

**T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**STREPTOCOCCUS PNEUMONIA, STAPHYLOCOCCUS
AUREUS VE PSEUDOMONAS AERUGINOSA İLE İNVAZİV
BAKTERİYEL ENFEKSİYON GEÇİREN ÇOCUKLARDA IRAK4
VE MYD88 GENLERİNDE MUTASYON VARLIĞININ
ARAŞTIRILMASI**

Zeynep Gökçe GAYRETLİ AYDIN

**İmmünoloji Programı
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

ANKARA

2023

**T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**STREPTOCOCCUS PNEUMONIA, STAPHYLOCOCCUS
AUREUS VE PSEUDOMONAS AERUGINOSA İLE İNVAZİV
BAKTERİYEL ENFEKSİYON GEÇİREN ÇOCUKLARDA IRAK4
VE MYD88 GENLERİNDE MUTASYON VARLIĞININ
ARAŞTIRILMASI**

Zeynep Gökçe GAYRETLİ AYDIN

**İmmünoloji Programı
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Deniz Nazire ÇAĞDAŞ AYVAZ**

ANKARA

2023

ONAY SAYFASI

Streptococcus pneumoniae, Staphylococcus aureus ve Pseudomonas aeruginosa ile
İnvaziv Bakteriyel Enfeksiyon Geçiren Çocuklarda IRAK4 ve MYD88 Genlerinde
Mutasyon Varlığının Araştırılması
Öğrenci: Zeynep Gökçe GAYRETLİ AYDIN
Danışman: Prof. Dr. Deniz Nazire ÇAĞDAŞ AYVAZ

Bu tez çalışması ...18/08/2023..... tarihinde jürimiz tarafından "...İmmünoloji Tezli Yüksek Lisans Programı" nda yüksek lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı: Prof. Dr. Ayşe METİN (imza)
Bilkent Şehir Hastanesi, Ankara

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Deniz Nazire ÇAĞDAŞ AYVAZ (imza)
Hacettepe Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Ankara

Üye: Prof. Dr. Barış KUŞKONMAZ (imza)
Hacettepe Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Ankara

Üye: Prof. Dr. Güneş ESENDAĞLI (imza)
Hacettepe Üniversitesi, Kanser Enstitüsü, Ankara

Üye: Doç. Dr. Sevil OSKAY HALAÇLI (imza)
Hacettepe Üniversitesi, Çocuk Sağlığı Enstitüsü, Ankara

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

01 Eylül 2023

Prof. Dr. Müge YEMİŞÇİ ÖZKAN
Enstitü Müdürü

YAYIMLAMA VE FİKRİ MÜLKİYET HAKLARI BEYANI

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

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

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

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

...../...../.....

Zeynep Gökçe GAYRETLİ AYDIN

1“*Lisansüstü Tezlerin Elektronik Ortamda Toplanması, Düzenlenmesi ve Erişime Açılmasına İlişkin Yönerge*”

- (1) *Madde 6. 1. Lisansüstü teze ilgili patent başvurusu yapılması veya patent alma sürecinin devam etmesi durumunda, tez danışmanının önerisi ve enstitü anabilim dalının uygun görüşü üzerine enstitü veya fakülte yönetim kurulu iki yıl süre ile tezin erişime açılmasının ertelenmesine karar verebilir.*
- (2) *Madde 6. 2. Yeni teknik, materyal ve metotların kullanıldığı, henüz makaleye dönüşmemiş veya patent gibi yöntemlerle korunmamış ve internette paylaşılması durumunda 3. şahıslara veya kurumlara haksız kazanç imkanı oluşturabilecek bilgi ve bulguları içeren tezler hakkında tez danışmanının önerisi ve enstitü anabilim dalının uygun görüşü üzerine enstitü veya fakülte yönetim kurulunun gerekçeli kararı ile altı ayı aşmamak üzere tezin erişime açılması engellenebilir.*
- (3) *Madde 7. 1. Ulusal çıkarları veya güvenliği ilgilendiren, emniyet, istihbarat, savunma ve güvenlik, sağlık vb. konulara ilişkin lisansüstü tezlerle ilgili gizlilik kararı, tezin yapıldığı kurum tarafından verilir *. Kurum ve kuruluşlarla yapılan işbirliği protokolü çerçevesinde hazırlanan lisansüstü tezlere ilişkin gizlilik kararı ise, ilgili kurum ve kuruluşun önerisi ile enstitü veya fakültenin uygun görüşü üzerine üniversite yönetim kurulu tarafından verilir. Gizlilik kararı verilen tezler Yükseköğretim Kuruluna bildirilir. Madde 7.2. Gizlilik kararı verilen tezler gizlilik süresince enstitü veya fakülte tarafından gizlilik kuralları çerçevesinde muhafaza edilir, gizlilik kararının kaldırılması halinde Tez Otomasyon Sistemine yüklenir*

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

ETİK BEYAN

Bu çalışmadaki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu, kullandığım verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı, yararlandığım kaynaklara bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu, tezimin kaynak gösterilen durumlar dışında özgün olduğunu, Prof. Dr. Deniz Nazire ÇAĞDAŞ AYVAZ danışmanlığında tarafımdan üretildiğini ve Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Yönergesi'ne göre yazıldığını beyan ederim.

Zeynep Gökçe GAYRETLİ AYDIN

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca ilgi ve desteğini gördüğüm, her konuda bilgi ve tecrübelerini benimle paylaşan, çıkmaz yola girdiğimi zannettiğim her an yolumu aydınlatan, bana her zaman ışık tutan, çalışkanlığını, sabrını, disiplinini ve bilimsel dünya görüşünü örnek aldığım tez danışmanım, değerli hocam Prof. Dr. N. Deniz ÇAĞDAŞ AYVAZ' a;

İmmünoloji' nin kapılarını bana açan, bilim dünyasındaki ufkumu genişleten, duruşu ile her zaman örnek aldığım, desteğini her zaman hissettiğim çok kıymetli hocam Prof. Dr. İlhan TEZCAN' a;

Laboratuvar analizlerinin gerçekleştirilmesinde katkı sağlayan başta Özlem AKAY ve Biyolog Begüm ÇİÇEK olmak üzere Pediatrik İmmünoloji Bilim Dalı Laboratuvarı'nın değerli çalışanlarına,

Akademik hayatımda hep yanımda olan, beni destekleyen ve motive eden, hayattaki tüm yükümü paylaştığım sevgili eşim Op. Dr. Altan AYDIN' a, tüm bu zorlu süreçlerde yanımda olan, varlıkları ile huzur ve enerji veren çocuklarım Gökтуğ ve Kerem' e;

Hayatımın her aşamasında beni büyük özveri, sabır ve anlayışla destekleyen, sevgileri ve emekleriyle daima destek olan annem, babam ve kardeşime sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

ÖZET

Gayretli Aydın, ZG., Streptococcus pneumonia, Staphylococcus aureus ve Pseudomonas aeruginosa ile İnvaziv Bakteriyel Enfeksiyon Geçiren Çocuklarda IRAK4 ve MYD88 Genlerinde Mutasyon Varlığının Araştırılması, Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü İmmünoloji Programı Yüksek Lisans Tezi, Ankara, 2023. İnvaziv bakteriyel enfeksiyonlar steril vücut sıvılarının bakteri ile enfekte olmasıdır. Menenjit, bakteriyemi, sepsis, septik artrit, osteomyelit, plevral ampiyem, derin doku ve organ abseleri invaziv bakteriyel enfeksiyonlar arasında yer almaktadır. IRAK4 ve MyD88 eksikliği olan hastalarda, *Streptococcus pneumoniae* ve *Staphylococcus aureus* ile invazif bakteriyel enfeksiyonlara karşı seçici yatkınlık oluşmaktadır. Bu çalışmada *Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* ile invaziv bakteriyel enfeksiyon geçiren hastalarda primer immün yetmezlik tarama testlerine ek olarak IRAK-4 ve MyD88 genlerinde mutasyon varlığının araştırılması amaçlanmıştır. Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Enfeksiyon Servisinde izlenen 15 hasta çalışmaya dahil edildi. Hastaların yedisi (% 46,7) kızdı. Hastaların ortanca yaş değeri 48 ay (min-maks:2,5-130 ay) idi. Hastaların altısı (% 40) komplike parapnömonik efüzyon, dördü (% 26,7) septik artrit, dördü (% 26,7) kan akımı enfeksiyonu, biri (% 6,7) akut bakteriyel menenjit idi. İzole edilen etkenlerin 10'u (%66,7) *S. pneumoniae*, beşi (%33,3) *S. aureus* idi. Çalışmaya dahil edilen hastaların yedisinde IRAK-4 geninde heterozigot varyant tespit edildi (c.1282 G>A heterozigot, rs4251545 exon 11 Ala428Thr; biri c.1172 G>A heterozigot rs55944915 exon 10 Arg391His), MyD 88 geninde herhangi bir varyant saptanmadı. IRAK-4 varyantları polimorfizm olarak değerlendirildi. IRAK-4 eksikliği OR geçişli olmasına rağmen; heterozigot IRAK4 polimorfizminin klinikle korelasyonunu ortaya koymak için daha ileri fonksiyonel ve genetik çalışmalara ihtiyaç vardır. İnvaziv pnömokokal ve stafilokokkal hastalığı olan çocuklar, altta yatan bir PİY için değerlendirilmelidir. Bu çocukların ayırıcı tanısında özellikle IRAK-4 ve MyD88 eksiklikleri gibi etkene spesifik immün yetmezlikler göz önünde bulundurulmalıdır.

Anahtar Kelimeler: invaziv bakteriyel enfeksiyon, IRAK-4 eksikliği, MyD88 eksikliği

ABSTRACT

Gayretli Aydın, ZG., Investigation of IRAK4 and MYD88 Gen Mutation in Children with Invasive Bacterial Infection with Streptococcus pneumonia, Staphylococcus aureus and Pseudomonas aeruginosa, Hacettepe University Graduate School of Health Sciences Immunology Master Thesis, Ankara, 2023.

Invasive bacterial infections are bacterial infections of sterile body fluids. Invasive bacterial infections include meningitis, bacteremia, sepsis, septic arthritis, osteomyelitis, pleural empyema, deep tissue and organ abscesses. Patients with IRAK4 and MyD88 deficiency are selectively predisposed to invasive bacterial infections with *Streptococcus pneumoniae* and *Staphylococcus aureus*. This study aimed to investigate the presence of mutations in IRAK-4 and MyD88 genes in addition to primary immunodeficiency screening tests in patients with invasive bacterial infections with *Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*. Fifteen patients who had invasive bacterial infections with *Streptococcus pneumoniae* and *Staphylococcus aureus* in Karadeniz Technical University Faculty of Medicine, Department of Pediatric Infection Disease were included in the study. Seven of the patients (46.7%) were girls. The median age of the patients was 48 months (min-max: 2.5-130 months). Six (40%) of the patients were complicated parapneumonic effusion, four (26.7%) septic arthritis, four (26.7%) bloodstream infection, one (6.7%) acute bacterial meningitis. Of the isolated agents, 10 (66.7%) were *S. pneumoniae* and five (33.3%) were *S. aureus*. Heterozygous variant in the IRAK-4 gene were detected in seven of the patients included in the study (c.1282 G>A heterozygous, rs4251545 exon 11 Ala428Thr; one c.1172 G>A heterozygous rs55944915 exon 10 Arg391His), no mutation was detected in the MyD88 gene. The variants in the IRAK-4 gene is accepted as polymorphism. Although IRAK-4 deficiency is inherited in an autosomal recessive trait; further functional and genetic studies are needed to understand the correlation of the heterozygous IRAK4 polymorphisms defined here with clinical situation. Children with invasive pneumococcal and staphylococcal disease should be evaluated for an underlying PID. Especially agent specific immunodeficiency diseases, such as IRAK-4 and MyD88 deficiencies, should be considered in the differential diagnosis of these children.

Keywords: invasive bacterial infection, IRAK-4 deficiency, MyD88 deficiency

İÇİNDEKİLER

ONAY SAYFASI	iii
YAYIMLAMA VE FİKRİ MÜLKİYET HAKLARI BEYANI	iv
ETİK BEYAN	v
TEŞEKKÜR	vi
ÖZET	vii
ABSTRACT	viii
İÇİNDEKİLER	ix
SİMGELER ve KISALTMALAR	xi
ŞEKİLLER	xiii
TABLolar	xiv
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. İmmün Sistem	3
2.2. Doğal ve Edinsel İmmün Sistem	3
2.3. Doğal İmmün Sistem Elemanları	4
2.4. Doğal İmmün Yanıtın Düzenlenmesi	4
2.5. IRAK-4 eksikliği	12
2.6. MyD88 Eksikliği	14
2.7. IRAK-4 ve MyD Eksikliğinde Tanı	15
2.8. Tedavi ve Korunma	16
3. GEREÇ VE YÖNTEM	18
3.1. Olguların Seçimi ve Araştırmaya Dahil Edilmesi	18
3.2. Hastalardan Kan Örneklerinin Alınması ve Analizlerinin Gerçekleştirilmesi	19
3.3. DNA İzolasyonu	19
3.4. IRAK-4 ve MyD88 Gen Analizi	20
3.5. Sonuçların Analizi ve Değerlendirilmesi	21
4. BULGULAR	22
5. TARTIŞMA	30
6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	37
7. KAYNAKLAR	38
8. EKLER	

EK- 1: Tez Çalışması ile İlgili Etik Kurul İzni

EK- 2: Turnitin Ekran Görüntüsü

EK-3: Dijital Makbuz

9. ÖZGEÇMİŞ

SİMGELER ve KISALTMALAR

CLR	: C tipi lektin reseptörleri
CRP	: C-reaktif protein
DAMPs	: Hasar ilişkili moleküler örgüler
DD	: Death domaine
DH	: Dendritik hücreler
DNA	: Deoksiribonükleik asit
ID	: İntermediyet alanı
İFN	: İnterferon
IL-1	: İnterlökin-1
IRAK	: İnterlökin-1 reseptör-ilişkili kinaz
KD	: Kinaz alanı
LRR	: Lösinden zengin tekrarlar
MAL	: MyD88 adaptör benzeri
MAPK	: Mitojenle aktive edilen protein kinaz
MLS	: Mutlak lenfosit sayısı
MNS	: Mutlak nötrofil sayısı
MyD88	: Miyeloid farklılaşma faktörü-88
NEMO	: NF-kB esansiyel modülatörü
NF-Kb	: Nükleer faktör kappa B
NK	: Natural Killer
NLR	: NOD-benzeri reseptörler
PAMPs	: Patojen ilişkili moleküler örgüler
PIP2	: Fosfatidil inositol 4, 5-bifosfat
PRR	: Örgü tanıma reseptörleri
RLR	: RIG-I benzeri reseptörler
RNA	: Ribonükleik asit
SARM	: Steril α ve HEAT/Armadillo motifi içeren protein
TAK1	: TGF-b ile aktive olan kinaz 1'i
tGPI	: Glikosilfosfatidilinositol bağlantılı müsinler
TIR	: Toll-interlökin-1 reseptörü
TIRAP	: Toll-interlökin-1 reseptör alanı

TLR	: Toll benzeri reseptörler
TNF	: Tümör nekroz faktörü
TRAF6	: TNF reseptörü ile ilişkili faktör 6
TRAM	: TRIF ile ilişkili adaptör molekülü
TRIF	: TIR alanı içeren adaptör
UİDB	: Uluslararası İmmünolojik Dernekler Birliği

ŞEKİLLER

Şekil		Sayfa
2.1.	Toll benzeri reseptörlerin inflamatuvar hücreleri aktive eden sinyal yolları	6
2.2.	MyD88 aracılı sinyal iletim yolağı	7
2.3.	Sinyal kaskatında kritik önemi olan interlökin reseptör ilişkili kinaz (IRAK) molekülleri	8
2.4.	Tanımlanan tüm mutasyonlarla birlikte IRAK4'ün şematik gösterimi.	12
2.5.	Tekrarlayan enfeksiyonlarla ortaya çıkan immün yetmezliklerin değerlendirilmesi	16
4.1.	IRAK-4 geni cDNA gösterimi ve varyantların gösterilmesi	22
4.2.	IRAK4 protein domainleri ve varyantların gösterilmesi	23
4.3.	A-c.1172 G>A heterozigot rs55944915 ekzon 10 Arg391His elektroferogram görüntüsü, B- c.1282 G>A heterozigot, rs4251545 ekzon 11 Ala428Thr elektroferogram görüntüsü	23

TABLolar

Tablo		Sayfa
2.1.	Uluslararası immünoloji dernekler birliği 2022 primer immün yetmezlik sınıflaması	10
2.2.	Yapısal ve doğal immün sistem bozuklukları ile ilgili hastalıklar	11
3.1.	PZR protokolünde kullanılan malzemeler	20
4.1.	İnvazif bakteriyel enfeksiyonlar ve etken mikroorganizmaların dağılımı	24
4.2.	Hastaların hemogram ve immünolojik test sonuçları	25
4.3.	Hastaların hemogram ve immünolojik test sonuçlarının varyantin varlığına göre karşılaştırılması	26
4.4.	Hastaların tanısı, IRAK4 ve MyD88 gen varyant sonuçları	28

1. GİRİŞ

Doğal bağışıklık, enfeksiyonlara karşı konağın savunmasındaki ilk kritik basamağı oluşturur. Güçlü bir biçimde mikroorganizmaları hedef alan bu sistem, enfeksiyonu denetlemek ve yok etmek için yapılanmıştır (1). Doğal bağışıklık sisteminde yer alan Toll benzeri reseptörler (TLR), homodimer veya heterodimer olarak işlev gören tip 1 transmembran proteinleridir. Bakteriyel, viral ve fungal patojenleri; ortak yapıdaki bileşenlerine bağlanarak tanınırlar. Mikrobiyal patojenlerin tanınmasından sonra, TLR'ler, enflamatuar sitokinlerin ve tip I interferonların (IFN) uyarılmasıyla sonuçlanan hücre içi sinyal yollarını tetikler (1, 2). TLR'ler, interlökin-1 (IL) reseptör ailesinin üyeleriyle Toll-interlökin-1 reseptörü (TIR) alanı adı verilen intraselüler alanı paylaşırlar. Klasik TLR aracılı hücre içi sinyalleşme, TIR içeren sitozolik adaptör molekül miyeloid farklılaşma faktörü-88 (MyD88) ve adaptör protein içeren Toll-interlökin-1 reseptör alanı (TIRAP) içerir. MyD88, 2 aktif kinaz olan İnterlökin-1 reseptör-ilişkili kinaz (IRAK)-1, IRAK-4 ve 2 katalitik olmayan alt birimden, TLR'ler ve IL-1R'ler IRAK kompleksine köprü görevi gören anahtar bir sitozolik adaptör molekülüdür (1, 3). MyD88, Toll ve IL-1R domaini aracılığıyla TLR'ler ve IL-1R'ler ile etkileşime girer. MyD88 ve IRAK-4'e bağımlı TIR yolu, TLR7, TLR8 ve TLR9 uyarılarından sonra; IL-1, IL-6, IL-8, tümör nekroz faktörü (TNF) - α , interferon (IFN) - α / β gibi inflammatuar sitokinlerin sentezine yol açar. MyD88 ve IRAK-4 eksikliği olan hastalardan elde edilen kan lökositleri, TLR ve IL-1R agonistleri ile uyarıldıklarında çoğunlukla bozuk yanıt verirler. İnsanda TLR3 dışındaki tüm TLR'ler MyD88 ve IRAK-4 molekülünü kullanırlar (4). Bu yolak ayrıca, IL-1R, IL-18R ve IL-33Ra dahil olmak üzere birçok IL-1R tarafından da kullanılır. IL-1 α ve IL-33 ayrıca, transkripsiyonel düzenlemeye yol açan alternatif hücre içi etkiler de gösterebilir. Bilindiği kadarıyla, MyD88'den bağımsız IL-1R yolunu etkileyen herhangi bir mutasyon henüz tanımlanmamıştır (5-7).

