

T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

PFAPA HASTALARINDA BEHÇET HASTALARI İLE
KARŞILAŞTIRMALI OLARAK NETOZİS, DÜŞÜK DENSİTELİ
NÖTROFİLLER VE DOĞAL LENFOİD HÜCRELERİN
DEĞERLENDİRİLMESİ

Ümran ABA

İmmünoloji Programı
YÜKSEK LİSANS TEZİ

ANKARA
2024

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

**PFAPA HASTALARINDA BEHÇET HASTALARI İLE
KARŞILAŞTIRMALI OLARAK NETOZİS, DÜŞÜK DANSİTELİ
NÖTROFİLLER VE DOĞAL LENFOİD HÜCRELERİN
DEĞERLENDİRİLMESİ**

Ümran ABA

**İmmünoloji Programı
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**TEZ DANIŞMANI
Doç. Dr. Baran ERMAN**

**ANKARA
2024**

ONAY SAYFASI**PFAPA HASTALARINDA BEHÇET HASTALARI İLE KARŞILAŞTIRMALI OLARAK
NETOZİS, DÜŞÜK DANSİTELİ NÖTROFİLLER VE DOĞAL LENFOİD HÜCRELERİN
DEĞERLENDİRİLMESİ****Öğrenci: Ümran ABA****Danışman: Doç. Dr. Baran ERMAN**

Bu tez çalışması 03.07.2024 tarihinde jürimiz tarafından "İmmünoloji Programı" nda yüksek lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı: *Prof. Dr. Deniz Nazire ÇAĞDAŞ AYVAZ* (imza)
Hacettepe Üniversitesi Çocuk Sağlığı Enstitüsü

Tez Danışmanı: *Doç. Dr. Baran ERMAN* (imza)
Hacettepe Üniversitesi Çocuk Sağlığı Enstitüsü

Üye: *Doç. Dr. Fatima AERTS KAYA* (imza)
Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü

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

Üye: *Prof. Dr. Ayşe METİN* (imza)
Ankara Bilkent Şehir Hastanesi

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

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.

- Enstitü / Fakülte yönetim kurulu kararı ile tezimin erişime açılması mezuniyet tarihimden itibaren 2 yıl ertelenmiştir. ⁽¹⁾
- Enstitü / Fakülte yönetim kurulunun gerekçeli kararı ile tezimin erişime açılması mezuniyet tarihimden itibaren ... ay ertelenmiştir. ⁽²⁾
- Tezimle ilgili gizlilik kararı verilmiştir. ⁽³⁾

27 /06 /2024

(İmza)

Ümran ABA

i

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 internetten 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 ay 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 SAYFASI

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, Doç. Dr. Baran ERMAN danışmanlığında tarafımdan üretildiğini ve Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Yönergesine göre yazıldığını beyan ederim.

(İmza)

Ümran ABA

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca bana her türlü desteği sağlayan ve tez danışmanım olan Doç. Dr. Baran Erman'a teşekkürlerimi sunarım. Kendisinin tecrübesi, bilgi birikimi ve pratik çözüm yeteneği sayesinde tez çalışmamda karşılaştığım zorlukları aşmam çok daha kolay oldu. Bana bu süreci nasıl yönetmem gerektiğini öğrettiği ve bana burs imkanı sağlayarak destek olduğu için kendisine teşekkür ederim. Edindiğim tecrübeler, bundan sonraki akademik hayatımda bana her zaman rehberlik edecek ve yolumu aydınlatacaktır.

Bilgi ve tecrübeleriyle her zaman biz öğrencilere rehberlik eden, derslerde ve akademik yaşamımızda bize yön veren değerli hocamız Prof. Dr. Deniz Nazire Çağdaş Ayvaz'a teşekkür ederim. Kendisinin deneyimlerini bizlerle paylaşması ve farklı pencerelerden bakmayı öğretmesi, akademik yolculuğumda bana her zaman yol gösterici olmuştur.

Tez çalışmalarımda bana destek olan ve beni motive eden Arş. Gör. İsmail Yaz ve Arş. Gör. Begüm Çiçek'e teşekkür ederim. Bilgileriniz ve verdiğiniz ilham, beni geleceğe daha hazır hale getirdi.

Laboratuvar arkadaşım Damla Pehlivan'a da teşekkürlerimi iletmek isterim. Yüksek lisansa başladığım günden beri bana verdiği destek, varlığı ve dostluğu ile beni hep gülümsetti. Damla'nın çok başarılı olacağını biliyorum ve iyi yerlere gelmesini diliyorum.

Verdiği bilimsel öneriler ile bu çalışmanın gerçekleştirilmesinde bize yol gösteren ve hasta örneklerini sağlayan sayın Prof. Dr. Sara Şebnem Kılıç Gültekin'e ve yardımları için Uzman Dr. Hülya Köse'ye teşekkür ederim.

Son olarak, bu süreçte yanımda olan ve bana destek veren aileme derin teşekkürlerimi sunuyorum.

Bu tez çalışması Hacettepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmiştir.

ÖZET

Aba, Ü. PFAPA Hastalarında Behçet Hastaları ile Karşılaştırmalı Olarak NETozis, Düşük Dansiteli Nötrofiller ve Doğal Lenfoid Hücrelerin Değerlendirilmesi. Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü İmmünoloji Programı Yüksek Lisans Tezi, Ankara, 2024. PFAPA (Periyodik ateş, Aftöz stomatit, Farenjit ve Servikal adenit) Sendromu, immün patogenezi tam olarak bilinmeyen ve çocukluk döneminde görülen, tekrarlayan ateş, aftöz stomatit, farenjit ve servikal lenfadenit ile karakterize bir otoenflamatuvar hastalıktır. İnflamatuvar ve otoimmün hastalıklarda nötrofil aktivitesinin fazla olduğu, nötrofil ekstraselüler tuzakların (NET) patogenezi rolünün olduğu ve düşük dansiteli nötrofiller (LDN) ve doğal lenfoid hücrelerin (ILC) bağışıklık yanıtında rol oynadığı bilinmektedir. PFAPA hastalığında belirtilen parametrelerin değerlendirilmesi planlanmıştır. Bu çalışmada Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk İmmünoloji-Romatoloji Polikliniği'nde PFAPA tanısı alan 20 hastada NET üretimi ölçülerek inflamasyona katkısı araştırılacak ve kandaki LDN ve ILC yüzdeleri belirlenecektir. Elde edilen bulgular Behçet hastaları ve sağlıklı kontroller ile karşılaştırılacaktır. Çalışmaya dahil edilen hastalardan ve yaş uyumlu kontrollerden hastalığın aktif olduğu dönemde kan alınarak yoğunluk gradiyent santrifüj yöntemi ile periferik kan mononükleer hücre (PBMC), manyetik negatif seperasyon yöntemi ile nötrofil izolasyonu yapıldı. Akış sitometri ile ILC alt gruplarının ve LDN'lerin yüzdeleri belirlenirken uyarılan nötrofillerin ürettiği ve bir NETozis bulgusu olan nötrofil elastaz (NE) düzeyi ölçüldü. Elde edilen sonuçların analizleri SPSS ve Graphpad programları aracılığı ile yapıldı. Hastaların (n=20) yaşları 4 ve 13 yıl arasında değişmekte olup %55'i erkek ve %45'i kadındı. PFAPA hastalarında Behçet hastalarına ($p<0.01$) ve sağlıklı kontrol grubuna ($p<0.0001$) kıyasla daha fazla NETozis bulgusu saptandı. LDN yüzdesinin her iki hastalık grubunda da sağlıklı kontrole göre anlamlı şekilde yüksek olduğu görülürken ($p < 0.0001$) ILC1 seviyesi PFAPA hastalarında Behçet hastalarından daha yüksekti (sırasıyla $p < 0.001$ ve $p < 0.05$). Bu çalışmada, PFAPA hastalığındaki inflamasyonda NET üretiminin, LDN ve ILC1'in inflamasyonda katkısı olduğu bulunmuştur. Bu sonuçlar, PFAPA ve Behçet hastalıklarının patogeneziinde NETozis, LDN ve ILC1 hücrelerinin önemli rol oynadığını ve bu hücrel mekanizmaların anlaşılmasının, yeni tedavi stratejileri geliştirilmesinde kilit bir öneme sahip olduğunu göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Behçet Hastalığı, PFAPA, Nötrofil hücre dışı tuzakları, Düşük dansiteli granülositler, Doğal lenfoid hücreler

