A.D.	51	Erkek	S17
18	M.E.	84	Erkek	S18
19	M.K.	75	Kadın	S19
20	M.O.	74	Kadın	S20
21	M.S.	79	Erkek	S21
22	MA.S.	79	Erkek	S22
23	MT.A.	89	Erkek	S23
24	M.V.	83	Erkek	S24
25	M.Y.	72	Erkek	S25
26	N.C.	82	Kadın	S26
27	NN.T.	78	Kadın	S27
28	N.T.	85	Erkek	S28
29	O.E.	84	Erkek	S29
30	R.K.	66	Erkek	S30
31	R.Y.	74	Erkek	S31
32	S.A.	77	Kadın	S32
33	S.C.	78	Kadın	S33
34	S.K.	40	Kadın	S34
35	S.Y.	67	Kadın	S35
36	U.P.	53	Erkek	S36
37	V.B.	76	Erkek	S37
38	V.U.	57	Kadın	S38
39	Y.G.	77	Erkek	S39
40	Z.C.	62	Kadın	S40

Tablo E.1.(devamı) Entübe Edilen COVID-19, Servis COVID-19 ve Post-COVID-19 grupların demografik verileri.

POST-COVID-19				
NO	KİŞİLER	YAŞ	CİNSİYET	ÖRNEK NO
1	A.B.	45	Erkek	S41
2	A.Y.	74	Erkek	S42
3	A.A.	62	Erkek	S43
4	A.O.S.	37	Erkek	S44
5	A.U.	68	Erkek	S45
6	A.E.	43	Kadın	S46
7	A.K.	56	Kadın	S47
8	B.Y.	61	Erkek	S48
9	B.B.R.	48	Kadın	S49
10	E.S.	62	Kadın	S50
11	F.K.	58	Kadın	S51
12	F.S.	73	Kadın	S52
13	F.Y.	60	Kadın	S53
14	G.K.	50	Kadın	S54
15	H.T.	59	Erkek	S55
16	H.S.	59	Erkek	S56
17	H.D.	56	Kadın	S57
18	HE.K.	48	Kadın	S58
19	H.K.	50	Kadın	S59
20	HT.T.	47	Erkek	S60
21	H.T.	63	Erkek	S61
22	I.Y.	51	Erkek	S62
23	I.C.	48	Kadın	S63
24	I.S.	58	Erkek	S64
25	I.T.	51	Erkek	S65
26	K.K.	64	Erkek	S66
27	MT.A.	42	Erkek	S67
28	M.S.	60	Erkek	S68
29	M.Y.	68	Erkek	S69
30	M.O.	49	Kadın	S70
31	M.A.	41	Erkek	S71
32	M.T.	64	Erkek	S72
33	MR.A.	72	Kadın	S73
34	MR.S.	73	Kadın	S74
35	NR.K.	64	Kadın	S75
36	NI.K.	61	Erkek	S76
37	NN.K.	57	Kadın	S77
38	N.P.	60	Erkek	S78
39	N.E.	69	Erkek	S79
40	N.K.	53	Kadın	S80
41	O.S.	75	Erkek	S81
42	SN.O.	64	Erkek	S82
43	S.O.	61	Erkek	S83
44	S.S.	55	Kadın	S84
45	S.B.	43	Kadın	S85
46	ST.B.	46	Erkek	S86
47	S.K.	58	Erkek	S87

Tablo E.1.(devamı) Entübe Edilen COVID-19, Servis COVID-19 ve Post-COVID-19 grupların demografik verileri.

POST-COVID-19				
NO	KİŞİLER	YAŞ	CİNSİYET	ÖRNEK NO
48	S.N.	31	Kadın	S88
49	S.G.	48	Erkek	S89
50	SN.A.	51	Kadın	S90
51	S.A.	77	Kadın	S91
52	SA.A.	29	Kadın	S92
53	T.S.	64	Erkek	S93
54	U.O.	51	Erkek	S94
55	V.A.	28	Erkek	S95
56	Y.C.	56	Erkek	S96
57	Y.N.	52	Erkek	S97
58	Z.D.	43	Kadın	S98
59	Z.A.	71	Kadın	S99

SERVİS COVID-19				
NO	KİŞİLER	YAŞ	CİNSİYET	ÖRNEK NO
1	A.S.	85	Erkek	S100
2	A.T.	47	Erkek	S101
3	AT.T.	58	Erkek	S102
4	A.D.	79	Kadın	S103
5	C.S.	73	Erkek	S104
6	E.E.	46	Erkek	S105
7	F.D.	46	Erkek	S106
8	F.A.	82	Kadın	S107
9	FE.D.	64	Kadın	S108
10	G.G.	22	Kadın	S109
11	G.K.	56	Kadın	S110
12	H.N.	61	Kadın	S111
13	H.T.	74	Kadın	S112
14	H.D.	68	Erkek	S113
15	H.A.	76	Erkek	S114
16	IM.K.	82	Erkek	S115
17	I.K.	66	Erkek	S116
18	M.A.	47	Erkek	S117
19	M.U.	80	Erkek	S118
20	MT.A.	54	Erkek	S119
21	N.Y.	64	Erkek	S120
22	N.T.	80	Kadın	S121
23	O.K.	68	Erkek	S122
24	O.P.	69	Erkek	S123
25	R.B.	69	Erkek	S124
26	R.K.	51	Erkek	S125
27	R.Y.	74	Erkek	S126
28	R.E.	91	Kadın	S127
29	S.K.	80	Erkek	S128
30	T.K.	81	Erkek	S129
31	TN.K.	81	Erkek	S130
32	T.G.	31	Erkek	S131
33	V.O.	46	Kadın	S132

Tablo E.2. Entübe Edilen Hastaların Klinik Özellikleri (Doğrudan entübasyona neden olmayan komorbiditeler)

Parametre	Sayı (n)	Yüzde (%)
Hipertansiyon	12	30
Diabetes mellitus (Tip I veya II)	9	22,5
Kronik böbrek hastalığı (GFR <60 ml/dak)	3	7,5
Tiroid fonksiyon bozukluğu (hipertiroidizm, hipotiroidizm)	4	10
Bilinen koroner arter hastalığı	4	10
Sigara içen	15	37,5
Anemi	10	25
Kalp kapakçığı hastalığı	2	5