IRAK-4 ve MyD88 eksiklikleri, homozigot veya bileşik heterozigot IRAK4 ve MyD88 gen mutasyonlarının neden olduğu otozomal resesif geçişli primer immün yetmezlikler olarak tanımlanmıştır. IRAK4 ve MYD88, doğal immün yanıtta görev yapan moleküllerdir. IRAK4, TLR'lerin sinyal iletiminde önemli rol oynayan bir protein kinazdır. MyD88 ile etkileşime girer ve IRAK1'i etkinleştirir. Hiperfosforile edildikten sonra IRAK1, nükleer faktör kappa B (NF-Kb) ve Mitojenle aktive edilen

protein kinaz (MAPK) yollarının aktivasyonunu tetikleyen TNF reseptörü ile ilişkili faktör 6 (TRAF6) ile birleşir (7, 8). IRAK4 ve MyD88 eksikliği olan hastalar, invazif piyogenik bakteriyel enfeksiyonlara karşı seçici yatkınlık gösterirken; mantar, parazit, virüs ve diğer birçok bakteriye karşı normal direnç gösterirler. MyD88 ve IRAK-4 eksiklikleri olan hastalarda özellikle *Streptococcus pneumoniae* ve *Staphylococcus aureus* gibi gram pozitif bakterilerin neden olduğu invaziv bakteriyel enfeksiyonlar, ve nadiren de *Pseudomonas aeruginosa* ve *Shigella sonnei* gibi gram-negatif bakterilerin neden olduğu enfeksiyonlar ortaya çıkabilmektedir (9). İnvaziv bakteriyel enfeksiyonlar steril vücut sıvılarının bakteri ile enfekte olmasıdır. Menenjit, bakteriyemi, sepsis, septik artrit, osteomyelit, plevral ampiyem, derin doku ve organ abseleri invaziv bakteriyel enfeksiyonlar arasında yer almaktadır. Bu enfeksiyonlar tekrarlayabilir. IRAK4 ve MyD88 eksikliği olan hastalarda ayrıca deri ve üst solunum yollarını etkileyen invaziv olmayan yaygın, nekrotizan, piyogenik bakteriyel enfeksiyonlar da görülebilir. Enfeksiyonlar tipik olarak akut fakat inflamatuvar belirtilerin zayıf olması nedeniyle tanı koymak güçtür. Enfeksiyonlar sıklıkla bebeklik ve erken çocukluk döneminde ortaya çıkarlar. Bu hastaların %40' ı invaziv bakteriyel enfeksiyonlar (özellikle de invaziv pnömokokkal enfeksiyonlar ile) ile kaybedilmektedir. Doğal immün sistemi etkileyen her iki gen defektinde de Tve B hücre immünitesinin kazanılması nedeni ile, ilerleyen yaşlarda fazla klinik bulgu görülmeyebilir. Bu hasta grubunda 14 yaşından sonra invaziv bakteriyel enfeksiyon ve 8 yaşından sonra da ölüm bildirilmemiştir (10, 11).

Bu hastalarla ilgili klinik bilgiler daha çok vaka sunumlarından elde edilmektedir. Biz de bu nedenlerle hastanemizde *Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* ve *Pseudomonas aeruginosa* ile invaziv bakteriyel enfeksiyon nedeni ile tedavi ve takip ettiğimiz hastalarda primer immün yetmezlik tarama testlerine ek olarak IRAK-4 ve MyD88 genlerinde mutasyon varlığını araştırmayı amaçladık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. İmmün Sistem

İmmünite, dokunulmazlık, özgürlük, bağımsızlık anlamlarına gelen Latince “immunitas” sözcüğünden köken almaktadır. Tarihsel olarak immünite, hastalıktan ve daha özel olarak enfeksiyon hastalıklarından korunma anlamına geliyordu. İmmüniteden sorumlu hücreler ve moleküller **immün sistemi** oluştururken; bu hücre ve moleküllerin konağa giren yabancı antijenlere karşı oluşturdukları toplu ve düzenli yanıtta **immün yanıt** denilmektedir (1).

İmmün sistemin en önemli fizyolojik işlevi, konağı enfeksiyonlara karşı korumaktır. Bununla birlikte enfeksiyöz olmayan yabancı maddeler, konağın kendi hasarlı ürünleri ve malign tümoral hücreler immün yanıt oluştururlar. Ayrıca, normalde bireyleri enfeksiyondan koruyan ve yabancı maddeleri ortadan kaldıran immün mekanizmalar bazı durumlarda doku hasarına ve hastalığa neden olabilir. Bazı durumlarda, konağın kendi molekülleri bile immün yanıtta yol açarak otoimmün yanıt oluşturabilirler. Bu nedenle immün yanıtın daha kapsamlı tanımı; yabancı ve anormal olarak tanımlanan molekül ve mikroorganizmalara karşı fizyolojik veya patolojik sonucuna bakılmaksızın verilen yanıtıdır. İmmünoloji, daha geniş anlamda organizmanın mikroplar ve diğer yabancı makromoleküllerle karşılaşmasından sonra immün yanıt olarak meydana gelen hücresel ve moleküler olayların incelenmesidir (1).

2.2. Doğal ve Edinsel İmmün Sistem

Mikroplara karşı savunma mekanizması; sıralı ve düzenli bir şekilde “doğal ve edinsel immünite” ile oluşturulmaktadır. Doğal immünite, enfeksiyonlara karşı konağın savunmasındaki ilk kritik basamağı oluştururken, mikropların konak dokularına girişini engellemeye ve konak dokularına girmeyi başaran mikropları hızla yok etmeye hazırdır. Doğal immünite, edinsel immün yanıt gelişmeden önce, enfeksiyondan sonraki ilk birkaç saat veya gün içinde mikroplara karşı savunma için gereklidir. Doğal immünite, “doğuştan immünite” veya “zaten organizmada var olan immünite” olarak da adlandırılır. Mikropların konak dokularına girişini engellemeye ve konak dokularına girmeyi başaran mikropları hızla yok etmeye hazırdır. Bunları

gerçekleştirmek için doğal immün sistem; dokularda ve kanda birçok tipte hücre ve çözünür molekülden oluşur (1).

2.3. Doğal İmmün Sistem Elemanları

Doğal immün sisteminin ana bileşenlerini, mikropların girişini fiziksel olarak engelleyen bariyer görevi yapan epitel; epitel engelini aşan mikroorganizmaları tespit edip konakçı yanıtını başlatan dokularda yer alan makrofajlar, mast hücreleri ve dendritik hücreler (DH); kandan dokulara geçen veya epiteli aşmış dokulara geçen mikroorganizmaları ortadan kaldıran ve ayrıca hasarlı konak hücrelerini ortadan kaldıran nötrofil, monosit (dokuda makrofaj), doğal öldürücü hücreler (Natural Killer-NK) ve diğer hücrelerin yer aldığı lökositler ve kan akımında mikroorganizmalara karşı harekete geçip onlarla savaşan kompleman proteinlerine ek olarak plazma proteinleri oluşturmaktadır (2).

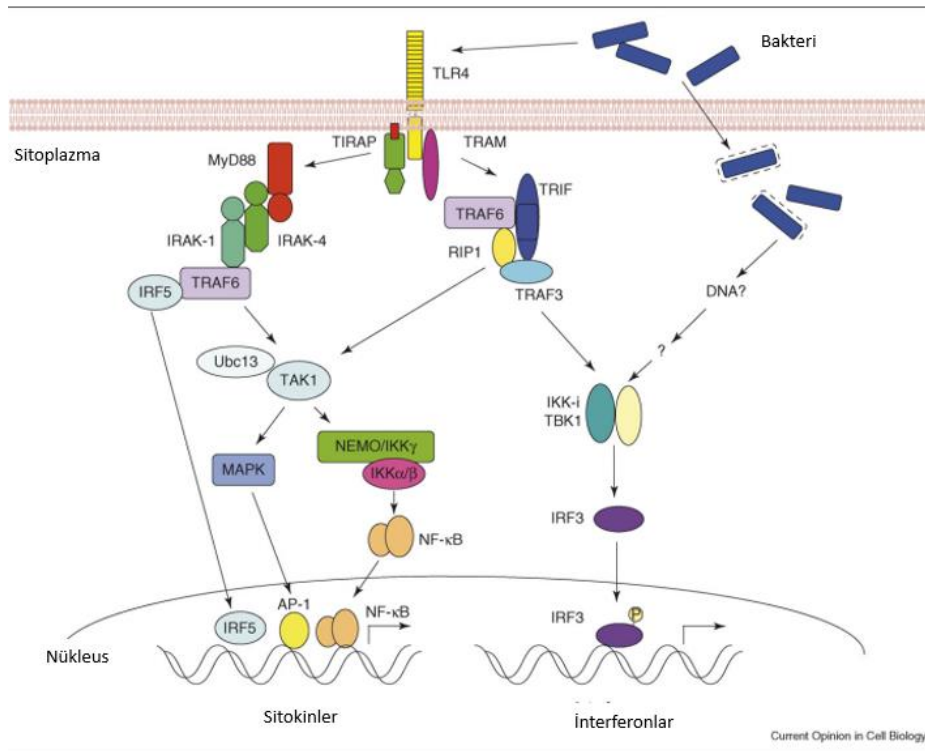
Doğal immün sistem mikroorganizmaları ve hücrel stresle ilgili molekülleri; örgü tanıma reseptörleri (PRR) adı verilen özel proteinler tarafından tanır. Örgü tanıma reseptörleri mikroorganizmalara ait lipopolisakkaritler, lipoteikoik asit, diaçil gliserol, triaçil gliserol, peptidoglikan yapıdaki toksinleri ve bakteri hücre duvarı komponentleri veya mannoz, nükleik asitler (bakteriyal ya da viral DNA veya RNA) gibi eksojen patojen ilişkili moleküler örgüleri (PAMPs) tanımada görevlidir. PRR'ler sadece eksojen ligandlarla değil aynı zamanda endojen tümör hücreleri, ölü veya ölmekte olan konakçı hücrelerden veya hipoksi gibi endojen strese yanıt olarak konakçı hücrelerden üretilen hasar ilişkili moleküler örgüleri (DAMPs) de tanır. Örgü tanıma reseptörleri farklı PAMPs ve DAMPs ligandlarına bağlanınca doğal immün yanıtı ve inflamatuvar yanıtı düzenleyen özgül sinyal ileti yollarını aktive ederek farklı genlerin ekspresyonunu düzenlemektedirler (3, 5, 6). Bu PAMPs ve DAMPs'ları tanıyan PRR; TLR, NOD-benzeri reseptörler (NLR), RIG-I benzeri reseptörler (RLR), C tipi lektin reseptörler (CLR) ve Çöpçü reseptörler olmak üzere beş protein ailesinden oluşmaktadır (5, 7).

2.4. Doğal İmmün Yanıtın Düzenlenmesi

Toll benzeri reseptörler meyve sineği olan *Drosophila*'nın dorsal-ventral akslarının embriyogenezinde rol alan ve enfeksiyonlara karşı savunmada rolü olan

Toll adı verilen proteinlerin homologudur (5, 12-14). Bütün TLR'ler, PAMPs ve DAMPs' ları tanıyan at nalı biçimindeki proteinlerdir. Moleküler ağırlıkları 90 ila 115 kDa arasında değişen ve 16-28 hücre dışı lösinden zengin tekrarlardan (LRR) oluşan bir ektodomain ile IL-1 reseptörüne benzer olduğu için TIR (toll like/Interleukin 1) ismini alan sinyal iletiminde görevli bir transmembran kısma sahiptirler. TLR'lerin transmembran α -heliks kısmı ve korunmuş iç bölgesi insanlardaki IL-1R ve IL-18R in homologudur (15). İnsanlarda TLR1-10 olarak adlandırılan 10 farklı fonksiyonel TLR vardır. Farelerde, insan TLR1-9' a homolog TLR ve ayrıca üç tane daha TLR11-13 toplamda 12 TLR vardır, ancak TLR10 yoktur (16). Bazı TLR'ler hücre yüzeyinde yer alıp hücre dışı mikroorganizmaları tanırken; bazı TLR' ler de endozom, lizozom, endolizozom gibi hücre içi kompartmanlarda yer alıp hücre içine giren mikroorganizmaları tanırlar. TLR1, 2, 4, 5, 6 ve 10 hücre yüzeyinde lokalize olurken; TLR3, 7, 8, 9, 11 ve 12 hücre içinde endozomlarda bulunurlar (17). TLR1 veya TLR6 ile heterodimer oluşturan TLR2 glikosilfosfatidilinositol (tGPI)-bağlantılı müsinler lipoprotein, peptidoglikan, mannan, zimozan, lipoteikoik asit gibi bir çok bakteri lipoglikanlarını tanırken; TLR-4 bakteri lipopolisakkaritini (endotoksin), TLR-5 bakteriyel flagellini tanır. İntraselüler yerleşimli TLR 3, 7 ve 8 viral nükleik asitleri, TLR-9 metillenmemiş CpG motiflerinden zengin viral ve bakteriyel DNA'yı, aynı zamanda *Plasmodium falciparum* enfeksiyonlarında ortaya çıkan çözünmez kristal özelliğe sahip homozoin maddesini tanır. TLR-11 flagellin, üropatojenik *Escherichia coli*' nin bilinmeyen protein komponenti ve *Toxoplasma gondii* kökenli profilin benzeri molekülleri tanır (18). TLR-12, PAMP'ları tanıma açısından TLR11 büyük benzerlik gösterip *Toxoplasma gondii* kökenli profilin benzeri molekülleri tanır (19).

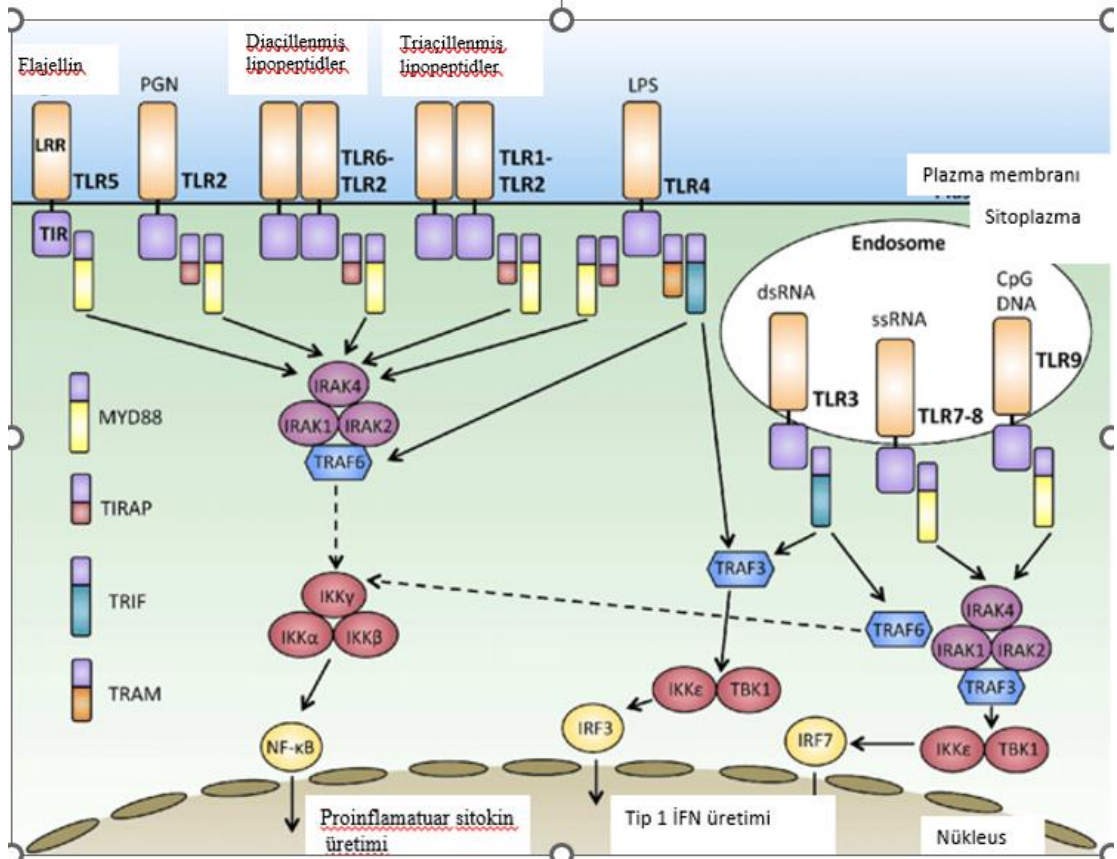
Toll benzeri reseptörlerin, memelilerde mikroorganizmalar ile karşılaştıktan sonra inflamatuvar hücreleri aktive etmek için birleştiği ana sinyal iletim yolu, NF- κ B yolağıdır (Şekil 2.1.). TLR'ler tarafından başlatılan sinyalin iletilmesi için MyD88, TIR bölgesi içeren adaptör molekül (TIRAP) veya MyD88 adaptör benzeri (MAL)TIRAP / MAL, TRIF, TRAM (TRIF ile ilişkili adaptör molekül) ve Steril α ve HEAT/Armadillo motifi içeren protein (SARM) gibi adaptör proteinlere ihtiyaç vardır (6, 20).