ABSTRACT

Aba, Ü. Evaluation of NETosis, Low-Density Neutrophils, and Innate Lymphoid Cells in PFAPA Patients Compared to Behçet's Disease Patients. Master's Thesis in Immunology Program, Hacettepe University Graduate School of Health Sciences Institute, Ankara, 2024. PFAPA (Periodic Fever, Aphthous Stomatitis, Pharyngitis, and Cervical Adenitis) Syndrome is an autoinflammatory disease characterized by recurrent fever, aphthous stomatitis, pharyngitis, and cervical lymphadenitis, primarily occurring in childhood, with an unclear immune pathogenesis. It is known that excessive neutrophil activity, the involvement of neutrophil extracellular traps (NETs) in pathogenesis, and the role of low-density neutrophils (LDNs) and innate lymphoid cells (ILCs) in immune responses are present in inflammatory and autoimmune diseases. The evaluation of these parameters in PFAPA disease is planned. In this study, the contribution of NET production to inflammation will be investigated by measuring NET production in 20 patients diagnosed with PFAPA at the Uludağ University Faculty of Medicine Pediatric Immunology-Rheumatology Clinic, and the percentages of LDN and ILC in the blood will be determined. The findings will be compared with those of Behçet's disease patients and healthy controls. Peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) were isolated using density gradient centrifugation, and neutrophils were isolated using the magnetic negative separation method from blood collected during the active phase of the disease from the patients and age-matched controls included in the study. The percentages of ILC subsets and LDNs were determined by flow cytometry, and the level of neutrophil elastase (NE), a marker of NETosis produced by stimulated neutrophils, was measured. The obtained results were analyzed using SPSS and Graphpad software. The ages of the patients (n=20) ranged from 4 to 13 years, with 55% being male and 45% female. In PFAPA patients, more evidence of NETosis was found compared to Behçet's disease patients ($p < 0.01$) and healthy control groups ($p < 0.0001$). While the percentage of LDNs was significantly higher in both disease groups compared to healthy controls ($p < 0.0001$), the ILC1 level was higher in PFAPA patients than in Behçet's disease patients ($p < 0.001$ and $p < 0.05$, respectively). In this study, it was found that NET production, LDN, and ILC1 contribute to inflammation in PFAPA disease. These results suggest that NETosis, LDNs, and ILC1 cells play an important role in the pathogenesis of PFAPA and Behçet's diseases, and understanding these cellular mechanisms is crucial for developing new therapeutic strategies.

Keywords: Behçet's Disease, PFAPA, Neutrophil Extracellular Traps, Low-Density Neutrophils, Innate Lymphoid Cells

İÇİNDEKİLER

ONAY SAYFASI	iii
ETİK BEYAN SAYFASI	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. Behçet Hastalığı	3
2.1.1. Epidemiyoloji	3
2.1.2. İmmün patogenez	4
2.1.3. Genetik yatkınlık	6
2.1.4. Klinik özellikler	8
2.1.5. Tedavi	10
2.2. PFAPA Sendromu	10
2.2.1. Epidemiyoloji	10
2.2.2. İmmün patogenez	10
2.2.3. Genetik yatkınlık	12
2.2.4. Klinik özellikler	12
2.2.5. Tedavi	12
2.3. Nötrofiller	13
2.3.1. Düşük Dansiteli Nötrofiller (LDN)	13
2.3.2. Nötrofil hücre dışı tuzakları (NET) ve NETozis	15
2.4. NET, NETozis ve Behçet Hastalığı	16
2.5. NET, NETozis ve PFAPA Sendromu	18
2.6. Doğal Lenfoid Hücreler (ILCs)	18
3. GEREÇ VE YÖNTEM	20
3.1. Hastalar ve sağlıklı kontroller	20
3.2. Kan alımı ve hücrelerin izolasyonu	20

3.3.	NET analizi	22
3.4.	LDN yüzdelerinin belirlenmesi	25
3.5.	ILC yüzdelerinin belirlenmesi	25
3.6.	İstatiksel yöntemler	28
4.	BULGULAR	29
4.1.	Hasta nötrofillerinde artmış NET üretimi	29
4.2.	Hastalarda artmış LDN yüzdeleri	29
4.3.	Hastalarda yüksek ILC1 seviyesi	30
5.	TARTIŞMA	33
6.	SONUÇ ve ÖNERİLER	39
7.	KAYNAKLAR	40
8.	EKLER	48
	Ek 1. Tez Çalışması ile İlgili Etik Kurul İzni	48
	Ek 2. Orijinallik Ekran Çıktısı	49
	Ek 3. Dijital Makbuz	50
9.	ÖZGEÇMİŞ	51

SİMGELER VE KISALTMALAR

AOSD	Adult-onset Still disease
APC	Antigen Presenting Cell
BD	Behçet's Disease
BH	Behçet Hastalığı
CD	Cluster of Differentiation
CRP	C-Reactive Protein
DAMP	Damage-Associated Molecular Pattern Molecule
DC	Dendritic Cell
EDTA	Ethylenediaminetetraacetic Acid
ELISA	Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
FMF	Familial Mediterranean Fever
GI	Gastrointestinal
HDN	High-Density Neutrophil
HLA	Human Leukocyte Antigen
HSP	Heat Shock Protein
IFN	Interferon
IL	Interleukin
ILC	Innate Lymphoid Cell
IRBP	Interphotoreceptor Retinoid-Binding Protein
KIR	Killer Ig-like receptors
LDN	Low-Density Neutrophil
MHC	Major Histocompatibility Complex
MPO	Myeloperoxidase
MSR	Macrophage Scavenger Receptor
NADPH	Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate
NBD	Neuro-Behcet's Disease
NE	Neutrophil Elastase
NET	Neutrophil Extracellular Trap
NK	Natural Killer
PAD	Peptidyl Arginine Deiminase
PAMP	Pathogen-Associated Molecular Pattern