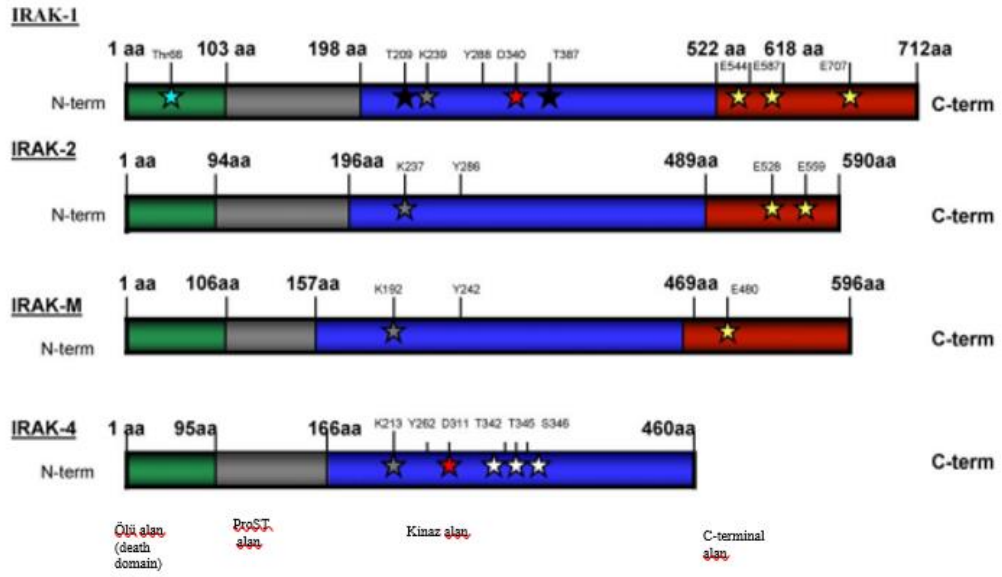
Şekil 2.1. Toll benzeri reseptörlerin inflamatuvar hücreleri aktive eden sinyal yolları (20)

Adaptör proteinlerden biri olan miyeloid diferansiyasyon faktör 88 (MyD88), kısa bir bağlayıcı dizisi ve karboksil (C)- terminal TIR bölgesini takip eden amino (N)-terminal death domaine (DD) sahiptir. Ayrıca MyD88' in IL-1R ilişkili kinaz (IRAK) 4 ile etkileşime giren dolayısıyla TLR sinyalizasyonu için gerekli olan bir `intermediate` alanı (ID) da bulunur (8, 21). Bir ligand TLR' ün LRR alanına bağlandığında; TLR sinyal kaskadı, TLR' lerin (TLR3 hariç) ve MyD88' in TIR alanlarının homotipik etkileşimi yoluyla iletilir ve aktive olur. MyD88' in DD daha sonra altı MyD88, dört IRAK-4 ve dört IRAK-2 molekülünden oluşan bir `mydozom` kompleksi oluşturmak için IRAK ailesi üyelerini toplar (12). Aktivasyon ve modifikasyonlardan sonra, IRAK' lar mydozom kompleksinden ayrılır ve ardından TRAF6 ile etkileşime girer. Bir dizi sinyal aktivasyonu yoluyla, TLR sinyali proinflamatuvar sitokinlerin ve tip I interferonun ekspresyonunu artırır (Şekil 2.2) (22,23). Sinyal kaskatında kritik önemi olan IRAK molekülleri, IRAK-1, IRAK-2, IRAK-M ve IRAK-4 serin-treonin kinaz yapısında dört aile üyesinden oluşmaktadır

(Şekil 2.3) (8, 24). Bu proteinler, C-terminal alanından yoksun olan IRAK-4 dışında bir N-terminal DD, bir proST alanı, korunmuş bir merkezi kinaz alanı ve bir C-terminal alanı olmak üzere benzer yapısal özelliklere sahiptirler. IRAK molekülleri arasında sadece IRAK-1 ve IRAK-4 kinaz aktivitesine sahiptir (24).



Şekil 2.2. MyD88 aracılı sinyal iletim yolağı (23)



★	Dimerizasyon için önemli
☆	Kinaz aktivitesi için önemli
☆	Değişmez lizin kalıntısı
★	IRAK-4 ile fosforilasyon
★	Kritik aspartate rezidüsü
★	TRAF-6 bağlayıcı motif

Şekil 2.3. Sinyal kaskatında kritik önemi olan interlökin reseptör ilişkili kinaz (IRAK) molekülleri (24)

TLR'lerin uyarılmasıyla başlayan sinyal kaskatında adaptor proteinlerin ve sinyal ara ürünlerinin farklı kombinasyonları yer alır. Hücre yüzeyinde bulunan TLR 1, 5 ve 6, MyD88 adaptör proteinine bağlanarak esas olarak NF- κ B yolağını aktive edip inflammatuar yanıtı başlatır, ancak IRF aktivasyonu veya tip I IFN yanıtını uyarımlar. Endosomal yerleşimli TLR 7, 8 ve 9 MyD88 adaptör proteinine bağlanarak hem NF- κ B hem de IRF7 yolağının aktivasyonuna neden olur. NF- κ B, inflammatuar yanıtı indükler ve IRF7, antiviral yanıtlara aracılık eden IFN- α ekspresyonunu indükler (20).

Hücre yüzeyinde bulunan TLR4, hem MyD88 hem de TRIF (TIR alanı içeren adaptör IFN- β 'yi indükleyen adaptör) adaptor proteinine bağlanarak NF- κ B yolağını

aktive ederken; TRIF tek başına IRF3 aktivasyonunu uyararak IFN- β ekspresyonuna aracılık eder. Endosomal TLR3 TRIF adaptor proteini aracılığı ile NF- κ B and IRF3 sinyal yolağını aktive eder. Böylece TLR3 ve TLR4 sinyalleri hem inflamatuvar hem de IFN- β aracılı yanıtları uyarır (19,20, 24).

Bakteriyel mikroorganizmalar TLR'ler tarafından tanınır ve MyD88 adaptör proteini ile bağlanarak proinflamatuvar sitokinlerin üretimine yol açan bir sinyal yolağını aktive ederler (20, 25). TLR2 lipoprotein, peptidoglikan ve lipoteikoik asit gibi bakteriyel yapıları tanır (26,27). In vitro olarak, *L. monocytogenes* hücre duvarı bileşenleri, TLR2 tarafından CD14 ve TLR6 yardımıyla tanınır (28-30); TLR2 yokluğunda, bakteriyel klirenste azalma ve *S. agalactiae* enfeksiyonuna karşı konak yanıtında bozulma saptanmıştır (31). LPS, TLR4 tarafından tanınan *E. coli* gibi gram negatif bakterilerin dış zarının önemli bileşenidir; ancak HMGB1, HSP, hyaluronik asit, fibronektin ve fibrinojen de TLR4 tarafından tanınır (32, 33). Bir prelinik çalışma, TLR4'ün önceden uyarılması, murin mikroglial hücreleri tarafından *E. coli* suşlarının fagositozunu arttırdığını gösterdi (34). Benzer şekilde, *E. coli*'nin neden olduğu beyin apsesi gelişen ikiz bir çift yenidoğan hastada, bir TLR4 gen mutasyonu tespit edildi (35). *S. pneumoniae* tarafından üretilen önemli ekzotoksin pnömölizin TLR4 tarafından tanınır ve pnömokok enfeksiyonuna direnç sağlar (36). Gram pozitif ve gram negatif bakterilerin flagellin proteini TLR5 tarafından tanınır (37). *E. coli*, *S. pneumoniae* ve *N. meningitidis* TLR4 tarafından tanınır ve MyD88, TIRAP, TRIF, TRAM gibi adaptor proteinler aracılığı ile güçlü bir immünolojik yanıt başlar. Hızlı ve güçlü başlayan bu immünolojik yanıt *N. meningitidis*, *S. pneumoniae* ve *E. coli* fatal olabilen septik şoka yol açabilir (38, 39). TLR'lere bağlanan, MyD88 adaptör molekülü, IRAK-1 ve IRAK-2'yi fosforile eden bir serin/treonin kinaz olan IL-1 reseptörü ile ilişkili kinaz-4 (IRAK-4) ile birleşir (40). TLR2 ve TLR4 sinyalleşmesinde, MyD88'in TLR'lere bağlanması için başka bir adaptör olan TIRAP (TIR alanı içeren adaptör proteini) gereklidir. TIRAP, fosfatidilinositol 4, 5-bifosfata (PIP2) bağlı şekilde plazma zarına yerleşir ve bu bağlanma MyD88 ile TLR bağlanmasını güçlendirir. MyD88, IRAK-4, IRAK-1 ve TRAF6'nın sıralı aktivasyonunu başlatır. UBC13 ve UEV1A'dan oluşan bir ubiquitinasyon E2 enzim kompleksi ile birlikte, TRAF6, kendi üzerinde ve IKK-g/NF- κ B esansiyel modülatöründe (NEMO) K63'e bağlı bir poliubikitin zincirinin oluşumunu katalize

eder (41). TRAF6 ayrıca IKK-b ve MAP kinaz kinaz 6'yı fosforile eden TGF-b ile aktive olan kinaz 1'i (TAK1) aktive eder; bunlar da inflamatuvar yanıtlarda yer alan genleri indükleyen NF-kB ve MAP kinazların aktivasyonunu düzenler (20).

Uluslararası İmmünoloji Dernekler Birliği'nin (UİDB) 2022 yılında yayınladığı raporla birlikte PİY'e neden olan genetik defektlerin sayısı 485'e yükselmiş olup 10 başlık altında incelenmektedir. UİDB'nin 2022 yılı PİY sınıflaması Tablo 2.1' de sunulmuştur. Doğal immün sistemi etkileyen genetik defektler de mevcuttur ve bu sınıflama içinde altıncı başlık altında incelenmektedir (42).

Tablo 2.1. Uluslararası immünoloji dernekler birliği 2022 primer immün yetmezlik sınıflaması (42)

-
1. Hücresel ve Humoral İmmüniteyi Etkileyen İmmün Yetmezlikler
 2. Sendromik ve Ek Özelliklere Sahip Kombine İmmün Yetmezlikler
 3. Baskın Olarak Antikor Eksiklikleri
 4. İmmün Disregülasyon Hastalıkları
 5. Fagositer Sistem Sayı ve/veya Fonksiyon Bozuklukları
 6. Yapısal ve Doğal İmmünite Bozuklukları
 7. Otoinflamatuvar hastalıklar
 8. Kompleman Eksiklikleri
 9. Kemik İliği Yetmezlikleri
 10. PİY Fenokopileri (Somatik mutasyonlar, otoantikorlarla kazanılmış bozukluklar)
-

Yapısal ve doğal immün sistem bozuklukları ile ilgili hastalıklar Tablo 2.2'de gösterilmiştir (42). Biz özellikle piyojenik bakteriyel enfeksiyonlara neden olabileceği için doğal immün sistemi etkileyen IRAK-4 ve MyD88 iki geni çalışmamızda inceledik.

Tablo 2.2. Yapısal ve doğal immün sistem bozuklukları ile ilgili hastalıklar (42)

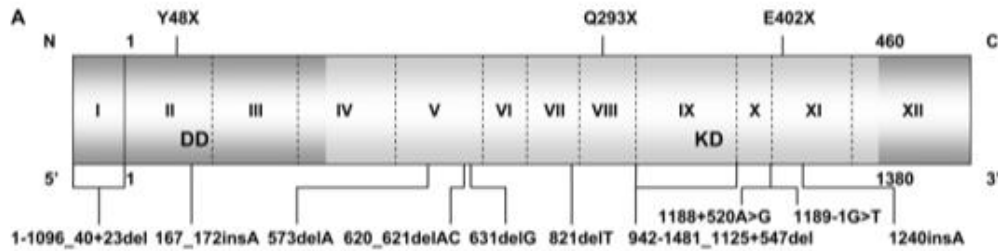
Yapısal ve Doğal İmmünite Bozuklukları	
Viral enfeksiyonlara yatkınlık oluşturan	Bakteriyel, fungal ve parazitik enfeksiyonlara yatkınlık oluşturan
<p>a. Herpes simpleks ensefalitine yatkınlık oluşturan: UNC93B1 eksikliği TRAF3 eksikliği TICAM1 eksikliği TBK1 eksikliği IRF3 eksikliği SNORA31 eksikliği TLR3 eksikliği DBR1 eksikliği ATG4A eksikliği</p> <p>b. HPV enfeksiyonuna yatkınlık oluşturan: EVER1 eksikliği EVER2 eksikliği CIB1 eksikliği WHIM (siğil, hipogammaglobülinemi, enfeksiyonlar, myelokatezis) sendromu RHOH eksikliği</p> <p>c. Ağır viral enfeksiyonlara yatkınlık oluşturan: STAT1 eksikliği STAT2 eksikliği MDA5 eksikliği IFNAR1 eksikliği IFNAR2 eksikliği RNA polimeraz 3 eksikliği IRF 7 eksikliği IRF 9 eksikliği IL18BP eksikliği ZNFX1 eksikliği CD16 eksikliği Ağır COVID-19 (TLR7, TLR3, UNC93B1, TICAM1, TBK1, IRF3,IRF7, IFNAR1, IFNAR2) CD16 eksikliği CD28 eksikliği NOS2 eksikliği</p>	<p>a. Piyojenik bakteriyel enfeksiyonlara yatkınlık (özellikle <i>S. pneumoniae</i> ve <i>S. aureus</i>): IRAK- 4 eksikliği MyD 88 eksikliği İzole konjenital aspleni -RPSA eksikliği -HMOX eksikliği IRAK-1 eksikliği TIRAP eksikliği</p> <p>b. Parazitik ve fungal enfeksiyonlara yatkınlık: Kronik mukokütanöz kandidiyazise yatkınlık: STAT 1 (GOF) eksikliği IL17RA eksikliği IL17RC eksikliği IL17RF eksikliği ACT1 eksikliği JNK1 haployetmezliği CARD9 eksikliği Tripanozomiyazis (APOL1 eksikliği)</p> <p>c. Mikobakteriyel hastalıklara Mendeliyen duyarlılık:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Ağır fenotipler Komplet IFNGR1 ve IFNGR2 eksikliği IFNG eksikliği • Orta şiddette fenotipler (Salmonella yatkınlığı da olanlar) IL12 ve IL23 reseptör b1 zincir eksikliği IL12p40 (IL12 ve IL23) eksikliği IL12Rb2 eksikliği IL23R eksikliği STAT1 (LOF) eksikliği Parsiyel IFNγ1 eksikliği Parsiyel IFNγ2 eksikliği OD IFNGR1 eksikliği SPPL2a eksikliği Tyk2 eksikliği Makrofaj gp91 phox eksikliği IRF8 eksikliği ISG15 eksikliği IRF8 eksikliği RORYt eksikliği JAK1 (LOF) eksikliği T-bet eksikliği <p>d. Diğerleri: Hidradenitis süpurativa BAS eksikliğine bağlı akut karaciğer yetmezliği RANBP2 eksikliğine bağlı akut nekrotizan ensefalopati IRF4 haplo yetmezliği</p>

MyD88 veya IRAK-4 eksikliği olan hastaların %68'i invaziv pnömokok hastalığı ve %45'i menenjit ile başvurduğu bilinmektedir (9, 10). IRAK-4 ve MyD88 eksikliği olan hastalar bebeklik ve erken çocukluk döneminde tekrarlayan hayatı tehdit eden bakteriyel enfeksiyonlara yatkın hale gelirler ve invaziv bakteriyel enfeksiyona rağmen klinik belirtileri azdır (43, 44). Bununla birlikte, MyD88 eksikliği şiddetli

bakteriyemi ile ilişkili bulunduğunu bildiren çalışmalar mevcuttur (45). Benzer şekilde, MyD88 eksikliği olan fareler neonatal *E. coli* menenjitisi kontrol altına alamadıkları bir çalışmada gösterildi. Bir diğer çalışmada MyD88 ve IRAK-4 eksikliği olan hastalardan elde edilen kan lökositleri, TLR ve IL-1R agonistleri ile uyarıldıklarında uygun immün yanıt vermedikleri görülmüştür. Bu durum MyD88'in erken konak savunmasındaki kritik rolünü göstermektedir (46).

2.5. IRAK-4 eksikliği

İlk olarak 2003'te tanımlanan IRAK-4 eksikliği (OMIM 607676), otozomal resesif geçişli genetik bir hastalıktır. Şekil 2.4'te günümüze kadar tanımlanan IRAK-4 gen mutasyonları gösterilmiştir (46).



Şekil 2.4. Tanımlanan tüm mutasyonlarla birlikte IRAK4'ün şematik gösterimi. IRAK-4 geni ekzon 1 ve ekzon 12'nin bir kısmı kodlamayan olmak üzere 12 ekzondan oluşur. N-terminal ölü alanı (DD) ve C-terminal kinaz alanı (KD) açık gri renkte gösterilmiştir (45).