PBMC	Peripheral Blood Mononuclear Cells
PBS	Phosphate Buffered Saline
PFAPA	Periodic Fever, Aphthous Stomatitis, Pharyngitis, Adenitis
PKC	Protein Kinase C
PMA	Phorbol-12-myristate-13-acetate
PMN	Polymorphonuclear Neutrophil
RA	Rheumatoid Arthritis
RPMI	Roswell Park Memorial Institute
ROS	Reactive Oxygen Species
SLE	Systemic Lupus Erythematosus
SPSS	Statistical Package for the Social Sciences
TH	T Helper
TGF	Transforming Growth Factor
TNF	Tumor Necrosis Factor

ŞEKİLLER

3.1 NET oluşumu ve analizi için diyagram (<i>NETosis Assay Kit Protocol, Cayman Chemicals</i>)	24
3.2 Pozitif kontrollerin ve negatif kontrolün hazırlanması (<i>NETosis Assay Kit Protocol, Cayman Chemicals</i>)	24
3.3 Nötrofil elastaz aktivitesi standart eğrisi	25
3.4 LDN yüzdelerinin akış sitometride kapılama stratejisi. LDN: <i>Low-density neutrophil</i>	26
3.5 ILC hücrelerinin akış sitometride kapılama stratejisi.	27
4.1 Behçet ve PFAPA hastalarında NET üretimi. NET: <i>Neutrophil extracellular traps</i> .	29
4.2 LDN yüzdeleri. LDN: <i>Low-density neutrophil</i> .	30
4.3 ILC1 yüzdeleri. ILC: <i>Innate lymphoid cells</i> .	31
4.4 ILC2 yüzdeleri. ILC: <i>Innate lymphoid cells</i> .	31
4.5 ILC3 yüzdeleri. ILC: <i>Innate lymphoid cells</i> .	32

TABLÖLÄR

1. GİRİŞ

İnflamatuvar hastalıklar, çeşitli etiyolojik faktörlerin birbiri ile karmaşık etkileşimleri ile karakterize edilirler. Vücudun yaralanma ve enfeksiyon gibi zararlı uyarılara verdiği doğal yanıt olan inflamasyon, bu hastalıklarda aşırı hale gelir ve bunun sonucunda doku hasarı ve çeşitli semptomlar ortaya çıkar.

PFAPA sendromu, çocuklarda en sık görülen periyodik ateş durumudur ve otoenflamatuvar hastalıklar grubunda sınıflandırılır (1). Temel semptomlar olan ateş, aftöz stomatit, farenjit ve servikal adenitin yanı sıra, deri tutulumu, atralji, artrit, gastrointestinal semptomların yanında nörolojik belirtiler de görülebilir (2). PFAPA genellikle doğal bağışıklık sisteminin disfonksiyonu nedeniyle ortaya çıkan inflamasyon atakları ile karakterize multisistemik bir hastalık olarak sınıflandırılmaktadır. PFAPA sendromunun immün patogenezi henüz tam olarak aydınlatılamamıştır. Behçet Hastalığı, kronik ve tekrarlayan bir vaskülit olarak tanımlanan ve genellikle ağız yaraları, genital ülserler, deri lezyonları ve göz iltihapları ile kendini gösteren multisistemik bir hastalıktır (3). PFAPA ve Behçet Hastalığı benzer inflamatuvar koşullar ve fenotipik özelliklerle seyreden ve kimi araştırmacılar tarafından Behçet spektrum bozuklukları (Behcet's spectrum disorders) olarak gruplandırılan hastalıklardır (2).

PFAPA sendromunda, ateş atakları sırasında inflamatuvar yanıt artar ve nötrofiller bu yanıtın önemli bir bileşenidir. Nötrofillerden salgılanan NET yapısının SLE ve RA gibi farklı otoenflamatuvar hastalıklarda artmış inflamasyona katkısı olduğu bilinmektedir (4). LDN'ler de nötrofillerin daha düşük yoğunlukta olan bir alt grubudur (5). İnflamatuvar yanıtların ve doku hasarının artmasına katkıda bulunan pro-inflamatuvar sitokinler ve NET'ler üretirler. ILC'ler ise enfeksiyonlar, inflamatuvar bozukluklar, otoimmün hastalıklar ve kanser gibi hastalıklarda önemli bir rol oynarlar (6). PFAPA sendromunda LDN'lerin ve ILC'lerin rolü araştırılmaya devam edilmektedir ve bu hücrelerin inflamatuvar yanıt ve hastalık patogenezine katkıda bulunduğu düşünülmektedir.

Bu çalışmada; Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları bölümünde takip edilmekte olan PFAPA tanılı hastaların nötrofillerinin ürettiği NET

düzeyi ölçülecek ve ILC hücre alt gruplarının ve LDN'lerin yüzdeleri belirlenecektir. Bu sonuçlarla birlikte PFAPA hastalarında hastalığın aktif olduğu dönemde NET üretimi ölçülerek NETozis miktarının gösterilmesi ve hastaların kan dolaşımında bulunan ILC alt grupları ve LDN yüzdelerinin verilmesi amaçlanmıştır. Bu çalışma, PFAPA sendromunda inflamatuvar süreçlerin ve immün profilin anlaşılmasına katkıda bulunarak tedavi stratejilerinin kişiselleştirilmesine yardımcı olabilir. Ayrıca, NETozis ve LDN ve ILC hücrelerinin biyomarker olarak kullanılabilirliği, hastalığın izlenmesini ve yönetimini daha etkili hale getirebilir. Elde edilecek bulguların PFAPA'nın patogenezi için mevcut bilgileri genişleterek hem klinik uygulamalar hem de bilimsel araştırmalar için değerli bir temel oluşturacağı düşünülmüştür.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Behçet Hastalığı

BH'nin ilk olarak tanımlanmasında oral ve genital mukozalarda aftöz lezyonlar ve üveit klinik bulguları göz önünde bulundurulmuş ve sistemik bir vaskülit olarak tanımlanmıştır (3). Bu hastalık, tarihi İpek Yolu boyunca yaşayan toplumlarda en yüksek insidansa sahiptir. BH'nin etiyopatogenezi elde edilen bilgilerin birikimi sonucu aydınlatılmaya çalışılsa da hastalığa neden olan mekanizmalar hakkında birçok belirsizlik bulunmaktadır. Çeşitli enfeksiyöz ve çevresel etmenlerin tetiklemesi sonucu genetik yatkınlığı olan bireylerde hastalığı ortaya çıkabileceği düşünülmektedir. Hastalık genellikle genç yetişkinlik döneminde ortaya çıkmaktadır ve hastaların %15-20'sinin çocukluk döneminde geliştiği bilinmektedir (3). Pediatrik BH, sadece hastalığın başlangıç yaşıyla değil, aynı zamanda klinik bulguların sıklığı, hastalık şiddeti ve sonuçlarıyla da yetişkin BH'den farklılık gösterir. Pediatrik hastalarda gastrointestinal sistem tutulumu, nörolojik bulgular, artralji ve ailede hastalığın görülmesi daha yaygınken, yetişkin hastalarda genital lezyonlar ve vasküler lezyonlar daha yaygındır (3).

2.1.1. Epidemiyoloji

BH ilk olarak 1937 yılında 20. Yüzyılın en önemli Türk dermatologlarından biri olan Dr. Hulusi Behçet tarafından tanımlanmıştır ve hastalığın belirtilerini ve klinik seyrini detaylı bir şekilde tanımlayarak, tıp dünyasında önemli bir katkı sağlamıştır (7). BH'ye sahip olan hastaların çoğunluğu İpek yolu üzerindeki ülkelerde bulunmaktadır (7). Türkiye, bu hastalığın en sık görüldüğü ülkelerden biridir (% 0.6) (7). Pediatrik BH'nin görülme sıklığı kesin olmamakla birlikte etnik kökene bağlıdır. Hastalığın belirtileri genellikle 5 ila 12 yaş arasında ortaya çıkmaktadır (3). Pediatrik BH'nin başlangıç yaşı, hastaların klinik seyri ve belirtilerinin dağılımı üzerine yapılan çalışmalar, hastalığın tanı ve tedavi süreçlerini yönetmek için önemlidir. Yetişkinlerde olduğu gibi, çocuklarda da BH her iki cinsiyette eşit oranda görülmektedir (8). Ancak klinik belirtilerin sıklığı ve şiddeti cinsiyete göre farklılık gösterse de erkeklerde hastalığın daha ağır seyrettiği ve şiddetli üveit ile vasküler hastalıkların daha yaygın olduğu bilinmektedir, buna karşın genital aftlar ve eritema nodozum kız çocuklarında daha sık görülmektedir (8). Cinsiyet ve coğrafi bölge farklarının hastalığın seyrini nasıl

etkilediği konusundaki bu bulgular, daha hedeflenmiş ve etkili tedavi stratejilerinin geliştirilmesine katkı sağlayabilir.

2.1.2. İmmün patogeneze

BH gelişiminde özellikle genetik yatkınlığı olan hastalarda çevresel faktörlerin tetikleyici rol oynayabileceği bilinmektedir. Bu faktörler arasında bakteriyel ve viral enfeksiyonlar ve otoantijenlerin varlığı yer almaktadır. BH etiyojisinde araştırılan ana bakteriler arasında Streptokok sanguis, Helikobakter ve mikoplasma bulunurken viral enfeksiyonlar arasında ise herpes simpleks virüsü 1, Epstein-Barr virüsü, hepatit ve sitomegalovirüs bulunmaktadır (9). BH hastalarından en sık izole edilen mikroorganizma Streptokoktur. Otoantijenlerin de moleküler taklit yoluyla BH'nin gelişiminde önemli bir rol oynadığı gösterilmiştir. Gözlemlenen otoantijenler arasında 60 kDa ve 70 kDa büyüklüğünde olan ısı çok proteinleri (HSP), S antijeni, interfotoreseptör retinoid bağlayıcı protein (IRBP), α -tropomiyozin ve $\alpha\beta$ -kristalin bulunmaktadır (9).

BH, bağırsak, ağız ve konjunktival mikrobiyotadaki değişikliklerle de ilişkili olabilen kompleks bir patogeneze sahiptir. Bu değişiklikler, hastalığın klinik belirtilerini ve seyrini etkileyebilir. Bu nedenle, BH hastalarının tedavisinde mikrobiyal faktörlerin belirlenmesi hastalığın ilerlemesinin önlenmesinde önemlidir. BH'ye duyarlı olan kişiler beslenme yoluyla da tetiklenebilir çünkü beslenme, bağırsak mikrobiyotasını etkilemektedir. Yapılan alışmalar Behçet hastalarının bağırsak mikrobiyata kompozisyonunda Ailevi Akdeniz Ateşi (AAA) ve Crohn Hastalığı'na (CH) sahip olan kişilerinki ile karşılaştırıldığında farklılıklar görüldüğünü vurgulamaktadır (10). Gastrointestinal semptomlar gösteren hastaların üçte birinden fazlasında ince bağırsakta aşırı bakteriyel büyüme gözlenmiş ve bu hastaların tedavisinde rifaksimin antibiyotiği kullanılmış olup çoğunun semptomlarında iyileşme gözlenmiştir. Bu semptomların nedenleri; değişen mikrobiyal topluluklar tarafından üretilen dinamik proteinler ve metabolitlerin otoantijenleri taklit edebileceği, bu değişim sonucu nükleik asit ve yağ asidi sentezinin etkilenmesi gibi olumsuz değişiklikler olabilir. Çeşitli alışmalarda Behçet hastalarında ağız mikrobiyomundaki değişiklikler de değerlendirilmiştir (11, 12). Ağız ülserlerinin varlığı, mikrobiyotadaki dengesizlikleri ve spesifik bakteri türlerinin kompozisyonundaki değişiklikleri

tetikleyebilir. Aktif oral ülserleri olan hastalarda sağlıklı kontrollere kıyasla daha belirgin Streptokok kolonizasyonu gözlenmiştir. Bir çalışmada ise oral ülser varlığında *Veillonella* bakterisinin belirgin şekilde azaldığını göstermiştir. *Veillonella*'nın azalması, ağız ülserlerinin varlığının bir göstergesi olarak değerlendirilebilir. Streptokok artışı ve *Veillonella*'nın azalması, BH gibi durumlarda ağız sağlığı ve mikrobiyotanın rolünün anlaşılmasında önemli ipuçları sağlayabilir (11). Oral ülserlerde gözlenen bakteri bileşenleri, $\gamma\delta$ T hücrelerinin aşırı çoğalmasını tetiklemiş ve aktif hastalık döneminde bu hücrelerin periferik kanda artmasına neden olmuş olabilir (9).

BH'de NK hücreleri, nötrofiller ve $\gamma\delta$ T hücrelerinin rolü önemlidir. NK hücreleri, sitokinlerin salgılanmasını ve diğer bağışıklık hücrelerinin aktivitesini düzenleyerek hastalıkta aktif rol oynar (13). Nötrofiller, artan aktiviteleri, NET ve reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretimi yoluyla doku hasarına ve iltihaplanmaya neden olur (14). Öte yandan $\gamma\delta$ T hücreleri, pro-inflamatuar sitokinler üreterek ve Th1 ve Th17 hücrelerini aktive ederek inflamatuvar yanıtı güçlendirir (9). NK hücreleri doğuştan gelen bağışıklık sisteminin ana bileşenleridir ve enfekte hücreler ve tümör hücreleri üzerinde sitotoksik etkiler sergilerler. Sitokinler ayrıca dendritik hücreler ve T hücreleri gibi diğer bağışıklık hücrelerinin fonksiyonunu düzenlemek için de salgılanır. Behçet hastalarında NK hücre sayıları azalır ve sitotoksiteleri bozulur. Behçet hastalarının kanındaki NK hücrelerinin azalması, bu hücrelerin inflamatuvar ortamlara toplandığını ve Th1 sitokin üretimi yoluyla doku inflamasyonunu arttırdığını düşündürmektedir (13). NK hücreleri ayrıca NK1 ve NK2 subsetlerine ayrılır (15). NK1, IFN- γ salgılayarak Th1 baskınlığını artırırken, NK2 hücreleri, Th1 yanıtlarını düzenleyerek bağışıklık yanıtını kontrol edebilir. $\gamma\delta$ T hücreleri ise otoimmün yanıtların düzenlenmesinde önemli bir rol oynar. Normal şartlarda periferik lenf düğümlerinde az miktarda bulunmasına rağmen enfeksiyon sırasında hızla çoğalabilirler. Aktif Behçet hastalarında $\gamma\delta$ T hücrelerinin sayısı ve aktivasyonu yüksektir (16-18). Bu hücreler hem proinflamatuvar sitokinler üreterek hem de Th1 ve Th17 hücrelerin aktivasyonunu tetikleyerek inflamatuvar yanıtı güçlendirir (9). Aktif Behçet hastalarında bu hücreler, artan CD69 ekspresyonu ve IFN- γ ve TNF-a üretimi ile ilişkilidir (19). Değişen fonksiyon ve gelişmiş $\gamma\delta$ T hücresi proliferatif yanıtları, Behçet hastalarındaki fonksiyonel değişikliklerin göstergesidir. Nötrofiller ise