IRAK-4 ve MyD88 eksiklikleri, interlökin 1 reseptörü ve TLR sinyal iletimini bozarak invaziv bakteriyel enfeksiyonlara karşı artan duyarlılığa yol açar. Yapılan fonksiyonel çalışmalarda TLR ve IL-1R agonistlerinin çoğu ile aktivasyonun ardından tam kanda IL-6 üretiminde eksiklik ve granülositlerden CD62L salınımında bozukluk gözlenir. Bugüne kadar tanımlanmış 32 akrabadan 49 hasta tanımlanmıştır. IRAK-4 eksikliği olan hastalar, iki önemli istisna dışında, rutin immünolojik araştırmalarda gösterildiği gibi, antijene özgü T ve B hücre yanıtları normaldir (47). İlk olarak, pnömokok ve AB glikanlarına (ABO sisteminin allohemagglutinini) glikan spesifik IgG ve IgM antikor yanıtları, araştırılan vakaların üçte birine yakınında bozuktur. İkincisi, serum IgE ve IgG4 konsantrasyonları, test edilen hastaların bir kısmında

yüksektir. IRAK-4 eksikliği olan hastalarda, çoğunlukla *S. pneumoniae*, *S. aureus* ve *P. aeruginosa* olmak üzere piyojenik bakterilerin neden olduğu tekrarlayan enfeksiyonlar görülür ve bu hastalarda çok az ateş veya inflamatuvar yanıt ortaya çıkar (9). Kanıtlanmış invaziv enfeksiyon vakalarının (sepsis, menenjit, abse veya artrit) yarısında enfeksiyonlardan sorumlu patojen, *S. pneumoniae* iken, vakaların %14'ünde *S. aureus* ve %19'unda *P. aeruginosa* idi. Ayrıca IRAK-4 eksikliği olan hastalarda, çoğunlukla deriyi ve üst solunum yollarını etkileyen, özellikle nekrotizan seyreden, invaziv olmayan piyojenik bakteriyel enfeksiyonlar da görülür. IRAK-4 eksikliği olan hastalarda invaziv olmayan enfeksiyonlarda hastaların %43'ünde etken *S. aureus*, %22'sinde *P. aeruginosa* ve %16'sında *S. pneumoniae*'dir. Ani gelişen bu invaziv enfeksiyonlar 14 yaşından küçüklerde bildirilmiştir. IRAK 4 eksikliği hayatı tehdit eden, 49 hastanın 20'sinde ölüm ile sonuçlanan bir hastalıktır. Ölen vakaların hepsi 8 yaşından küçüktü. Bu ölen hastaların 11'i invaziv pnömokok hastalığından kaybedildi. 18 ila 37 yaşları arasında tedavi görmeyen yedi yetişkin hastada görüldüğü gibi, yaş ilerledikçe iyileşme yönünde genel bir eğilim vardır (9, 10).

Konjenital nütropeni, lökosit adezyon eksikliği ve kronik granümatöz hastalık dahil olmak üzere fagosit kusurlarını içeren çoğu PİY hastalarında, *P. aeruginosa* ve *S. aureus*'un neden olduğu ciddi enfeksiyonlar görülebilir fakat bu hastalıklarda özellikle invaziv pnömokokkal hastalığa yatkınlık gözlenmez (9). Tekrarlayan piyojenik enfeksiyon ve zayıf inflamatuvar yanıtlarla başvuran çocuklarda IRAK-4 eksikliği tanısı düşünülmelidir

Bazı IRAK-4 eksikliği olan hastalarda (n=10) göbek kordonunun geç düşmesi ve/veya omfalit vardı. Göbek kordonunun geç düşmesi ve/veya omfalit ile ilişkilendirilmiş lökosit adezyon defekti tip 1 ve Rac2 eksikliği gibi hastalıklarda klasik olarak görülen dolaşımdaki çok yüksek nötrofil seviyeleri ve periferik dokularda püy yokluğu IRAK-4 eksikliği olan hastalarda gözlenmemektedir. Buna karşın, IRAK-4- ve MyD88-eksikliği olan hastalarda, belki de IL-8 üretiminin eksikliğine ikincil olarak, enfeksiyonun başlangıcından itibaren polimorfonükleer nötrofil mobilizasyonunda bozulma ve/veya belirgin nütropeni meydana gelir. Bu nütropeniye rağmen, IRAK-4- ve MyD88-eksikliği olan hastalarda püy oluşumu normaldir. Göbek kordonunun düşme mekanizması kesin olarak bilinmemektedir, ancak MyD88- ve IRAK-4'e bağlı sinyallerin yanı sıra CD18 ekspres eden lökositlere

de gerek vardır. Tersine, kronik granüloamatöz hastalık gibi çeşitli fagosit kusurları olan hastalardan farklı olarak, IRAK-4 ve MyD88 eksikliği olan hastaların hiçbirinde inflamatuvar barsak hastalığı gözlenen hasta olmadı (9).

Yeni doğan farelerde neonatal bakteriyel sepsis üzerine yapılan son çalışmalar, yaşla birlikte giderek azalan doğal immün sisteme yaşamın erken döneminde güvenilir olduğunu göstermektedir. Alternatif bir tamamlayıcı hipotez ise, doğuştan gelen bağışıklık yanıtının da yaşla birlikte olgunlaşabileceğidir. RIG-I benzeri helikazlar ve NOD benzeri reseptörler gibi diğer sensörler, kademeli olarak kompanzatuvar bir rol oynayabilir. Özellikle TLR yanıtları dahil olmak üzere TIR yolu, yaşla birlikte IRAK-4/MyD88'e bağımlı kalır, ancak diğer yolların olgunlaşması, TIR sinyali eksikliğini kademeli olarak telafi edebilir (9).

IRAK-4 ve MyD88 eksikliklerinin prognozunun bebeklik ve erken çocukluk döneminde şiddetli olduğunu, ancak ergenlikte önemli ölçüde düzeldiğini gösteren çalışmalar mevcuttur. IL-12p40 ve IL-12R β 1 eksiklikleri olan çocuklarda da benzer ancak daha az çarpıcı olarak yaşla kendiliğinden iyileşme bildirilmiştir (9, 47, 48).

2.6. MyD88 Eksikliği

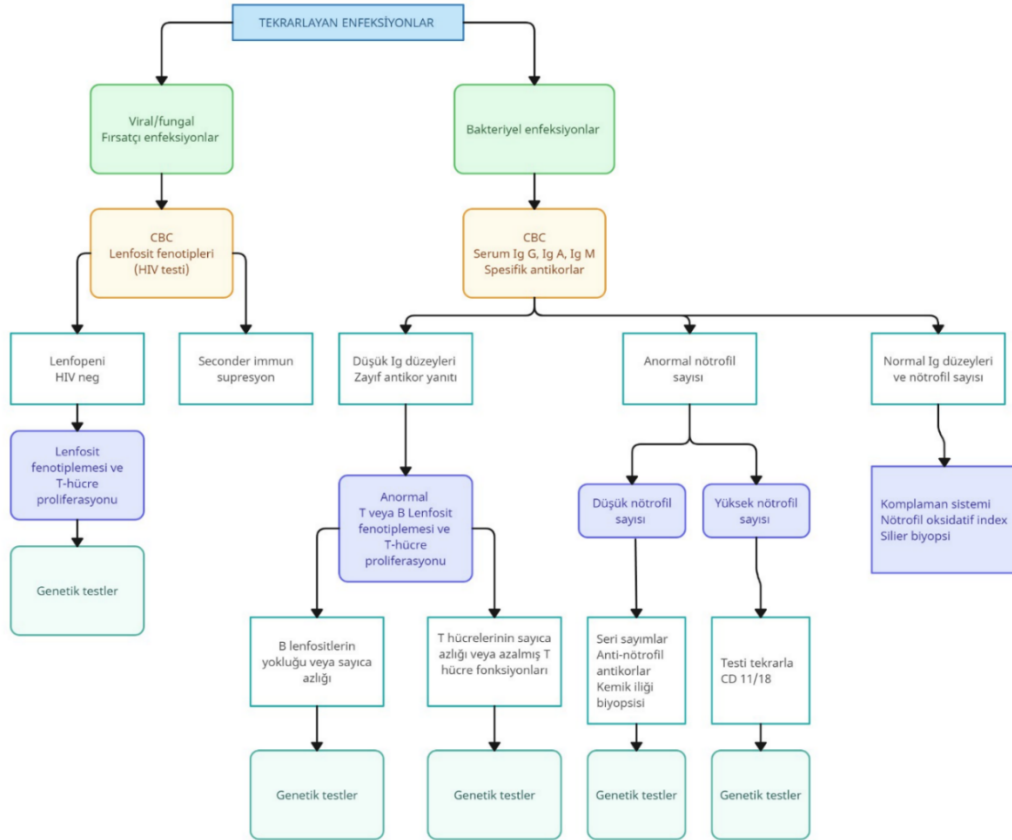
MyD88 eksikliği OR geçişli bir immün yetmezliktir. MyD88 eksikliği olan hastalar, MyD88'den bağımsız bir yoldan sinyal veren TLR3 hariç, test edilen TLR ve IL-1R agonistlerinin çoğu ile aktivasyonun ardından tam kanda IL-6 üretiminde eksiklik ve granülositlerden CD62L salınımında bozukluk gözlenir (49). Bu nedenle MyD88 eksikliği olan hastalarda lökosit gelişiminde belirgin bir kusur yok gibi görünmektedir ve çoğu vakada rutin immünolojik analizlerde gösterildiği gibi antijene özgü T ve B hücre yanıtları normaldir (10). Hastaların yarısında serum IgE ve üçte birinde IgG4 konsantrasyonları yüksektir (9). Bazı hastalarda karbonhidrat antijenlere karşı düşük seviyelerde antikor üretimi gibi gözlemlenen B-hücre yanıtlarının bazı hafif, subklinik anormallikleri, bozulmuş TLR ve IL-1R yanıtlarından ziyade bozulmuş TACI yanıtlarını yansıtabilir. IRAK-4 eksikliği gibi MyD88 eksikliğinde de, plazma C-reaktif protein (CRP) konsantrasyonunda artış ve enfeksiyonun başlangıcında yüksek ateş olmadan ciddi bakteriyel enfeksiyona yatkınlık gözlenir. Bununla birlikte, çeşitli enfeksiyon bölgelerinde püye oluşumu gözlenmiştir. MyD88 eksikliği olan hastalar, invaziv piyojenik bakteriyel enfeksiyonlara karşı duyarlıdırlar

(10). MyD88 eksikliği olan hastalarda dökümente edilen invaziv atakların %41'inde *S. pneumoniae*, %20'sinde *S. aureus* ve %16'sında *P. aeruginosa* gösterilmiştir. MyD88 eksikliği olan hastaların çoğu, ilk bakteriyel enfeksiyonu iki yaşından önce geçirmiştir. İnvaziv bakteriyel enfeksiyondan kaybedilen dokuz hastanın tümü dört yaşından küçükken, çoğu bir yaşından küçüktü (10). Bu dokuz hastanın yedisi invaziv pnömokok hastalığından kaybedildi. Bununla birlikte, MyD88 eksikliği olan hastalar yaşla birlikte düzeliyor gibi görünmektedir ve hastaların ergenlikten sonra invaziv bakteriyel enfeksiyon geçirmediği gözlemlenmiştir (9). MyD88 eksikliği olan hastalarda ayrıca, çoğunlukla cildi ve üst solunum yollarını etkileyen, invaziv olmayan piyojenik bakteriyel enfeksiyonlara yatkınlık görülür. İnvaziv olmayan enfeksiyon etkenlerini, hastaların %53'ünde *S. aureus*, hastaların %20'sinde *S. pneumoniae* ve hastaların %13'ünde *P. aeruginosa* oluşturmakta idi. MyD88 eksikliği olan hastaların çoğu, invaziv olmayan bakteriyel enfeksiyon geçirirler ve hastaların yarısı, ilk invaziv olmayan bakteriyel enfeksiyonu 2 yaşından önce geçirirler. MyD88 eksikliği olan hastalar, ergenlikten sonra bile cilt enfeksiyonları, sinüzit veya pnömoni geçirmeye devam ederler. Zayıf inflamatuvar yanıtları olan tekrarlayan piyojenik enfeksiyon ile başvuran çocuklarda MyD88 eksikliği tanısı düşünülmelidir (50).

2.7. IRAK-4 ve MyD Eksikliğinde Tanı

Tekrarlayan bakteriyel enfeksiyonu olan hastalar PİY açısından tetkik edilmelidir. Bu hastalar Şekil 2.5' te gösterilen algoritmaya göre adım adım incelenir. Öncelikle birinci basamak PİY testleri olarak tam kan sayımı, mutlak nötrofil sayısı, mutlak lenfosit sayısı, serum IgG, IgM, IgA ve total IgE, aşı antikor yanıtları, izohemaglutininin titreleri, serum kompleman düzeyleri bakılır. IRAK-4 ve MyD88 eksikliklerinde birinci basamak testleri normal olabilir. Bu hastalarda fonksiyonel testler planlanır. TLR yollarındaki IRAK-4 ve MyD88'deki fonksiyonel kusurları tespit eden CD62 saçılım (shedding) testi adında fonksiyonel testler yapılır. Bu test, TLR yolunun uyarılmasından önce ve sonra nötrofillerin yüzeyinden saçılan L-Selectin (CD62L) miktarını ölçmek için kullanılır. Test, IRAK-4, MyD88 eksikliği gibi TLR sinyal yollarında kusurları olan hastaların belirlenmesine yardımcı olabilir. Ancak bu fonksiyonel testler her zaman doğru sonuç vermeyebilir. Doğru sonuçlansa bile tüm yapılan testlerin normal olması IRAK-4 ve MyD88 eksikliği tanısını ekarte

ettirmez. Doğal immün sistem eksikliklerinin tanısı diğer nedenlerin ekartasyonuna dayanır. Bu nedenle SANGER dizileme ve tüm ekzom dizileme yöntemi gibi genetik testlere gerek duyulur (49,51).



Şekil 2.5. Tekrarlayan enfeksiyonlarla ortaya çıkan immün yetmezliklerin değerlendirilmesi (51)

2.8. Tedavi ve Korunma

IRAK-4 eksikliği olan hastalar *S. pneumoniae*, *H. influenzae*, *N. meningitidis* ile invaziv bakteriyel enfeksiyonlara yatkın oldukları için bu hastalıklardan korunmak için *S. pneumoniae*, *H. influenzae*, *N. meningitidis* konjuge aşılı (ve temin edildiğinde konjuge olmayan aşılı) ile aşılanmalıdır. Hastalara yaşam boyu bu bakteriler ile gelişebilecek enfeksiyonlardan korunmak için kotrimoksazol veya penisilin V ile antibiyotik profilaksisi önerilmelidir. Çocukluk döneminde bakteriyel enfeksiyonun şiddeti ve IRAK-4 eksikliği olan bazı hastalarda antikor üretiminin kusurlu olması göz önüne alındığında, hastalara en az 10 yaşına gelene kadar ampirik

IgG replasmanı yapılması önerilmektedir. Bu profilaksinın, invaziv bakteriyel enfeksiyonların insidansını azalttığına dair görüşler mevcuttur (9, 50). *S. pneumoniae*, *S. aureus* ve *P. aeruginosa*' ya karşı bir enfeksiyondan şüphelenildiği anda veya hastanın orta dereceli ateşi varsa, inflamatuvar parametreler dikkate alınmadan ampirik parenteral antibiyotik tedavisine hızlıca başlanması önemlidir. Çünkü hastalar uygun antibiyotik profilaksisine rağmen hızlı invaziv bakteriyel enfeksiyonlardan kaybedilebilir (50).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Olguların Seçimi ve Araştırmaya Dahil Edilmesi

Yapılan araştırma klinik vaka araştırmasıdır. Araştırmaya Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Çocuk Enfeksiyon Bölümünde toplum kökenli *Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* ile invaziv bakteriyel enfeksiyon (İBE) tanısı alıp yatırılarak izlenen 15 hasta dahil edildi. Teknik nedenlerden dolayı on hastanın DNA izolasyonu yapılabildiği için bu hastalarda MyD88 geninde mutasyon çalışılabildi. İBE, normalde steril bir alandan (kan, beyin omurilik sıvısı, sinovyal sıvı, plevra sıvısı) *S. pneumoniae* ve *S. aureus* kültürde üreme veya polimerz zincir reaksiyonu ile bakteri DNA izolasyonu ile teyit edilen, hastaneye yatış gerektiren bir enfeksiyon olarak tanımlandı. Toplum kökenli enfeksiyon hastaneye yatışta veya yatışın ilk 48 saatinde steril alanlardan alınan alınan kültürde *S. pneumoniae*, *S. aureus* üreme olması olarak tanımlandı. Araştırma için tüm gönüllü ebeveyn ve/veya çocuklardan “Klinik Araştırma İçin Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu” alındı. Araştırma için 16969557-1024 sayılı Hacettepe Üniversitesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu onayı alındı. Hacettepe Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Birimi tarafından 10.08.2021 tarihinde TYL-2021-19330 numaralı proje olarak desteklendi.

Araştırmaya Dahil Edilme Kriterleri

- 1-0-18 yaş arasındaki çocuk hastalar,
- 2-Herhangi bir steril alandan (kan, beyin omurilik sıvısı, pleural sıvı, eklem sıvısı)
- S. pneumoniae* ve *S. aureus* izole edilen hastalar,
- 3-Toplum kökenli *S. pneumoniae* ve *S. aureus* ile İBE geçiren hastalar çalışmaya dahil edildi.

Araştırmaya Dahil Edilmeme Kriterleri

- 1- 18 yaşından büyük hastalar,
- 2- Steril olmayan alandan *S. pneumoniae* ve *S. aureus* üreyen hastalar,
- 3- Daha önceden primer veya sekonder immün yetmezlik tanısı alan hastalar,

- 4- Herhangi bir kronik hastalık nedeniyle takip edilen hastalar,
- 5- Herhangi bir hastalık nedeniyle sürekli ilaç kullanan hastalar,
- 6- Nozokomiyal *S. pneumonia* ve *S. aureus* ile invaziv bakteriyel enfeksiyon geçiren hastalar araştırma dışı bırakılmıştır.

(Nozokomiyal enfeksiyon hastaneye yatıştan 48 saat sonra steril alanlarda üreme olması olarak tanımlandı.)

Hastaların yaşı, cinsiyeti, şikâyeti, hikâyesi, öz geçmişi, aşı öyküsü, soy geçmişi (anne-baba akrabalık durumu, enfeksiyon nedeniyle kayıp öyküsü), fizik muayene bulguları ve klinik izlem bilgileri kaydedildi. Hastalara aspleni değerlendirilmesi için abdominal ultrasonografi çekildi ve sonuçları kaydedildi.

3.2. Hastalardan Kan Örneklerinin Alınması ve Analizlerinin Gerçekleştirilmesi

Tam kan sayımı ve periferik yayma (mutlak nötrofil, lenfosit, eozinofil ve monosit düzeyleri), serum kantitatif immünglobulin (Ig) düzeyleri, Ig G alt grupları, kompleman hemolitik aktivitesi, pnömokok ve tetanoz antikor yanıtları, anti HBs, izohemaglutinin düzeyleri ve lenfosit altgrupları için kan örnekleri alındı ve sonuçları kaydedildi. Hastalardan rutin kan örnekleri alınırken IRAK-4 ve MyD88 gen analizi için ek hemogram tüpüne 2 cc kan örneği alındı ve buzdolabında +4° C' de saklandı. Lenfosit alt grupları rutin flow sitometri ile belirlendi. IgM, IgA, IgG, IgG alt sınıfları ve total Ig E serum seviyeleri, standart nefelometri teknikleriyle değerlendirildi. Çoklu pnömokokal serotiplere (23 serotip) karşı toplam IgG antikor seviyeleri, tetanoz toksoidine ve Hepatit B antijenine karşı IgG seviyeleri, standart ELISA teknikleri ile değerlendirildi. Kompleman hemolitik aktivite testi, enzime bağlı immünosorbent testi (ELISA; Wielisa-kit, Lund, İsveç) veya nefelometri (Dade Behring, Paris La Defense, Fransa) kullanılarak standart tekniklerle gerçekleştirildi.

3.3. DNA İzolasyonu

DNA izolasyonu, aydınlatılmış onam alınan hastaların kan örneklerinden üretici firmanın protokolü doğrultusunda gerçekleştirilmiştir. Tüm hastalardan EDTA'lı tüpler içerisinde 5 cc kan örneği alınmıştır. DNA izolasyonu QIAGEN EZ1 DNA Blood 200µL KİT kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Kit protokolüne göre, 2

ml'lik örnek tüpleri içine 200 µL kan pipetlenir. Kan örnekleri, pipetlemeden önce iyice yeniden süspanse edilmelidir. Uygun EZ1 DNA Kan Kartuşları, DNA izolasyon kart yuvasına yerleştirilir. 1,5 ml'lik DNA elüsyon tüpleri kapakları açılarak cihazda bulunan uygun yerlerine konur. Filtre uçlarını içeren uç tutucular yerleştirilir. EZ1 cihazı çalıştırılarak "Protocols" menüsünden uygun protokol seçilerek "START" tuşuna basılır. DNA izolasyonu yaklaşık 18 dakika sürmektedir. Saflaştırılmış DNA'yı içeren elüsyon tüpleri, IRAK-4 gen analizi yapılana kadar -20° C derecede saklanmıştır.

3.4. IRAK-4 ve MyD88 Gen Analizi

IRAK-4 geni 8 exonu olan bir gendir. MyD88 geni beş exonlu bir gendir. Hastalardan izole edilen DNA örnekleri PZR amplifikasyonu ile çoğaltıldı. Amplifikasyon için aşağıdaki malzemeler kullanıldı (Tablo 3).

Tablo 3.1. PZR protokolünde kullanılan malzemeler

Forward primer	1 µl
Reverse primer	1 µl
DNA	1 µl
Taq buffer	2,5 µl
MgCl	2,5 µl
dNTP	0,2 µl
Taq polimeraz	0,3 µl
Distile su	16,5 µl

Her ekzon için yukardaki malzemeler 25 µl olacak şekilde tüp içine konuldu. Tüm tüplere önce forward ve reverse primerler konulup ependorf tüp sayısı kadar hazırlandı. Amplifikasyon sonrası küçük kutucuklara 2 µl mavi boya, 2 µl PZR ürünü konulup agaroz jelle yüklendi. Agaroz jelle yürütülme sonucunda pürifikasyon işlemi için Zymo Research kiti kullanıldı. Her PZR ürünü için kit içinde olan bir ependorf tüpü çıkarıldı ve üzerine siyah kolonlardan takıldı. PZR ürünlerinin içine 240 µl Sequencing Binding Buffer eklendi. İçindekiler siyah kolonlara aktarıldı. 10 000 rpm'de 30 sn. santrifüj edildi. Santrifüj sonrası içlerine 300 µl `Wash Buffer` eklendi.

Tekrar santrifüj edildi. Santrifüjdeki siyah kolonlar çıkarılan yeni ependorfa aktarıldı üzerine 21 µl distile su eklenip santrifüj edildi. Siyah kolonlar çıkarılarak ependorfta kalan ürünler Applied biosystems 3130 genetic analizer marka cihaza yüklendi. Analizler Chromas version 2.6.6 programda yapıldı.

3.5. Sonuçların Analizi ve Değerlendirilmesi

Tüm istatistiksel analizler SPSS 28.0 yazılımı kullanılarak yapıldı. Değerlendirme sonuçlarının tanımlayıcı istatistikleri; kategorik değişkenler için sayı (n) ve yüzde (%) olarak verildi. Kolmogorov-Smirnov ve/veya Shapiro-Wilk tesleri kullanılarak verilerin normal olarak dağılım gösterip göstermediği hesaplandı. Bu testlerden elde edilecek bulgulara dayanarak parametrik ve parametrik olmayan analizler yapıldı. Veriler normal dağılıyorsa ortalama \pm SD, normal dağılmıyorsa ortanca ve çeyrekler arası aralık verildi. Normal dağılmayan çok uç değerler için ortanca ve minimum-maksimum değerler kullanıldı. İkili gruplar arasında normal dağılıma uymayan diğer verilerin analizinde Mann Whitney U testi kullanıldı. $p < 0,05$ olanlar anlamlı olarak kabul edildi.

4. BULGULAR

Çalışmaya KTÜ Tıp Fakültesi Çocuk Enfeksiyon Servisinde izlenen toplum kökenli *Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* ile invaziv bakteriyel enfeksiyon (İBE) tanısı alıp yatırılarak izlenen 15 hasta dahil edildi. Çalışma döneminde toplum kökenli *Pseudomonas aeruginosa* ile İBE geçiren hasta olmadığı için çalışmaya alınmadı. Hastaların anne baba arasında akrabalık yoktu.

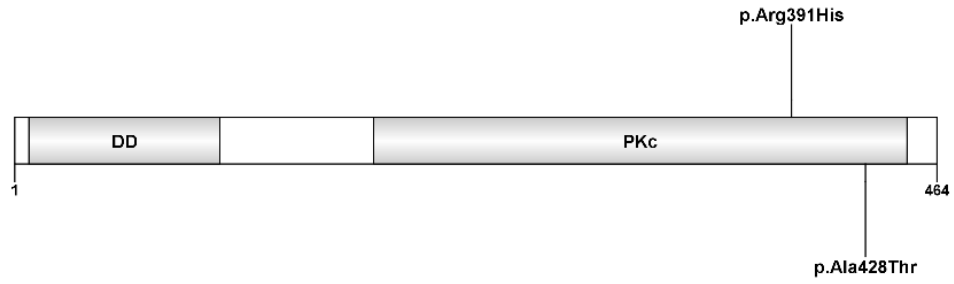
Çalışmaya dahil edilen hastaların yedisi (% 46,7) kız, sekizi (% 53,3) erkekti. Hastaların ortanca yaş değeri 48 ay (min-maks:2,5-130 ay) idi. Hastaların altısı (% 40) komplike paraprnömonik efüzyon, dördü (% 26,7) septik artrit, biri (% 6,7) akut bakteriyel menenjit, dördü (% 26,7) kan akımı enfeksiyonu idi. İzole edilen etkenlerin 10' u (%66,7) *S. pneumoniae*, beşi (%33,3) *S. aureus* idi. Etkenler ve hastalıklar Tablo 4.1'de gösterilmiştir. Hastaların %93.3 ü sekiz yaşından küçüktü. En büyük hastamız 130 aylık idi.

Çalışmaya dahil edilen hastaların yedisinde IRAK-4 geninde heterozigot varyant tespit edildi, Hastaların dördünde c.1282 G>A heterozigot, rs4251545 ekzon 11 Ala428Thr, üçünde c.1172 G>A heterozigot rs55944915 ekzon 10 Arg391His saptandı. Genetik analizler sonucu bu varyantların polimorfizm olduğuna karar verildi. MyD88 geninde varyant saptanmadı.

IRAK-4 geni üzerinde cDNA gösterimi ve varyantlar Şekil 4.1'de, IRAK-4 protein domainleri ve varyantlar Şekil 4.2' de gösterilmiştir. Şekil 4.3' te varyant saptanan hastaların elektroferogram görüntüleri gösterilmiştir.

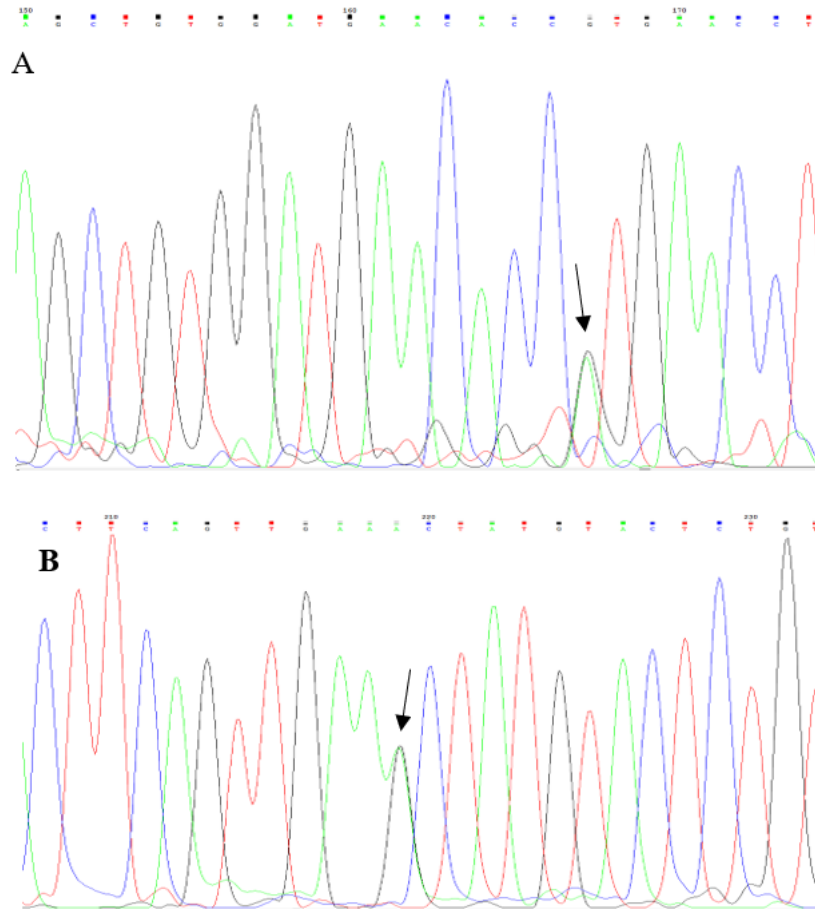


Şekil 4.1. IRAK-4 geni cDNA gösterimi ve varyantların gösterilmesi (NM_016123.4)



Şekil 4.2. IRAK4 protein domainleri ve varyantların gösterilmesi (NM_016123.4)

(DD: N-terminal death domain, PKc: central kinase domain)



Şekil 4.3. A-c.1172 G>A heterozigot rs55944915 ekzon 10 Arg391His elektroferogram görüntüsü, B- c.1282 G>A heterozigot, rs4251545 ekzon 11 Ala428Thr elektroferogram görüntüsü

Tablo 4.1. İnvazif bakteriyel enfeksiyonlar ve etken mikroorganizmaların dağılımı

	<i>S. pneumonia</i> Sayı (Yüzde)	<i>S. aureus</i> Sayı (Yüzde)
Akut bakteriyel menenjit	1 (6,7)	0
Komplike parapnömonik efüzyon	6 (40)	0
Septik artrit	0	4 (26,7)
Kan akımı enfeksiyonu	3 (20)	1 (6,7)

İmmünolojik araştırmalar

Çalışmamızda ise bir hastamızın IgG düzeyi yaşına göre düşüktü. Hasta grubumuzda beş hastada Ig E düzeyi yüksekti. IgE düzeyleri IRAK-4 geninde heterozigot varyant saptanan hastaların üçünde yüksekti. *Staphylococcus aureus* ile kan akımı enfeksiyonu olan bir hastada Ig E düzeyi 5552 idi. Bu hastada IRAK-4 mutasyonu yoktu. Ancak STAT3 ve DOCK8 eksikliği için takip edildi. Takibinde IgE düzeyi geriledi ve STAT3 ve DOCK8 tanıları dışlandı. Diğer Ig E yüksekliği olan hastalardaki Ig E düzeyi STAT3 ve DOCK8 düşündürecek kadar yüksek değildi. IRAK-4 heterozigot variant olan ve olmayan grup arasında serum Ig M (p=0,32), Ig G (p=0,2), Ig A (p=0,48) ve Total IgE (p=0,29) seviyeleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu. Hastaların Ig G alt grupları Ig G1, Ig G2, Ig G3, Ig G4 seviyeleri yaş gruplarına göre normaldi. IRAK-4 heterozigot varyant olan ve olmayan grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu (p=0,96, p=0,21, p=0,81, p=0,77).

Hastaların lenfosit alt grupları incelendiğinde CD 3, CD 4, CD 8, CD 16-56, CD 19-20, HLA-DR düzeyleri yaş gruplarına göre normaldi. IRAK-4 heterozigot varyant olan ve olmayan grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu (p=0,77, p=0,64, p=0,69, p=0,89, p=0,72, p=0,53).

Hastaların pnömokok ve Hepatit B aşılarına karşı Ig G antikor yanıtları normaldi. IRAK-4 heterozigot varyant olan ve olmayan grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu (p=0,95, p=0,56).

Hastaların CH50 düzeyleri normaldi. IRAK-4 heterozigot varyant olan ve olmayan grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu (p=0,74).

Tüm hastaların abdominal ultrasonografik incelemesinde dalak varlığı tespit edildi.

Hastaların hemogram ve immünolojik test sonuçları Tablo 4.2’ de gösterilmiştir. Hastaların dördünde ALS düşüktü, bu hastaların üçünde heterozigot IRAK-4 varyantı vardı. Tüm hastalara abdominal ultrasonografi çekildi ve hastaların tümünde dalak izlendi. İnvazif bakteriyel enfeksiyon geçiren hastaların yedisinde (% 46,7) IRAK 4 geninde heterozigot varyant tespit edildi. Tespit edilen varyantların dördü c.1282 G>A heterozigot, rs4251545 ekzon 11 Ala428Thr; üçü c.1172 G>A heterozigot rs55944915 ekzon 10 Arg391His idi. Varyant olan ve olmayan hastaların hemogram ve immünolojik test sonuçları karşılaştırmalı olarak Tablo 4.3’te gösterilmiştir.

Tablo 4.2. Hastaların hemogram ve immünolojik test sonuçları

	Ortanca (minimum-maksimum)	Normal değerler
Hemoglobin (g/dL)	10,8 (8,9-12,2)	11.33-14,56
Beyaz küre (10³/µL)	13,7 (4,8-32,83)	3,71-10,19
MLS (10³/µL)	1,960 (0,76-6,1)	1,2-3,6
MNS (10³/µL)	10,8(2,82-28,76)	1,91-7,08
Trombosit (10³/µL)	250 (138-597)	130-400
Ig G (g/L)	9,39 (1,94-12,2)	5,98-22,50
Ig G1 (g/L)	6,4 (1,8-10,2)	3,62-12,28
Ig G2 (g/L)	1,62 (0,95-4,2)	0,57-2,9
Ig G3 (g/L)	0,43 (0,09-1,2)	0,129-0,789
Ig G4 (g/L)	0,49 (0,06-6,06)	0,013-1,446
Ig M (g/L)	1,37(0,54-1,93)	0,2-2
Ig A (g/L)	1,2 (0,1-3,74)	0,38-4,21
Total Ig E (g/L)	36,7 (12,3-5552)	<100
CD3 %	64 (56-72)	58-74
CD3	4200(1260-7556)	1656-3841
CD4 %	36 (26-46)	28-47
CD4	2680 (564-4953)	871-2379
CD8%	24 (8,5-38)	16-32
CD8	1516 (392-3190)	518-1433
CD 16-56 %	14 (7-19,4)	3-19
CD16-56	844 (312-1648)	123-785
CD 19-20 %	18 (10-24,7)	13-31
CD19-20	1146 (352-2368)	421-1397
HLA DR%	12 (8-19,6)	-
HLA DR	864 (260-1660)	-
CH50	33,57 (13,80-122)	51-150
Anti-pnömonokok antikor	800,3(46,1-12733)	>250
Anti-HBs	98,95(2-474)	>10
Anti-Tetanoz antikor	0,59(0,13-2,69)	0,11-0,50

MLS: Mutlaklenfosit sayısı; MNS: Mutlak nötrofil sayısı; Ig: İmmüoglobülin; CH50: Hemolitik kompleman aktivite testi

Tablo 4.3. Hastaların hemogram ve immünolojik test sonuçlarının varyantın varlığına göre karşılaştırılması