enfeksiyona karşı ilk savunma hattıdır ve mikroorganizmaları yok ederek konakçıdaki hücre ve dokulara zarar verebilir. Behçet hastalarında nötrofillerin aktivasyonu artarak vasküler inflamasyona neden olur (20). Bu hücreler yüksek seviyede IL-1 α , IL-1 β , IL-6, TNF- α gibi pro-inflamatuar sitokinler ve TGF- β ve IL-10 gibi anti-inflamatuar sitokinler üretirler (21). Behçet hastalarında nötrofiller oksidatif stres yoluyla doku hasarına ve inflamasyona neden olur (20).

BH patogenezinde Th1, Th17 ve Th22 hücreleri de önemli rol oynamaktadır (9). Th1 hücrelerinin ürettiği IL-2, IL-12, IL-18 ve IFN- γ gibi sitokinler aktif Behçet hastalarında yüksek seviyelerde bulunur (22-27). Bu sitokinler inflamasyonu artırarak BH semptomlarını şiddetlendirmektedir. Th17 hücreleri otoimmün hastalıklarda önemli bir rol oynar ve BH'de inflamasyonu ve bağışıklığı düzenler. Aktif Behçet hastalarında Th17 hücrelerinin ve ilgili sitokinlerin (IL-17A, IL-17F, IL-21, IL-22 ve IL-23) seviyeleri daha yüksektir (28-30). Th22 hücreleri IL-22 ve TNF- α salgılar ve otoimmün hastalıklarda önemli rol oynar (31, 32). 38 yetişkin Behçet hastasında yapılan bir çalışmada, hastalığın aktif olduğu dönemde uyarılan PBMC'lerin yüksek miktarda IL-22 ürettiği gözlemlenmiş ve IL-22 üreten yardımcı T hücrelerinin sayısında artış gözlenmiştir (33).

2.1.3. Genetik yatkınlık

Genetik faktörlerin BH üzerindeki rolü geniş çapta araştırılmış olup, HLA-B*51 alelinin hastalık için birincil risk faktörü olduğu belirlenmiştir (4). İpek Yolu üzerindeki ülkelerde, genel popülasyonun %20-25'i (34) ve Behçet hastalarının %50-80'i HLA-B*51 alelini taşımaktadır (35). Türkiye'de, Behçet hastalarında HLA-B*51 alelinin görülme sıklığı yüksek olup, %54 ile %82 arasında değişmektedir (36). HLA-B*51 alelini taşıyan bireylerde, BH gelişme riski yaklaşık 6-10 kat artmakta olup HLA-B*51 taşıyıcıları için risk oranı yaklaşık %6'dır (34, 37, 38). MHC bölgesi, kromozom 6'nın kısa kolunda yer alır ve doğuştan ve sonradan kazanılmış bağışıklık yanıtlarında yer alan birçok molekülü kodlar (39). HLA genleri MHC gen bölgesinde bulunur ve yüksek derecede polimorfiktir. HLA molekülleri, HLA sınıf I antijenleri ve HLA sınıf II antijenleri olmak üzere iki farklı sınıfa ayrılır. HLA sınıf I antijenleri, merkezi sinir sistemi hücreleri hariç tüm çekirdekli hücrelerde ve trombositlerde ifade edilirken, HLA sınıf II antijenleri, B lenfositler, dendritik hücreler (DC), makrofajlar,

monositler, Langerhans hücreleri, endotelial hücreler ve timik epitelyal hücreler gibi antijen sunan hücrelerde (APC) ifade edilir (40). HLA sınıf I antijenleri, hücre içinde bulunan peptitlere bağlanarak bu peptitleri sitotoksik CD8+ T hücrelerine sunar ve bu görev, hücre içi enfeksiyonlara ve tümör hücrelerine karşı bağışıklık yanıtlarının düzenlenmesinde önemli bir rol oynar. HLA sınıf II antijenleri ise hücre dışı peptitlere bağlanarak bu peptitleri Yardımcı CD4+ T hücrelerine sunar. Bu görevler vücudun enfeksiyonlara karşı savunmasında ve immünolojik homeostazın korunmasında kritiktir (40). HLA-B*51 aleli ise HLA sınıf I'e ait olup 8-11 amino asit uzunluğundaki peptitlere bağlanıp bunları CD8+ T hücrelerine sunabilir (41).

Bir çalışma, farklı HLA sınıf I moleküllerinden elde edilen peptitlerin analizleri, HLA-B*51 kaynaklı peptitlerin büyük bir kısmının bağlanma afinitesinin düşük olduğunu göstermiştir (42). Dolayısıyla, bu sonuçlar doğrultusunda HLA-B*51 molekülünün antijen bağlanma yarığında daha çeşitli ve fazla peptidin bağlanması çıkarımı yapılmıştır. Düşük afiniteli peptitlerin bağlanmasıyla timusta gerçekleşen ve immün repertuvarında önemli olan pozitif seleksiyon etkilenir ve T hücre repertuarının daha zengin olmasına yol açar. Bu durum, daha çeşitli mikrobiyal antijenlere yanıt verme kapasitesi ile ilişkilendirilebilir. HLA-B*51'in bu özelliği, bağışıklık sisteminin patojenlere karşı daha geniş kapsamlı bir yanıt geliştirmesine neden olabilir. Ancak, bu kapasitenin otoimmün reaksiyonların artmasına da neden olabileceği göz ardı edilmemelidir.

HLA-B*51'in peptitlere zayıf bağlanma özelliği çeşitli ve çok sayıda peptidin CD8+ T hücrelerine sunulmasına neden olur. Bu durumda BH'ye özgü sitotoksik adaptif bağışıklık yanıtını başlatabilir. HLA-B*51, katil immünoglobulin benzeri reseptör (KIR) ailesine ait NK hücre reseptörleriyle de etkileşime girebilir. Bu reseptörler, sadece NK hücrelerinde değil aynı zamanda CD8+ ve $\gamma\delta$ T hücrelerinde de ifade edilir ve bu da NK veya T hücre aracılı sitotoksitenin inhibisyonunu veya aktivasyonunu düzenlemeye yardımcı olur (43). Özellikle, HLA-Bw4 epitopu ile KIR3DL1 gibi inhibitör KIR reseptörleri arasındaki etkileşim, NK hücrelerinin aktivitesini inhibe ederek kişinin kendi dokularının zarar görmesini önleyebilir. Ancak, bu inhibitör sinyallerin eksik veya yetersiz olduğu durumlarda, NK ve T hücreleri kendi dokularına saldırabilir ve bu da otoimmün reaksiyonlara ve BH gibi

hastalıkların gelişimine katkıda bulunabilir (43). Bu bağlamda, HLA-B*51'in KIR reseptörleriyle etkileşimi, BH'nin patogeneğinde önemli bir mekanizmadır.