	Varyant yok Ortanca(minimum-maksimum)	Varyant var Ortanca(minimum-maksimum)	p değeri
Hemoglobin (g/dL)	10,65 (8,9-12,2)	11,3(9,4-11,6)	0,64
Beyaz küre (10³/μL)	13,035 (4,8-32,83)	13,7(7,48-21,53)	0,65
MLS (10³/μL)	1,92(0,98-6,1)	2,1(0,76-2,54)	0,15
MNS (10³/μL)	9,43 (2,82-28,76)	10,8(4,2-20,04)	0,81
Trombosit (10³/μL)	261 (138-597)	232(184-401)	0,90
Ig G (g/L)	9,39 (1,94-12,2)	9,36(4,02-±14,49)	0,43
Ig G1 (g/L)	5,87(1,8-10,2)	6,4(2,89-8,6)	0,96
Ig G2 (g/L)	1,61(0,95-3,2)	2,4(1,2-4,2)	0,21
Ig G3 (g/L)	0,5(0,09-0,88)	0,4(0,14-1,2)	0,82
Ig G4 (g/L)	0,29(0,06-6,06)	0,83(0,08-2,4)	0,77
Ig M (g/L)	1,62(0,74-1,93)	1,2(0,54-1,63)	0,33
Ig A (g/L)	0,75(0,1-1,93)	1,61(0,29-3,74)	0,07
Total Ig E (g/L)	32,75(12,3-5552)	55,9(25-901,2)	0,29
CD3 %	64(58-72)	60(56-71,7)	0,52
CD3	4146 (2876-7556)	4656(1260-7120)	0,77
CD4 %	36,1(32-46)	36(26-41,5)	0,43
CD4	2598(1484-4953)	2884(564-3774)	0,64
CD8%	24(8,5-38)	22,8(18-27)	0,86
CD8	1338(560-3190)	1625(392-2316)	0,7
CD 16-56 %	13(7,60-18)	14(7-19,4)	0,92
CD16-56	847(586-1247)	700(312-1648)	0,90
CD 19-20 %	18,4(14-24,7)	18(10,1-24)	0,84
CD19-20	1228(782-2368)	1146(352-1950)	0,72
HLA DR%	12,2(8-16,5)	12(10,3-19,6)	0,33
HLA DR	866(468-1224)	864(260-1660)	0,53
Anti-pnömonokok antikor	700,69(46,1-12733)	803(135,65-1857,69)	0,95
Anti-HBs	27,07(2-474)	108,4(18,96-347,9)	0,56
Anti-Tetanoz antikor	0,16(0,13-0,21)	1,05(0,96-2,69)	0,58
CH50	25,37(13,8-122)	46,78(15,01-66,86)	0,75

MLS: Mutlak lenfosit sayısı; MNS: Mutlak nötrofil sayısı; Ig: İmmüoglobülin; CH50: Hemolitik kompleman aktivite testi; Ak: Antikor

Streptococcus pneumonia ile İBE geçiren 10 hastanın beşi (% 50) kız idi. Hastaların yaş ortancası 46 ay (min-maks:2,5-65 ay) idi. *Streptococcus pneumonia* ile

İBE geçiren hastaların biri akut bakteriyel menenjit (% 10), altısı (% 60) komplike paraprnömonik efüzyon, üçü (% 30) kan akımı enfeksiyonu geçirdi. Menenjit geçiren hasta ve kan akımı enfeksiyonu geçiren hastanın birinde üreyen *S. pneumonia* serogrup 19A idi. *Streptococcus pneumonia* ile İBE geçiren hastaların üçünde IRAK 4 (%30) geninde heterozigot varyant tespit edildi. Tespit edilen varyantların ikisi c.1282 G>A heterozigot, rs4251545 ekzon 11 Ala428Thr; biri c.1172 G>A heterozigot rs55944915 ekzon 10 Arg391His idi. Hastaların hiçbirinde MyD88 geninde mutasyon saptanmadı.

Staphylococcus aureus ile İBE geçiren hastaların ikisi (% 40) kız idi, hastaların yaş ortancası 96 ay (min-maks:3-130 ay) idi. *Staphylococcus aureus* ile İBE geçiren hastaların biri kan akımı enfeksiyonu (% 20), dördü (% 80) septik artrit idi. *Staphylococcus aureus* ile İBE geçiren hastaların dördünde (%80) IRAK 4 geninde heterozigot varyant (polimorfizm) tespit edildi. Saptanan varyantların ikisi c.1172 G>A heterozigot rs55944915 ekzon 10 Arg391His, diğer ikisi c.1282 G>A heterozigot, rs4251545 ekzon 11 Ala428Thr idi.

Hastaların tanısı, IRAK4 ve MyD88 varyant sonuçları Tablo 4.4' te gösterilmiştir.

Tablo 4.4. Hastaların tanısı, IRAK4 ve MyD88 gen varyant sonuçları

	Yaş (ay)	Tanı	IRAK4 Geni	MyD88 Geni
H1	48	S. pneumonia menenjitisi	c.1282 G>A HETEROZİGOT 12:44180295 rs4251545 ekzon 11 Ala428Thr Gnomad'a göre MAF:0,11 33052 kişide heterozigot;2405 kişide homozigot Clinvar:Benign, SIFT/Polyphen:Benign, Polimorfizm: mutation taster	Çalışılmadı
H2	2.5	S. pneumonia kan akımı enfeksiyonu	Varyant saptanmadı	Çalışılmadı
H3	48	S. pneumonia ampiyemi	Varyant saptanmadı	Çalışılmadı
H4	48	S. pneumonia kan akımı enfeksiyonu	c.1282 G>A HETEROZİGOT 12:44180295 rs4251545 ekzon 11 Ala428Thr Gnomad'a göre MAF:0,11 33052 kişide heterozigot, 2405 kişide homozigot Clinvar:Benign, SIFT/Polyphen:Benign, Polimorfizm:mutation taster	Çalışılmadı
H5	96	S. aureus septik artritisi	c.1172 G>A HETEROZİGOT 12:44177511 rs55944915 ekzon 10 Arg391His MAF:0,01 3134 kişide heterozigot, 29 kişide homozigot Clinvar: Benign, SIFT; deleterious, Polyphen: possibly damaging	Çalışılmadı
H6	36	S. pneumonia ampiyemi	Varyant saptanmadı	Varyant saptanmadı
H7	30	S. pneumonia ampiyemi	c.1172 G>A HETEROZİGOT 12:44177511 rs55944915 ekzon 10 Arg391His MAF:0,01 3134 kişide heterozigot, 29 kişide homozigot Clinvar:Benign, SIFT; deleterious, Polyphen:possibly damaging	Varyant saptanmadı
H8	29	S. pneumonia ampiyemi	Varyant saptanmadı	Varyant saptanmadı
H9	3	S. pneumonia kan akımı enfeksiyonu	Varyant saptanmadı	Varyant saptanmadı
H10		S. aureus kan akımı enfeksiyonu	Varyant saptanmadı	Varyant saptanmadı
H11	120	S. aureus septik artritisi	c.1172 G>A HETEROZİGOT 12:44177511 rs55944915 ekzon 10 Arg391His MAF:0,01 3134 kişide heterozigot, 29 kişide homozigot Clinvar:Benign, SIFT; deleterious, Polyphen: possibly damaging	Varyant saptanmadı

Tablo 4.4. (Devam) Hastaların tanısı, IRAK4 ve MyD88 gen varyant sonuçları

	Yaş (ay)	Tanı	IRAK4 Geni	MyD88 Geni
H12	130	S. aureus septik artrit	c.1282 G>A HETEROZİGOT 12:44180295 rs4251545 ekzon 11 Ala428Thr Gnomad'a göre MAF:0,11 33052 kişide heterozigot, 2405 kişide homozigot Clinvar:Benign, SIFT/Polyphen; Benign, Polimorfizm:mutation taster	Varyant saptanmadı
H13	44	S. pneumonia kan akımı enfeksiyonu	Varyant saptanmadı	Varyant saptanmadı
H14	77	S. aureus septik artrit	c.1282 G>A HETEROZİGOT 12:44180295 rs4251545 ekzon 11 Ala428Thr Gnomad'a göre MAF:0,11 33052 kişide heterozigot, 2405 kişide homozigot Clinvar:Benign; SIFT/Polyphen:Benign; Polimorfizm: mutation taster	Varyant saptanmadı
H15	65	S. pneumonia ampiyemi	Varyant saptanmadı	Varyant saptanmadı

5. TARTIŞMA

IRAK-4 ve MyD88 eksiklikleri, TLR ve IL-1R sinyal iletiminde derin ve selektif bir defekt ile karakterize yeni bir primer immün yetmezlik grubunu oluşturmaktadır. Bu iki hastalık *S. pneumoniae*, *S. aureus*, *P. aeruginosa* ile İBE neden olabilir. Yapılan bir çalışmada IRAK-4 eksikliği olan hastalarda kanıtlanmış İBE' ların yarısında enfeksiyonlardan sorumlu patojen *S. pneumoniae* iken, vakaların %14'ünde *S. aureus* ve %19'unda *P. aeruginosa* etken olarak gösterilmiştir (48). Biz de bu çalışmada *S. pneumoniae*, *S. aureus* ve *P. aeruginosa* ile İBE geçiren hastalarda IRAK-4 gen mutasyon varlığını araştırdık. Çalışmamızda *S. pneumoniae*, *S. aureus* ile İBE geçiren hastaların yedisinde (%46,6) heterozigot varyant tespit edildi. Hiçbir hastamızda homozigot mutasyon yoktu. Çalışmamızda IRAK-4 geninde c.1282 G>A ve c.1172 G>A olmak üzere iki farklı varyant tanımlanmıştır. IRAK-4 eksikliği ile ilişkili primer immün yetmezliğin otozomal resesif olduğu bilinmekle birlikte çalışmamızda saptanan iki varyant, heterozigot bireyleri temsil etmektedir. Bu hasarlı değişkenlerin heterozigot olarak taşınmasının kısmi bir IRAK-4 eksikliği ile sonuçlanabileceği ve bu iki heterozigot mutasyonun İBE duyarlılığına katkıda bulunabileceği olasılığı göz ardı edilemez, ancak bunu göstermek için geniş kapsamlı çalışmaları gereklidir.

Otozomal resesif geçişli olarak bilinen bazı hastalıklarda heterozigot mutasyon varlığı hastalığa neden olabilmektedir. Örneğin MEFV heterozigot hastalarının önemli bir kısmında hastalık fenotipi görülebilir. Çalışmalarda heterozigot mutasyon ile Ailevi Akdeniz Ateşi (AAA) hastalığı tanısı alan hastalar bildirilmiştir. Yapılan bir çalışmada AAA hastalarının %43'ü heterozigot, %51'i bileşik heterozigot (%91'i M694V mutasyonlu) ve %6'sı E148Q mutasyonu için homozigottu (52). MEFV varyantı heterozigot hastaların önemli bir oranı da hastalık fenotipini göstermekteydi. Çalışmamızda İBE geçiren yedi hastada IRAK-4 geninde c.1282 G>A heterozigot, rs4251545 exon 11 Ala428Thr (dört hastada); c.1172 G>A heterozigot rs55944915 exon 10 Arg391His (üç hastada) varyant saptandı, hastaların hiç birinde Myd88 geninde mutasyon saptanmadı. Heterozigot mutasyon olan hastalarda AAA fenotipinin ortaya çıkmasını açıklayan açıklamalardan biri de, diğer modifiye edici genlerin hastalık üzerinde etkili olabileceğidir (53). Çalışmamızda sadece IRAK-4 ve

Myd88 genleri incelendiği için diğer genlerin bu hastalıklar üzerindeki etkisi gösterilemedi.

Otozomal resesif geçişli hastalıklardan olan otoimmün poliendokrinopati, kandidiyazis, ektodermal distrofi (APECED) hastalığında da heterozigot mutasyonların hastalık ile ilişkili olabileceğini belirten çalışmalar vardır. Dört APECED tanılı hastanın heterozigot kardeşleri ve ebeveynlerinin araştırıldığı bir çalışmada patolojik immünolojik bulgular bulundu. Hastalığın prevalansının düşük olması nedeniyle hasta sayısının az olmasına ve bunun sonucunda kesin genotip-fenotip korelasyonlarının kurulmasındaki zorluklara rağmen, düşük IFNy üretimi ve yüksek IgM seviyeleri ile karakterize APECED hastalığındaki patolojik bulgulara çok benzer bir fenotip bulundu. Aile bireylerindeki patolojik immünolojik bulgular hastalığın heterozigot bireylerde de ortaya çıkabileceğini düşündürmektedir (54). Yakın zamanda yayınlanan bir çalışmada otoimmün regülatuar (AIRE) genin nadir bir mutasyonu için heterozigot olan APECED'in hafif klinik belirtilerini gösteren, İtalyan bir anne ve iki çocuğu olan üç üyeli bir aile tanımlandı. Bu çalışma AIRE varyantlarının daha önce tahmin edilenden daha yaygın olduğunu ve hastalığın daha hafif kliniklere neden olabileceğini doğrulamaktadır (55). Bu bulgular ışığında; çalışmamızdaki *S. pneumonia* ve *S. aureus* ile İBE geçiren hastaların yedisinde heterozigot mutasyon saptanması; hastalığın OR geçişli olmasına rağmen; heterozigot bireylerin de hastalık bulguları ortaya çıkarabileceğini düşündürmektedir.

Bazı genlerdeki polimorfizmlerin de hastalıklarla ilişkili olduğu yayınlarda bildirilmiştir. 5,10-Metilentetrahidrofolat redüktaz (MTHFR) geninde tanımlanan polimorfizm enzim aktivitesini azaltan bir polimorfizm olarak tanımlanmıştır. MTHFR enzim aktivitesinin azalması, çeşitli metabolik sorunlar ile ilişkilendirilmiştir. MTHFR polimorfizmi açısından değerlendirilen 188 kişinin araştırıldığı çalışmada MTHFR C677T ve A1298C polimorfizmleri artan vasküler tromboemboli riskiyle ilişkili bulunmuştur (56). Hastalık fenotipine neden olabildiği gösterilen bir başka gen polimorfizmi ise plazminojen aktivatör inhibitör-1 (PAI-1) gen polimorfizmidir. Trombozdaki rolü nedeniyle PAI-1 4G/4G polimorfizminin gebelik komplikasyonlarına ve derin ven trombozlarına neden olabildiğini gösteren çalışmalar mevcuttur. PAI-1 4G/5G genotipinin dağılımını ve akraba olmayan, derin ven trombozu olan 70 hastada fibrinolitik kapasite ile genotip ilişkisinin incelendiği bir

çalışmada, PAI-1 4G polimorfizminin, PAI-1 ekspresyonunu etkileyebileceği, diğer çevresel ve genetik faktörlerle birlikte patolojik fibrinolizi kolaylaştırabilecek bir durum olabileceği sonucuna varılmıştır (57). Çalışmamızda yedi hastada IRAK4 geninde saptanan heterozigot varyant (polimorfizm) de bu gende fonksiyon bozukluğuna yol açarak invaziv bakteriyel enfeksiyona yatkınlık sağlamış olabilir.

IRAK-4 geninde heterozigot varyant (polimorfizm) önemli olabilir. IRAK-4 birleşik heterozigot olan hastalar tanımlanmışsa da; IRAK-4 heterozigot mutasyon saptanan hastalardaki klinik bulgular ile ilgili veriye literatürde rastlanmamıştır. Tek alleledeki bu varyant gen sonucu üretilen proteinde de fonksiyon bozukluğu oluşabilir. Bu hastalarda *S. pneumonia* ve *S. aureus*' un İBE'ye yatkınlık oluşturup oluşturmayacağını açıklayabilmek için; bu genin protein ekspresyonu ile ilgili fonksiyonel çalışmalara ihtiyaç vardır. Fonksiyonel çalışmalar ile bu durumun hastalık gelişimine katkısı olup olmadığı aydınlatılabilir. Ayrıca biz çalışmamızda sadece IRAK4 ve MyD 88 genlerini inceledik. Farklı genlerdeki mutasyonlara bakmadık. Bu yolağı etkileyebilecek farklı varyantlar da hastaların *S. pneumonia* ve *S. aureus* ile İBE geçirmesine katkı sağlamış olabilir. Heterozigot mutasyon şüpheli bir patojenik role sahip olabilir. İnvaziv bakteriyel enfeksiyon geçiren hastalarda mutasyon çalışmaları ile fonksiyonel çalışmalar yapılırsa heterozigot varyantların da İBE`a neden olabileceği gösterilebilir. Bu durumu aydınlatmak için daha fazla sayıda hastanın dahil edildiği daha ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

Streptococcus pneumoniae, dünya çapında toplum kökenli pnömoninin önde gelen nedenidir ve beş yaşın altındaki çocuklarda başlıca ölüm nedeni olmaya devam etmektedir. *Streptococcus pneumonia* ve *S. aureus* enfeksiyonlarının başlıca ölüm nedeni, normalde steril bir bölgeden bakteri izolasyonu olarak tanımlanan İBE' lardır. Konak genetiğinin, *S. pneumonia* ve *S. aureus* ile bireyin enfeksiyon riskini belirlemede önemli bir rol oynadığı artık yaygın olarak kabul edilmektedir. Nadir genetik varyantların İPH'deki rolünü açıklayan çalışmalar, öncelikle çocuklarda tekrarlayan hastalığı araştırmış ve bu fenotip ile ilişkili bir dizi gen varyantını tanımlamıştır. Gerçekten de, İPH'li 163 çocukta immünolojik eksiklikleri araştıran yakın tarihli bir çalışma, vakaların %26' sında altta yatan bir primer immün yetmezlik olduğunu, bir çocukta ise belirgin bir TLR-NF-kB yolu kusuru (MyD88 eksikliği) olduğunu bildirdi (58). Pnömokok enfeksiyonuna duyarlılıkta TLR sinyal yolağının

rolünü değerlendirmek amacıyla yapılan bir çalışmada bir dizi TLR ligandı ile uyarılma sonucu üretilen sitokinler analiz edildi. IPH' li 50 çocuktan oluşan hasta grubunda TLR kusuruna ait bulgu saptanmadı (59). IPH' de MyD88, IRAK4 genlerindeki nadir varyantların önemli bir rolü olduğuna dair saptanan bulgular, tekrarlayan hastalığın aksine tek İBE epizotunun da önemli olabileceğini göstermektedir. Yakın zamana kadar, PIY'lerin yalnızca tekrarlayan ve çeşitli çocukluk ağı enfeksiyonlarına yol açan çok vakalı ailelerdeki mutasyonlardan oluştuğu düşünülürken, şimdi bu terim aynı zamanda sağlıklı yetişkinlerde sporadik, yaygın ve bazen seçici bulaşıcı hastalıklara yol açan eksik penetrans ile yeni tanımlanmış mutasyonları da kapsamaktadır (59,60). Çalışmamızdaki hastalar *S. pneumonia* ve *S. aureus* ile ilk kez İBE geçiren hastalardı. Çalışma grubundaki hastaların %46,7' sinde heterozigot varyant tespit edildi. Bu durum *S. pneumonia* ve *S. aureus* ile İBE'lara yatkınlık oluşturmuş olabilir. Bunu ortaya koyabilmek için daha fazla araştırmaya gerek vardır. Özellikle genlerin protein düzeylerinde değişiklik olup olmadığına bakılması önemlidir. CD62L shedding testi de varyant bulunan hastalarda yapılabilir. IRAK4 heterozigot varyant olan yedi hastamızda fonksiyonel çalışma planlanabilir.

IRAK-4 ve MyD88 eksikliği olan hastaların klinik ve laboratuvar özelliklerinin incelendiği bir çalışmada, 28 IRAK-4 eksikliği olan hastanın 15'inde ve sekiz MyD88 eksikliği olan hastanın nde IgM, IgG ve IgA seviyeleri yaşa göre normal, 12 IRAK-4 eksikliği ve 4 MyD88 eksikliği olan hastada ise yüksek bulundu. IRAK-4 eksikliği olan hastaların beşinde ve MyD88 eksikliği olan hastaların ikisinde IgG4 düzeyleri oldukça yüksekti (9). Sekiz IRAK-4 eksikliği,  MyD88 eksikliği olan hastaların incelendiği başka bir çalışmada da IgG ve M düzeyleri normalken; *S. aureus* ve *S. pneumoniae* tarafından eksprese edilen karbohidrat antijenleri gibi T hücre bağımsız antijenlere karşı IgG normal fakat IgM'de azalma tespit edildi (11). IRAK-4 eksikliği olan hastaların incelendiği bir diğer çalışmada ise Ig G yedi hastada normal düzeyde, dört hastada ise yüksekti; IgA beş hastada normal, iki hastada yüksek ve dört hastada yaşa göre düşüktü; IgM yedi hastada normal, üç hastada yüksek, bir hastada düşüktü (61). Çalışmamızda ise bir hastamızın IgG düzeyi yaşına göre düşüktü . Diğer hastalarımızın IgG, IgM, IgA düzeyleri ve IgG alt grupları yaşlarına göre normaldi. 26 hastanın değerlendirildiği çalışmada, IRAK-4 eksikliği olan hastaların 14' ünde ve

MyD88 eksikliği olan hastaların üçünde IgE seviyeleri yüksekti. IRAK- 4 eksikliği olan 11 hastanın incelendiği bir diğer çalışmada ise IgE düzeyi sekiz hastada yüksekti (61). Hiper IgE sendromlarındaki STAT3 ve TYK2 eksiklikleri gibi diğer primer immün yetmezlikler, stafilokokal enfeksiyonlarla ilişkilidir, ancak bu primer immün yetmezlikli hastalarda invaziv pnömokok hastalığı ve Pseudomonas enfeksiyonu beklenen bulgu değildir. Hasta grubumuzda beş hastada Ig E düzeyi yüksekti. Bu seviyeler, STAT-3 eksikliği olan hastalarda tanımlanan çok yüksek IgE seviyelerine kıyasla daha ılımlı yüksekti. Sadece bir hastamızda total Ig E düzeyi 5550 idi. Fakat onun da izlemde total IgE düzeyi geriledi ve Hiper IgE düşündürecek ek klinik bulguları yoktu. Bu hastaların üçünde heterozigot varyant vardı. Ancak STAT3 veya DOCK8 düşündürecek kadar yüksek Ig E düzeyi ve benzer klinik bulgular yoktu.

IRAK-4 ve MyD88 eksikliği olan hastaların incelendiği bir çalışmada hastaların T hücre, NK hücre, B hücre sayılarının ve lenfosit alt gruplarının yaşa göre normal değerlerde olduğu bildirildi (9). IRAK-4 eksikliği olan 28 hastanın değerlendirildiği bir diğer çalışmada yine lenfosit alt grupları normal değerlerde bulunuldu (61). Çalışmamızda da lenfosit alt grupları yaşa göre normaldi.

On beş ülkeden IRAK-4 eksikliği olan 48 hastanın ve MyD88 eksikliği olan 12 hastanın klinik özelliklerinin ve sonuçlarının incelendiği bir çalışmada, IRAK-4 eksikliği olan hastalarda pnömokok spesifik Ig G ve AB glikanlarına (ABO sisteminin allohemagglutininleri) spesifik IgM antikor yanıtları, hastaların üçte birine yakınında bozuktu (9). Tetanoz toksoidi ve difteri antijenine karşı antikor yanıtları, IRAK-4 eksikliği olan hastaların 17'sinde normaldi. Aynı çalışmada, antipnömokokal antikorların varlığı veya yokluğu ile invaziv pnömokok hastalığının oluşumu arasında herhangi bir ilişki bulunamadı. Benzer şekilde IRAK-4 eksikliği olan hastaların incelendiği bir başka çalışmada protein antijenlerine karşı gelişen antikor yanıtları normaldi (61). Bizim hastalarımızın tamamında pnömokok aşısı antikor yanıtları normal değerler arasında idi. Heterozigot varyant saptanan hastalar ile saptanmayan hastalar arasında ortalama serum pnömokok antikor düzey farkı istatistiksel olarak anlamlı değildi. Ayrıca çalışmamıza alınan hastaların tetanoz ve difteri dahil olmak üzere aşısı antijenlerine karşı antikor yanıtları normaldi.

IRAK-4 ve MyD88 eksiklikleri olan hastalarda total Ig seviyeleri azalmamakla birlikte, bazı hastalarda pnömokokal spesifik IgG'de bozulma bildirilmiştir (62, 63).

Benzer şekilde IRAK-4 eksikliği olan hastaların incelendiği bir diğer çalışmada da glikanlara karşı antikor yanıtı, pnömokokal ve eritrosit AB antijenlerine yanıt hastaların bazılarında bozulmuştu (61). Çalışmamızdaki hastaların total Ig ortalamaları da düşük değildi. Ayrıca heterozigot varyant olan ve olmayan hasta gruplarında da istatistiksel anlamlı fark yoktu.

Bakteriyel opsonizasyonu ve dalak fagositozunu etkileyen PİY' ler, *S. pneumonia* ve *S. aureus* ile İBE ile ilişkilidir. Bu PİY'ler, hücrel immün yetmezlik, konjenital aspleni, klasik ve alternatif kompleman yolunun erken bileşeni olan C3 eksiklikleridir (9). Bu nedenle tüm hastalarımızda abdominal ultrasonografi ile dalak varlığı gösterildi. Kompleman aktivasyonu için CH 50 bakıldı ve tüm hastalarda normal değerlerde idi.

Fransa'da 28 çocuk kliniğinden 2005-2011 yılları arasında hastaneye yatış gerektiren invazif pnömokok hastalığı (İPH) olan 163 hastanın incelendiği bir çalışmada bir MyD88 eksikliği, üç kompleman fraksiyonu C2 veya C3 eksikliği, 1 izole konjenital aspleni ve 2 Bruton hastalığı (X'e bağlı agamaglobulinemi) vakası olan 17 hastaya (10%) primer immün yetmezlik tanısı konuldu (58). Çalışmamızda İPH' ı olan 10 hastanın üçünde IRAK-4 geninde heterozigot varyant (c.1282 G>A ve c.1172 G>A) saptandı.

IRAK-4 eksikliği olan hastaların çoğu, ilk bakteriyel enfeksiyonlarını yaşamlarının erken dönemlerinde, vakaların %87,5'inde (n = 42) 2 yaşından önce geçirdiler. İlk İBE, bu hastaların %79,2'sinde (n = 38) 2 yaşından önce, %35,4'ünde (n = 17) 6 aylıktan önce, %14,5' inde (7) neonatal dönemde meydana gelmiştir (9). Çalışmamızda iki hastamız 6 aydan küçüktü ve hastalarda IRAK-4 mutasyonu saptanmadı. Yine aynı çalışmada IRAK-4 eksikliği olan hastalarda 14 yaşından sonra İBE görülmedi. En büyük hasta ise 35 yaşında olup tekrarlayan cilt enfeksiyonları vardı. IRAK-4 eksikliği olan 48 hastanın 18' i kaybedildi. Kaybedilen hastaların hepsi sekiz yaşından küçüktü çoğu ise iki yaşından küçüktü (9). Yaşla birlikte bu hastalıkta iyileşme beklenmektedir. Çalışmamızda kaybedilen hasta olmadı. Hastaların %93.3 ü sekiz yaşından küçüktü. En büyük hastamız 130 aylık idi.

Bu çalışma tek merkezli bir çalışmadır ve bu nedenle yerel/bölgesel genetik arka planın, genotip/fenotip korelasyonunu değiştirebilecek hastalık fenotipi üzerindeki etkisini göz ardı edemeyiz.

Çalışmadaki vaka sayısının az olması çalışmamızın sınırlayıcı faktörleridir. Kompleks hastalıklarla ilişkili nadir varyantların tanımlanmasını amaçlayan ekzom dizileme çalışmaları için daha büyük örneklem boyutları önerilmektedir. Ancak İBE ile başvuran popülasyon insidansı düşük olması ve vakaların farklı merkezlerde bulunması nedeniyle bu durumun geçerliliği pek mümkün gözükmemektedir. Literatürde ülkemizde IRAK4 ve MyD88 tanı alan toplam beş hasta bildirilmiş olup, çalışmamız bu şekilde tanı alan az sayıda hasta olduğunu desteklemektedir. Bu hastalar çoğunlukla yaşla birlikte klinik bulguları düzelen hastalar olduğu için ekzom analizi gibi ayrıntılı genetik testlerin yapılması maliyet-etkin olmayabilir.

Sonuç olarak, hem IRAK4 eksikliği hem de MyD88 eksikliği, çoğunlukla *S.pneumoniae*, *S. aureus* ve *P. aeruginosa*'nın neden olduğu İBE'ye yatkınlık sağlar. İnvaziv pnömokokal ve stafilokokkal hastalığı olan çocuklar, altta yatan bir PİY için değerlendirilmelidir ve bu çocukların ayırıcı tanısında IRAK4 ve MyD88 eksiklikleri göz önünde bulundurulmalıdır.

6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

- 1- Çalışmamıza dahil edilen *Streptococcus pneumonia*, *Staphylococcus aureus* ile invaziv bakteriyel enfeksiyon tanısı ile izlenen hastaların yedisinde (%46,6) IRAK-4 geninde heterozigot varyant tespit edildi, MyD 88 geninde varyant saptanmadı.
- 2- Çalışmamızda IRAK-4 geninde c.1282 G>A ve c.1172 G>A olmak üzere iki farklı varyant tanımlanmıştır.
- 3- H1,H4, H5, H7, H11, H12, H14 hastalarda IRAK-4 geninde heterozigot varyant saptanması otozomal resesif geçişli olarak bilinen bazı hastalıklarda (AAA ve APECED gibi) olduğu gibi heterozigot mutasyon varlığının hastalığa neden olabileceğini düşündürmektedir.
- 4- IRAK-4 heterozigot mutasyon saptanan hastalardaki klinik bulgular ile ilgili veriye literatürde rastlanmamıştır. Tek alleldeki gen mutasyonu sonucu üretilen proteinde de fonksiyon kaybı oluşabilir. Bu hastalarda *S. pneumonia* ve *S. aureus*' un İBE'ye yatkınlık oluşturup oluşturmayacağını açıklayabilmek için; bu genin protein ekspresyonu ve proteinin islevi ile ilgili çalışmalara ihtiyaç vardır.
- 5- Ayrıca biz çalışmamızda sadece IRAK4 ve MyD 88 genlerini inceledik. Bu hastaların bu yolağı etkileyebilecek farklı genlerde de varyantlarının olabilmesi mümkündür.
- 6- Çalışmamızda hastalarımızın birinci basamak PİY testleri normaldi ve hastaların yedisinde (%46,6) IRAK-4 geninde heterozigot varyant tespit edildi. Heterozigot varyantların fenotip üzerindeki etkisini anlayabilmek için daha ileri çalışmalara ihtiyaç vardır. Bu şekilde tanı konulan hastalara uygulanacak profilaksi tedavileri hayat kurtarıcı olacaktır.

7. KAYNAKLAR

1. Abbas AK, Lichtman AH, Pillai S. Introduction to the Immune System: Nomenclature, General Properties, and Components. In: Abbas AK, Lichtman AH, Pillai S (Eds). *Basic Immunology: Functions and Disorders of the Immune System*. 6th edition. Philadelphia: Elsevier; 2020; 1, 1-22.
2. Janeway CA Jr, Medzhitov R. Innate immune recognition. *Annu Rev Immunol*. 2002;20:197-216.
3. Broz P, Monack DM. Newly described pattern recognition receptors team up against intracellular pathogens. *Nat Rev Immunol*. 2013;13(8):551-65.
4. Majer O, Liu B, Barton GM. Nucleic acid-sensing TLRs: trafficking and regulation. *Curr Opin Immunol*. 2017;44:26-33.
5. Michniacki TF, Madkaikar M, Walkovich K, Morena M, Abraham RS. Primary immunodeficiencies and secondary immunodeficiencies. In: Rifai N, Chiu RWK, Young I, Burnham CD, Wittwer CT (Eds). *Tietz Textbook of Laboratory Medicine*. 7th edition. Missouri: Elsevier; 2023; 100, 1358-89.e12.
6. Crow MK. The innate immune system. In: Goldman L., Schafer AI (Eds.) *Goldman-Cecil Medicine*, 26th edition. Philadelphia: Elsevier; 2020, chapter 39, 198-202.e2
7. Kumar H, Kawai T, Akira S. Pathogen recognition by the innate immune system. *Int Rev Immunol*. 2011;30(1):16-34.
8. Li YW, Mo XB, Zhou L, Li X, Dan XM, Luo XC, et al. Identification of IRAK-4 in grouper (*Epinephelus coioides*) that impairs MyD88-dependent NF- κ B activation. *Dev Comp Immunol*. 2014;45(1):190-7.
9. Picard C, von Bernuth H, Ghandil P, Chrabieh M, Levy O, Arkwright PD, et al. Clinical features and outcome of patients with IRAK-4 and MyD88 deficiency. *Medicine (Baltimore)*. 2010;89(6):403-25.
10. Picard C, Casanova JL, Puel A. Infectious diseases in patients with IRAK-4, MyD88, NEMO, or I κ B α deficiency. *Clin Microbiol Rev*. 2011;24(3):490-7.
11. Maglione PJ, Simchoni N, Black S, Radigan L, Overbey JR, Bagiella E, et al. IRAK-4 and MyD88 deficiencies impair IgM responses against T-independent bacterial antigens. *Blood*. 2014;124(24):3561-71.
12. Muzio M, Ni J, Feng P, Dixit VM. IRAK (Pelle) family member IRAK-2 and MyD88 as proximal mediators of IL-1 signaling. *Science*. 1997;278(5343):1612-5.
13. Medzhitov R, Preston-Hurlburt P, Janeway CA Jr. A human homologue of the *Drosophila* Toll protein signals activation of adaptive immunity. *Nature*. 1997;388(6640):394-7.
14. Medzhitov R, Preston-Hurlburt P, Kopp E, Stadlen A, Chen C, Ghosh S, et al. MyD88 is an adaptor protein in the hToll/IL-1 receptor family signaling pathways. *Mol Cell*. 1998;2(2):253-8.

15. Beutler B, Jiang Z, Georgel P, Crozat K, Croker B, Rutschmann S, et al. Genetic analysis of host resistance: Toll-like receptor signaling and immunity at large. *Annu Rev Immunol.* 2006;24:353-89.
16. Kawai T, Akira S. The role of pattern-recognition receptors in innate immunity: update on Toll-like receptors. *Nat Immunol.* 2010;11(5):373-84.
17. Kigerl KA, de Rivero Vaccari JP, Dietrich WD, Popovich PG, Keane RW. Pattern recognition receptors and central nervous system repair. *Exp Neurol.* 2014;258:5-16.
18. Mathur R, Oh H, Zhang D, Park SG, Seo J, Koblansky A, et al. A mouse model of *Salmonella typhi* infection. *Cell.* 2012;151(3):590-602.
19. Koblansky AA, Jankovic D, Oh H, Hienny S, Sungnak W, Mathur R, et al. Recognition of profilin by Toll-like receptor 12 is critical for host resistance to *Toxoplasma gondii*. *Immunity.* 2013;38(1):119-30.
20. Takeuchi O, Akira S. Signaling pathways activated by microorganisms. *Curr Opin Cell Biol.* 2007;19(2):185-91.
21. Burns K, Janssens S, Brissoni B, Olivos N, Beyaert R, Tschopp J. Inhibition of interleukin 1 receptor/Toll-like receptor signaling through the alternatively spliced, short form of MyD88 is due to its failure to recruit IRAK-4. *J Exp Med.* 2003;197(2):263-8.
22. Akira S, Uematsu S, Takeuchi O. Pathogen recognition and innate immunity. *Cell.* 2006;124(4):783-801.
23. Wang JQ, Jeelall YS, Ferguson LL, Horikawa K. Toll-Like Receptors and Cancer: MYD88 Mutation and Inflammation. *Front Immunol.* 2014;5:367.
24. Flannery S, Bowie AG. The interleukin-1 receptor-associated kinases: critical regulators of innate immune signalling. *Biochem Pharmacol.* 2010;80(12):1981-91.
25. Hasbun R, Collodel A, Barichello T. Pathophysiology of Neonatal Acute Bacterial Meningitis. In: Polin RA, Abman SH, Rowitch DH, Benitz WE, Fox WW (Eds). *Fetal and Neonatal Physiology*. 6th edition. Philadelphia, Elsevier. 2022; 168, 1784-1796.e4
26. Mitchell D, Yong M, Schroder W, Black M, Tirrell M, Olive C. Dual stimulation of MyD88-dependent Toll-like receptors induces synergistically enhanced production of inflammatory cytokines in murine bone marrow-derived dendritic cells. *J Infect Dis.* 2010;202(2):318-29.
27. Mogensen TH, Paludan SR, Kilian M, Ostergaard L. Live *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, and *Neisseria meningitidis* activate the inflammatory response through Toll-like receptors 2, 4, and 9 in species-specific patterns. *J Leukoc Biol.* 2006;80(2):267-77.
28. Flo TH, Halaas O, Lien E, Ryan L, Teti G, Golenbock DT, et al. Human toll-like receptor 2 mediates monocyte activation by *Listeria monocytogenes*, but not by group B streptococci or lipopolysaccharide. *J Immunol.* 2000;164(4):2064-9.