2.1.4. Klinik özellikler

Mukokutanöz lezyonlar

BH'de en sık görülen belirti, çocuklarda %96-100 oranında görülen tekrarlayan oral lezyonlardır (7). Bu ağrılı, ülser olmayan dış eti lezyonları yapışkan, kırmızı şişlikler olarak karakterize edilir ve genellikle dilde veya dış etlerinde görülür. Bu lezyonlar sıklıkla teşhis konulmadan yıllar önce başlar. Genital siğiller yetişkinlerin %57-93'ünde görülür ve en sık rahimde veya testislerde bulunur (7). Oral ülserlerin aksine genital ülserler derin ve düzensiz olma eğilimindedir. Peptik ülserler çocuklarda erişkin hastalara göre daha az görülür. Hastalığın seyri sırasında yaygın görülen deri lezyonları arasında eritema nodozum, papülopüstüler lezyonlar, purpura ve folikülit yer alır. Bu lezyonlar pediatrik vakaların %37,3-66'sında rapor edilmiştir (7).

Kas-iskelet sistemi tutulumu

BH'de kas-iskelet sistemi tutulumu bulguları pediatrik hastaların %20-40'ında bildirilir ve sıklıkla hastalığın ilk belirtisi olarak kabul edilir (44). En sık etkilenen bölgeler eklemler, diz ve ayaktır (45). BH'nin eklem bulguları oligoartiküler veya poliartiküler yapı şeklinde olabileceği gibi sakroiliak eklem tutulumu ve entesopati de görülebilmektedir (46).

Göz tutulumu

BH'nin en önemli patolojik özelliklerinden biridir ve pediatrik Behçet hastalarının %14-66'sında rapor edilmiştir (7). Hastalığın seyri sırasında herhangi bir zamanda ortaya çıkabilmesine rağmen genellikle tanı konulduktan sonraki 2-3 yıl içinde ortaya çıkar (47). Çocuklarda göz tutulumunun yetişkinlere göre daha az görüldüğünü bildirmiştir (48). Göz tutulumu olan hastalarda yaygın bulgular arasında bulanık görme, oküler ağrı, ışığa duyarlılık ve gözde kırmızılık vardır (49). Bilateral posterior üveit, BH'de en sık görülen oküler tutulumdur (44).

Nörolojik sistem tutulumu

BH olan çocukların %3,6-59,6'sında nörolojik sistem tutulumu rapor edilmiştir (7). Periferik sinir tutulumu görülmesi ise çocuklarda nadirdir. Parankimal lezyonlar sıklıkla beyin sapı, bazal ganglionlar, omurilik ve serebral beyaz cevheri etkilemektedir (50). Pediatrik NBD'nin ciddi ve ilerleyici kronik etkileri vardır. Akut belirtiler arasında tekrarlayan aseptik menenjit ve meningoensefalit yer alır. Ayrıca ani başlayan baş ağrısı, papilödem, hemiparezi, ataksi ve nöbetler de ortaya çıkabilir. Kronik parankimal bulgular genellikle geri dönüşümsüzdür ve çoğunlukla hafıza kaybı, depresyon, anksiyete ve psödobulber sendrom gibi nöropsikiyatrik durumları etkiler (44).

Vasküler tutulum

BH, tüm damar boyutlarını ve tiplerini etkileyebilse de, sinir sistemi tutulumu sıklıkla hastalığın seyri sırasında ortaya çıkar (51). Çocuklarda damar tutulumu görülme sıklığı %1,8-21 arasında bildirilmekte olup, BH'de en sık görülen damar tutulumu alt lenf düğümleridir (7). Sinir tutulumu görülme sıklığı erişkin hastalarda %3-12, pediatrik olgularda ise %1,8-14,7 olarak bildirilmektedir (7). Pulmoner arter anevrizması BH'de karşılaşılan en sık ölüm nedenidir (52). Pulmoner arter anevrizması ile birlikte arteriyel sistemdeki darlık, psödoanevrizma ve tıkanmanın da meydana geldiği bildirilmektedir (52).

Gastrointestinal (GI) sistemi tutulumu

Çocuklarda gastrointestinal tutulumun yetişkinlere göre daha yaygın olduğu rapor edilmiştir (7). Gastrointestinal semptomlar genellikle oral ülserlerin başlangıcından 4,5-6 yıl sonra başlar (53). Yemek borusunun herhangi bir yerinde mukus lezyonları oluşabilir, ancak ileoçekal kısım en sık etkilenen bölgedir (54). Yaygın semptomlar arasında karın ağrısı, bulantı, kusma, hazımsızlık, mide bulantısı ve mide-bağırsak kanaması yer alır (55).

2.1.5. Tedavi

BH, özellikle kutanöz ve oküler tutulumu olan hastalarda randomize kontrollü çalışmaların azlığı nedeniyle tedavide zorluklar ortaya koymaktadır. Apremilast ilacı oral ülserler için güvenli ve etkili bir alternatif olarak kabul edilmektedir (56). Azatiyoprin hem majör organ hastalıkları hem de kutanöz ateroskleroz için birinci basamak immünsüpresif ilaç olarak kullanılmaktadır (57). TNF-a inhibitörlerinin, oftalmik, nörolojik, kas-iskelet sistemi ve mide-bağırsak hastalıkları gibi hafif majör organ tutulumlarının tedavisinde etkin olduğu gösterilmiştir (58, 59). Ayrıca IFN- α da tedavide kullanılmış ve etkili sonuçlar alınmıştır. Bu sitokin doğal olarak immün sistemi düzenleyici özelliklere sahiptir. IFN- α -2a veya IFN- α -2b ile tedavi edilen 338 hastanın kas sistemi rahatsızlığı olanlarda semptomların kısmi olarak düzeldiği görülmüştür (60).

2.2. PFAPA Sendromu

Periyodik ateş, aftöz stomatit, farenjit ve servikal adenit sendromu (PFAPA), çocuklarda en sık görülen periyodik ateş durumudur ve otoinflamatuar hastalık grubunda tanımlanır (61). Deri tutulumu, atralji, artrit, gastrointesinal ve nörolojik semptomların da görüldüğü bilinmektedir. PFAPA genel olarak, doğal immün sistem disregülasyonu nedeniyle ortaya çıkan inflamasyon atakları ile karakterize multisistemik bir hastalık olarak sınıflandırılmaktadır.

2.2.1. Epidemiyoloji

Gerçek prevalans ve etiyoloji bilinmemektedir, ancak bir İskandinav çalışmasında insidansın 10.000 çocukta 2.3 olduğu tahmin edilmiştir (61).

2.2.2. İmmün patogenezi

Her ne kadar çeşitli çalışmalar PFAPA Sendromunun patogenezi farklı metotlar kullanarak araştırmış olsa da, bu bağışıklık tepkilerinin altında yatan kesin mekanizmalar bilinmemektedir ve hala araştırılmaktadır. Hastalığın başlangıcı genellikle 5 yaşından önce olur, ataklar 3 ila 7 gün sürer ve her 2 ila 8 haftada bir tekrarlar (61). Hastalar ataklar arasında asemptomatiktir ve normal büyüme ve gelişme gösterirler. Bu ataklar sırasında görülen yüksek ateş, kardinal belirtiler ile ilişkilidir. Bu belirtiler aftöz stomatit, farenjit ve servikal adenittir ve yüksek ateşe bunlardan en

az biri sebep olabilir (61). Ek olarak, baş ağrısı, gastrointestinal semptomlar, döküntü ve eklem ağrısı gibi belirtiler de bulunabilir ancak bu belirtiler her zaman gözlenmez (62). Ataklar sırasında laboratuvar bulguları, artmış C-reaktif protein (CRP) ve fibrinojen seviyelerini gösterir (63, 64). Bazı hastalarda serum IgD seviyesi yüksek olabilir (65, 66). Mutlak monosit ve nötrofil aktivasyonunda da bir artış vardır (67). Enfeksiyöz ve otoimmün mekanizmalar, PFAPA'nın etiolojisinde bulunmaktadır ancak kesin nedeni henüz tanımlanamamıştır. PFAPA'nın patogenezi ile ilişkili önerilen kavramlar arasında enfeksiyon ve anormal bağışıklık yanıtları bulunmaktadır. Son bulgular, PFAPA'nın sitokin disfonksiyonu ile karakterize edilen ve çevresel uyaranlara sahip olan bir hastalık olduğunu kuvvetle öne sürmektedir.

Stojanov ve arkadaşlarının (68) yaptığı bir çalışma, 21 PFAPA hastasında atak sırasında en fazla ifade edilen genler arasında kompleman genleri ve genellikle IFN tarafından indüklenen veya IFN sinyal iletimi ile ilişkili transkriptler olduğunu göstermiştir. Ayrıca birkaç (IL-1 IL-1B, IL-1RN, CASP1, IL18RAP) ve inflamazom ile ilişkili (AIM2, IP-10/CXCL10) genin PFAPA alevlenmeleri sırasında yüksek düzeyde ifade edildiği de görülmüştür. Serumlarında IL-18 ve IL-6 gibi proinflamatuvar sitokinlerin de yüksek olduğu bildirilmiştir. Bu bulgular, PFAPA atakları sırasında kompleman ve IL-1 β ve IL-18 aktivasyonu ile birlikte doğal bağışıklık sisteminin inflamazom aracılı uyarılması sonucunu gösterir çünkü inflamazomlar kaspaz-1'i aktive ederek IL-1 β ve IL-18 sitokinlerinin salgılanabilir durumda olmasını sağlarlar (69). Diğer çalışmalarda da yaklaşık 60 ataklı PFAPA hastasının plazmasında önemli derecede yüksek IL-1 β ve IL-6 düzeyleri gözlemlenmiştir (67, 68, 70). IL-1 β gibi, IL-6 da akut faz proteinlerinin üretimini ve yüksek ateşi indükleyen önemli bir proinflamatuvar sitokindir (71). Makrofajlar, dendritik hücreler ve monositler, IL-6'nın en önemli kaynaklarıdır (71).

PFAPA atakları sırasında T hücresi ile ilişkili transkriptlerin (CD3, CD8B) azaldığı görülmüştür (68). NLRP3 inflamazomunun ise hastalığın patogenezi içinde rol oynadığı öne sürülmüştür (72). PFAPA hastalarında atak sırasında elde edilen polimorfonükleer lökositler (PMN), yüksek hücre içi NADPH oksidaz türevli reaktif oksijen türleri (ROS) seviyeleri ürettiği çalışmalarda gösterilmiştir (73).

2.2.3. Genetik yatkınlık

Otoinflamatuvar hastalıkların çoğu monogenik kalıtım göstermektedir (74). PFAPA'nın patogenezinde ise genetik kalıtımın rolü hala tartışmalıdır. Bazı çalışmalar, hastalığın genetik bir temele sahip olmadığını savunurken, diğer çalışmalar ise tam tersini iddia etmektedir. Çeşitli çalışmalarda MEFV, TNFRSF1A, MVK ve NLRP3 gibi monogenik inflamatuvar hastalıklara neden olan genlerdeki bazı varyantlar PFAPA ile ilişkilendirilmiş ve risk faktörleri olarak tanımlanmıştır (72). Bu nedenle, PFAPA monogenik bir hastalık olmasa da kompleks bir genetik bozukluk olarak tanımlanmaktadır.

2.2.4. Klinik özellikler

Hastalar genellikle 4 yaş civarında başlayan, 3 ila 7 gün süren ve her 2 ila 8 haftada bir ortaya çıkan tekrarlayan yüksek ani ateş atakları ile hastaneye başvururlar (61). Ateş derecesi 39°C ve 40°C arasındadır. Ateş dışında en sık görülen semptom, sıklıkla eritematöz veya eksüdatif olarak tanımlanan ve hastaların %90'ından fazlasında mevcut olan boğaz ağrısıdır. Bademcikler sıklıkla normal veya büyümüş olarak görülür. Bu fiziksel bulgu PFAPA tanısında önemli olsa da bazen gözden kaçabilmektedir. İkinci en yaygın bulgu ise hastaların %53-94'ünde görülen servikal adenittir (61). Son olarak hastaların %50'sine varan oranda aftöz lezyonlara rastlanır. Bu lezyonlar genellikle yaklaşık 1 cm çapındadır ve ağızda bulunur.

Belirgin belirti ve semptomların yanı sıra hastalarda hafif karın ağrısı, kas ağrıları, baş ağrıları ve mide bulantısı da görülebilir. Literatürde hastaların yaklaşık %60'ında PFAPA ataklarının semptomları olarak yorgunluk, baş ağrısı, karın ağrısı veya sinirlilik de rapor edilmiştir (75, 76). Belirti ve semptomlar yetişkin ve pediatrik hastalar arasında farklılık gösterebilir; özellikle eklem ağrısı, kas ağrısı ve baş ağrıları yetişkinlerde daha yaygın olabilir (61). Çeşitli çalışmalar, PFAPA'lı hastaların aile üyelerinde de bu hastalığın bulunması, hastalığa sahip olma olasılığının yüksek olduğunu göstermiştir ve ailesel PFAPA vakalarının çoğunda otozomal dominant kalıtım gözlenmiştir (61).

2.2.5. Tedavi

Genellikle parasetamol, ibuprofen, asetilsalisilik asit ve metamizol gibi anti-

inflatuar ilaçlara ve antibiyotiklere çoğu hastada yanıt vermeyen bir durum olan PFAPA sendromunda, tedavi edilmediği takdirde ateş yaklaşık 5. günde normale döner (77, 78). Bu hastalar, uzun yarılanma ömrüne sahip tek doz prednizolon veya betametazon tedavisinden sonra 2-4 saat içinde en iyi yanıtı verirler (76, 77, 79, 80). PFAPA'nın mevcut tedavisinde kolşisin blokajlı tek doz steroidler ve ciddi vakalarda IL-1 inhibitörleri önerilmektedir (75). PFAPA'nın tedavisi günümüzde hala tartışmalıdır.