29. Seki E, Tsutsui H, Tsuji NM, Hayashi N, Adachi K, Nakano H, et al. Critical roles of myeloid differentiation factor 88-dependent proinflammatory cytokine release in early phase clearance of *Listeria monocytogenes* in mice. *J Immunol*. 2002;169(7):3863-8.
30. Janot L, Secher T, Torres D, Maillet I, Pfeilschifter J, Quesniaux VF, et al. CD14 works with toll-like receptor 2 to contribute to recognition and control of *Listeria monocytogenes* infection. *J Infect Dis*. 2008;198(1):115-24.
31. Puliti M, Uematsu S, Akira S, Bistoni F, Tissi L. Toll-like receptor 2 deficiency is associated with enhanced severity of group B streptococcal disease. *Infect Immun*. 2009;77(4):1524-31.
32. Rivest S. Molecular insights on the cerebral innate immune system. *Brain Behav Immun*. 2003;17(1):13-9.
33. Gong T, Liu L, Jiang W, Zhou R. DAMP-sensing receptors in sterile inflammation and inflammatory diseases. *Nat Rev Immunol*. 2020;20(2):95-112.
34. Ribes S, Ebert S, Czesnik D, Regen T, Zeug A, Bukowski S, et al. Toll-like receptor prestimulation increases phagocytosis of *Escherichia coli* DH5alpha and *Escherichia coli* K1 strains by murine microglial cells. *Infect Immun*. 2009;77(1):557-64.
35. Erdemir A, Kahramaner Z, Cosar H, Turkoglu E, Sutcuoglu S, Uygun DK, et al. *Escherichia coli* brain abscess in a twin pair associated with TLR4 gene mutation. *Pediatr Int*. 2013;55(4):516-8
36. Malley R, Henneke P, Morse SC, Cieslewicz MJ, Lipsitch M, Thompson CM, et al. Recognition of pneumolysin by Toll-like receptor 4 confers resistance to pneumococcal infection. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2003;100(4):1966-71
37. Hayashi F, Smith KD, Ozinsky A, Hawn TR, Yi EC, Goodlett DR, et al. The innate immune response to bacterial flagellin is mediated by Toll-like receptor 5. *Nature*. 2001;410(6832):1099-103.
38. Gaschignard J, Levy C, Romain O, Cohen R, Bingen E, Aujard Y, et al. Neonatal Bacterial Meningitis: 444 Cases in 7 Years. *Pediatr Infect Dis J*. 2011;30(3):212-7.
39. Bernard SC, Simpson N, Join-Lambert O, Federici C, Laran-Chich MP, Maïssa N, et al. Pathogenic *Neisseria meningitidis* utilizes CD147 for vascular colonization. *Nat Med*. 2014;20(7):725-31.
40. Wang H, Zhang J, Wu H, Jiang C, Zheng Q, Li Z. Inhibition of RAW264.7 macrophage inflammatory cytokines release by small hairpin RNAi targeting TLR4. *J Huazhong Univ Sci Technolog Med Sci*. 2006;26(5):500-3.
41. Chen ZJ. Ubiquitin signalling in the NF-kappaB pathway. *Nat Cell Biol*. 2005;7(8):758-65.
42. Bousfiha A, Moundir A, Tangye SG, Picard C, Jeddane L, Al-Herz W et al. The 2022 Update of IUIS Phenotypical Classification for Human Inborn Errors of Immunity. *J Clin Immunol*. 2022;42(7):1508-20.

43. von Bernuth H, Picard C, Puel A, Casanova JL. Experimental and natural infections in MyD88- and IRAK-4-deficient mice and humans. *Eur J Immunol.* 2012;42(12):3126-35.
44. McKelvie B, Top K, McCusker C, Letenyi D, Issekutz TB, Issekutz AC. Fatal pneumococcal meningitis in a 7-year-old girl with interleukin-1 receptor activated kinase deficiency (IRAK-4) despite prophylactic antibiotic and IgG responses to *Streptococcus pneumoniae* vaccines. *J Clin Immunol.* 2014;34(3):267-71.
45. Koedel U, Rupprecht T, Angele B, Heesemann J, Wagner H, Pfister HW, et al. MyD88 is required for mounting a robust host immune response to *Streptococcus pneumoniae* in the CNS. *Brain.* 2004;127(Pt 6):1437-45.
46. Ribes S, Regen T, Meister T, Tauber SC, Schütze S, Mildner A, et al. Resistance of the brain to *Escherichia coli* K1 infection depends on MyD88 signaling and the contribution of neutrophils and monocytes. *Infect Immun.* 2013;81(5):1810-9.
47. Wynn JL, Scumpia PO, Winfield RD, Delano MJ, Kelly-Scumpia K, Barker T, et al. Defective innate immunity predisposes murine neonates to poor sepsis outcome but is reversed by TLR agonists. *Blood.* 2008; 112:1750–8.
48. Belderbos ME, van Bleek GM, Levy O, Blanken MO, Houben ML, Schuijff L, et al. Skewed pattern of Toll-like receptor 4-mediated cytokine production in human neonatal blood: low LPS-induced IL-12p70 and high IL-10 persist throughout the first month of life. *Clin Immunol.* 2009; 133:228–37.
49. Von Bernuth H, Picard C, Jin Z, Pankla R, Xiao H, Ku CL, et al. Pyogenic bacterial infections in humans with MyD88 deficiency. *Science.* 2008;321(5889):691-6.
50. Bustamante J, Zhang SY, Boisson B, Ciancanelli M, Jouanguy E, Dupuis-Boisson S, et al. Immunodeficiencies at the Interface of Innate and Adaptive Immunity. In: Rich RR, Fleisher TA, Shearer WT, Schroeder HW, Frew AJ, Weyand CM (Eds). *Clinical Immunology: Principles and Practice.* 5th edition. Philadelphia, Elsevier; 2019 chapter 39, 509-22.e1
51. Rundles CC. Primary Immunodeficiency Diseases. The innate immune system. In: Goldman L., Schafer AI (Eds.) *Goldman-Cecil Medicine*, 26th edition. Philadelphia: Elsevier; 2020, chapter 236, 1638-49.e1
52. Aydın F, Çakar N, Özçakar ZB, Uncu N, Başaran Ö, Özdel S, et al. Clinical features and disease severity of Turkish FMF children carrying E148Q mutation. *J Clin Lab Anal.* 2019;33(4):e22852.
53. Özen S, Batu ED, Demir S. Familial Mediterranean Fever: Recent Developments in Pathogenesis and New Recommendations for Management. *Front Immunol.* 2017;8:253.
54. Sedivá A, Ciháková D, Lebl J. Immunological findings in patients with autoimmune polyendocrinopathy-candidiasis-ectodermal dystrophy (APECED) and their family members: are heterozygotes subclinically affected? *J Pediatr Endocrinol Metab.* 2002;15(9):1491-6.

55. Radetti G, Puel A, Franceschi R, Longhi S, Gallo N, Betterle C. A non-classical presentation of APECED in a family with heterozygous R203X AIRE gene mutation. *J Endocrinol Invest.* 2023;46(3):629-32.
56. Liu F, Silva D, Malone MV, Seetharaman K. MTHFR A1298C and C677T Polymorphisms Are Associated with Increased Risk of Venous Thromboembolism: A Retrospective Chart Review Study. *Acta Haematol.* 2017;138(4):208-15.
57. Sartori MT, Wiman B, Vettore S, Dazzi F, Girolami A, Patrassi GM. 4G/5G polymorphism of PAI-1 gene promoter and fibrinolytic capacity in patients with deep vein thrombosis. *Thromb Haemost.* 1998;80(6):956-60.
58. Gaschignard J, Levy C, Chrabieh M, Boisson B, Bost-Bru C, Dauger S, et al. Invasive pneumococcal disease in children can reveal a primary immunodeficiency. *Clin Infect Dis.* 2014;59(2):244-51.
59. Hirschfeld AF, Bettinger JA, Victor RE, Davidson DJ, Currie AJ, Ansermino JM, et al. Prevalence of Toll-like receptor signalling defects in apparently healthy children who developed invasive pneumococcal infection. *Clin Immunol.* 2007;122(3):271-8.
60. Ellis MK, Elliott KS, Rautanen A, Crook DW, Hill AV, Chapman SJ. Rare variants in MYD88, IRAK4 and IKBKG and susceptibility to invasive pneumococcal disease: a population-based case-control study. *PLoS One.* 2015;10(4):e0123532.
61. Ku CL, von Bernuth H, Picard C, Zhang SY, Chang HH, Yang K, et al. Selective predisposition to bacterial infections in IRAK-4-deficient children: IRAK-4-dependent TLRs are otherwise redundant in protective immunity. *J Exp Med.* 2007;204(10):2407-22.
62. Ku CL, Picard C, Erdős M, Jeurissen A, Bustamante J, Puel A, et al. IRAK4 and NEMO mutations in otherwise healthy children with recurrent invasive pneumococcal disease. *J Med Genet.* 2007;44(1):16-23.
63. Borgers H, Moens L, Picard C, Jeurissen A, Raes M, Sauer K, et al. Laboratory diagnosis of specific antibody deficiency to pneumococcal capsular polysaccharide antigens by multiplexed bead assay. *Clin Immunol.* 2010; 134(2):198-205.

8. EKLER

EK- 1: Tez Çalışması ile İlgili Etik Kurul İzni



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

Sayı : 16969557 - 10204

Konu : ARAŞTIRMA PROJESİNİN DEĞERLENDİRME RAPORU

Toplantı Tarihi : 25 ŞUBAT 2020 SALI
Toplantı No : 2020/05
Proje No : GÖ 19/930 (Değerlendirme Tarihi: 17.09.2019)
Karar No : 2020/05-24

Üniversitemiz Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı öğretim üyelerinden Prof. Dr. Deniz Çağdaş AYVAZ'ın sorumlu araştırmacı olduğu, Prof. Dr. İlhan TIZCAN, Dr. Çağman TAN ile birlikte çalışacakları ve Dr. Öğr. Üyesi Zeynep Gökçe Gayretli AYDIN'ın yüksek lisans tezi olan, GÖ 19/930 kayıt numaralı, "*Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* ve *Pseudomonas aeruginosa* ile İnvaziv Bakteriyel Enfeksiyon Geçiren Çocuklarda IRAK4 ve MYD88 Genlerinde Mutasyon Varlığının Araştırılması" başlıklı proje önerisi araştırmanın gerekece, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş olup, 26 Şubat 2020-26 Ağustos 2020 tarihleri arasında geçerli olmak üzere etik açıdan **uygun bulunmuştur**. Çalışma tamamlandığında sonuçlarını içeren bir rapor örneğinin Etik Kurulumuza gönderilmesi gerekmektedir.

1. Prof. Dr. Ayşe Lale DOĞAN	(Başkan)	İZİMLİ	9. Doç. Dr. Fatma Visal OKUR	(Üye)
2. Prof. Dr. Sevdâ F. MÜFTÜOĞLU	(Üye)	İZİMLİ	10. Doç. Dr. Can Ebru KURT	(Üye)
3. Prof. Dr. M. Yıldırım SARA	(Üye)	İZİMLİ	11. Doç. Dr. H. Hüseyin TURNAĞOĞLU	(Üye)
4. Prof. Dr. Neçmettin S. AYDIN	(Üye)	İZİMLİ	12. Dr. Öğr. Üyesi Özay GÖKÖZ	(Üye)
5. Prof. Dr. Mintaze Kerem GÜNEL	(Üye)	İZİMLİ	13. Dr. Öğr. Üyesi Müge DEMİR	(Üye)
6. Prof. Dr. Oya Nuran EMİROĞLU	(Üye)	İZİMLİ	14. Öğr. Gör. Dr. Meltem ŞENGELEN	(Üye)
7. Prof. Dr. M. Özgür UYANIK	(Üye)	İZİMLİ	15. Av. Meltem ONURLU	(Üye)
8. Doç. Dr. Gözde GİRGIN	(Üye)			

EK- 2: Turnitin Ekran Görüntüsü

STREPTOCOCCUS PNEUMONIA, STAPHYLOCOCCUS AUREUS VE PSEUDOMONAS AERUGINOSA İLE İNVAZİV BAKTERİYEL ENFEKSİYON GEÇİREN ÇOCUKLARDA IRAK4 VE MYD88 GENLERİNDE MUTASYON VARLIĞININ ARAŞTIRILMASI

ORJİNALLİK RAPORU

%7	%7	%1	%2
BENZERLİK ENDEKSİ	İNTERNET KAYNAKLARI	YAYINLAR	ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

BİRİNCİL KAYNAKLAR

1	dergipark.org.tr İnternet Kaynağı	%2
2	openaccess.hacettepe.edu.tr:8080 İnternet Kaynağı	%1
3	www.bezelyedergi.net İnternet Kaynağı	%1
4	acikbilim.yok.gov.tr İnternet Kaynağı	%1
5	tez.sdu.edu.tr İnternet Kaynağı	<%1
6	avesis.hacettepe.edu.tr İnternet Kaynağı	<%1
7	flipflashpages.uniflip.com İnternet Kaynağı	<%1
8	www.openaccess.hacettepe.edu.tr:8080 İnternet Kaynağı	<%1

EK-3: Dijital Makbuz



Dijital Makbuz

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

Gönderinizin ilk sayfası aşağıda gönderilmektedir.

Gönderen:	Zeynep Gökçe Gayretli Aydın
Ödev başlığı:	STREPTOCOCCUS PNEUMONIA, STAPHYLOCOCCUS AUREUS V...
Gönderi Başlığı:	STREPTOCOCCUS PNEUMONIA, STAPHYLOCOCCUS AUREUS V...
Dosya adı:	ZGGA_8....docx
Dosya boyutu:	1.57M
Sayfa sayısı:	35
Kelime sayısı:	7,981
Karakter sayısı:	53,975
Gönderim Tarihi:	31-Ağu-2023 02:23ÖS (UTC+0300)
Gönderim Numarası:	2154939300

1. GİRİŞ

Dijital bağışıklık, enfeksiyözden kaynaklı hastalıkların önlenmesi için kritik öneme sahiptir. Güçlü bir bağışıklık mikrobiyotiklerin hedef alınması, enfeksiyonu önlemek ve yükü azaltmak için önemlidir (1). Dijital bağışıklık sistemleri per alan Taki hücreli nöroptikler (TLR), koruyucu veya koruyucu olarak görev alır (2). Enfeksiyon potansiyelinde Bakteriye, viral ve fungal patojenler, ortak yapıdaki hücrelere bağlanarak tetar. Mikrobiyal patojenler tanımasından sonra, TLRler, enfeksiyonu etkileyen ve ayırıcı moleküllere (PAMP) yanıtlaştırmaya yardımcı olur ve sinyal yollarını tetar (1, 2). TLRler, interferon-1 (IFN-1) reseptör ailesinin üyeleriyle Taki hücrede-1 reseptörü (TLR) alan adı verilen moleküllere alan yapılar. Kesik TLR sınıfı birer ayırıcıdır. TLR için en önemli adaptör molekül myeloid farklılaşma faktörü-88 (MyD88) ve adaptör protein ailesi Taki interlevin-1 reseptör alan (TRAF) ailesi (MyD88, 2 sınıf lineer alan interlevin-1 reseptör-1/2, kinase (IRAK-1, IRAK-4 ve 2 katılık alanlar) alan moleküllere, TLRler ve IL-1Rler (IRAK kompleksi) gibi görevi alan moleküllere bir adaptör molekülleri (1, 2). MyD88, Taki ve IL-1R domainleriyle TLRler ve IL-1R'ler de etkileşime girer. MyD88 ve IRAK-4'ün bağışıklık TLR yolu, TLR7, TLR8 ve TLR9 yapılarından sonra, E-1, IL-6, IL-8, kinin nötr faktörü (TNF) - α , interferon (IFN) - α (E gibi enfeksiyon molekülleri sentezine yol açar. MyD88 ve IRAK-4 ilişkili olan hastalıklarda eklenmiş kan kitlenmesi, TLR ve IL-1R ailesindeki de enfeksiyonlarda çeşitli başka yeni veriler arasında TLR3 dışındaki tüm TLR'ler MyD88 ve IRAK-4 molekülleri kullanır (4). Bu yollar ayrıca, IL-1R, E-1R ve IL-3Rta dahil olmak üzere başka IL-1R tarafından da kullanılır. IL-1 α ve IL-33 ayrıca, transkripsiyonel düzenlemeyle yol açan alternatif birer ayırıcı de gıtabilir. Hedefli kadavre, MyD88'ün bağışıklık IL-1R yoluna eklenen herhangi bir etayın birer tanımlanması (5-7).

IRAK-4 ve MyD88 ilişkileri, koruyucu veya birer koruyucu IRAK-4 ve MyD88 gen mutasyonlarının neden olduğu otoimmün sistemli genetik primer immün yetersizlikler olarak tanımlanmıştır. IRAK-4 ve MyD88, dijital immün yanıtı görev yapan molekülleri (IRAK, TLR) için sinyal aktarımında önemli rol oynayan birer protein kitlenir. MyD88 de enfeksiyon için ve IRAK-4 ilişkili birer hiperaktiflik ilişkilerde sonra IRAK-4 ilişkiler faktör kopya B (NF- κ B) ve MyD88 ilişkiler etkiler

9. ÖZGEÇMİŞ