2.3. Nötrofiller

Nötrofiller, kan dolaşımında en fazla bulunan granüositler olup doğal bağışıklık sisteminde görevli hücrelerdir (81). Hücre çekirdekleri genellikle 3 ila 5 lobülden oluşur bu yüzden polimorfonükleer lökositler (PMN) olarak adlandırılırlar. Kemik iliğinde üretildikten sonra kan dolaşımına giren nötrofiller, enfeksiyon olan bölgelere kemotaksis yoluyla göç ederler. Nötrofillerin en temel öldürme mekanizması fagositoz olup hücre içine aldıkları patojenleri ve patojen ilişkili molekülleri granüllerinde bulunan enzimler yoluyla ve reaktif oksijen türleri (ROS) üretimiyle inaktif hale getirirler (82). Bu granüller nötrofil elastaz (NE), asit hidrolaz, miyeloperoksidaz (MPO) ve lizozim gibi antimikrobiyal enzimler içerir. Nötrofiller ayrıca çeşitli sitokinler üreterek diğer immün sistem hücreleri ile haberleşir ve onların aktif hale gelmesine yardımcı olur (83). Nötrofillerin bir diğer savunma mekanizması ise hücre dışı tuzak (NET) üretimidir. Nötrofil ekstraselüler tuzaklar yani NET'ler, proteinlerle ilişkili yoğun nükleer kromatinden oluşur ve inflamatuvar yanıt sırasında nötrofiller tarafından hücre dışına salınır. Salınan NET'ler patojenleri yakalar, yayılmalarını önler ve yoğun kromatin ile ilişkili antimikrobiyal peptitler ve proteinler aracılığıyla onları öldürebilir (84).

2.3.1. Düşük Dansiteli Nötrofiller (LDN)

Nötrofil alt gruplarından biridir ve ilk olarak 1986 yılında tanımlanmıştır (85). Olgun nötrofiller genellikle kırmızı kan hücre fraksiyonunda ortaya çıkarken LDN'ler, yoğunluk gradient santrifüj yöntemi ile izole edilen kan hücrelerinde periferik kan mononükleer hücre tabakasında ortaya çıkmıştır. İlk olarak sistemik lupus eritematozus (SLE) ve romatoid artrit (RA) hastalarında proinflamatuvar özelliği ile keşfedilmiştir (86). Daha sonra, LDN'lerin varlığı çoğunlukla kronik hastalıklarda

olmak üzere birçok çalışmada gösterilmiştir. LDN'lerin normal yoğunluklu granüositlere kıyasla daha az segmente olmuş çekirdeklere sahip olduğu gözlenmiştir. Fenotipik olarak, LDN'ler, yüksek yoğunluklu nötrofiller (HDN) ile aynı CD moleküllerini ifade eder, ancak CD15, CD11b ve CD66b ifadeleri LDN'lerde daha yüksektir (87). SLE hastalarında LDN'lerde yüksek düzeyde ifade edilen genler arasında çeşitli serin proteazlar, bakterisidal proteinler ve nötrofillerin inflamatuvar yanıtların düzenlenmesinde yer alan azürofilik granüllerde bulunan diğer moleküller yer almaktadır. Bulgular, LDN'lerin daha olgunlaşmamış bir fenotipe sahip olduğunu göstermektedir (88).

Degranülasyon ve/veya NETozis yoluyla proteaz salınımının yanı sıra, nötrofiller enfeksiyon bölgelerine göç ettiklerinde pro-inflamatuvar sitokinler de sentezleyebilirler. Lupus nefritinde TNF- α 'nın aşırı ifadesi gözlenmiştir ve bu durum böbrek hasarında önemli bir rol oynayabilir (89-91). LDN'lerde IL-8 ve IL-6 salınımı düzeyleri, kontrol nötrofilleriyle karşılaştırıldığında daha yüksek bulunduğu ve bu durumun SLE'de inflamatuvar yanıtların ve doku hasarının artmasına katkıda bulunabileceği gösterilmiştir (87). Ayrıca, LDN'lerin sağlıklı kontrol nötrofilleri ve lupus nötrofilleri ile karşılaştırıldığında Tip 1 interferon salınımının artmış olduğu da gösterilmiştir. Ayrıca, LDN'lerin NET üretme kapasitelerinin olduğu ve SLE hastalarında önemli bir artış gösterdiği bulguları vardır. NETozis artışına sebep olabilecek etmenler arasında immün kompleksler, tip I interferonlar ve otoantikolar bulunmaktadır. Ayrıca, tip I IFN'lar olgun nötrofillerin NET üretimini de artırabilir (92). Ek olarak, LDN'ler tarafından üretilen NET'ler, lupus makrofajlarında NLRP3 inflamazom aktivasyonunu artırarak inflamatuvar döngülerin oluşmasına neden olabilir (93). LDN'ler ayrıca, çeşitli otoimmün hastalıklarda görülen erken ateroskleroz gelişiminde rol oynayan endotelial hasar ve anormal endotelial farklılaşmanın aktive edilmesi ile de ilişkilendirilmiştir (86).

BH ve PFAPA sendromunda LDN'lerin rolü hala araştırılmaktadır. Bir çalışmada, 32 Behçet hastasında yapılan çalışma sonucunda LDN sayılarında artış ve bu hücrelerin NET üretimini fazla olduğu gösterilmiş olup bunun sonucunda inflamatuvar yanıt ve patogenezin gelişimine katkıda bulunabileceği çıkarımında bulunulmuştur (94).

2.3.2. Nötrofil hücre dışı tuzakları (NET) ve NETozis

Nötrofil hücre dışı tuzakları (*Neutrophil extracellular traps/NET*) nötrofillerin fagositoz ve hücre içi öldürme mekanizmalarına ek olarak sahip oldukları bir anti-mikrobiyal özelliğidir (95). NET yapısı nötrofiller tarafından salgılanan hücre dışı kromatin ve çeşitli granüler proteinlerden oluşmaktadır (96). Bu tuzakların üretim mekanizması hücrelerin farklı uyarımlarla aktive olmasıyla tetiklenmekte ve NADPH enzim kompleksi yardımıyla protein kinaz C (PKC), Raf/MERK/ERK yolağının aktivasyonu ile devam etmektedir (97, 98). Bu aktivasyon myeloperoksidase (MPO), nötrofil elastaz (NE) ve protein-arjinin deiminaz 4 (PAD4) moleküllerini aktive etmektedir. NE ve MPO, naif nötrofillerin azurofilik granüllerinde depolanan enzimlerdir (99). NE, virüs ile ilişkili faktörleri parçalayan ve bakterileri öldüren nötrofillere özgü bir serin proteazdır (100, 101). MPO, halidlerin hidrojen peroksit tarafından oksidasyonunu katalizler (102). NE ve MPO eksikliği olan fareler bakteriyel ve fungal enfeksiyonlara karşı duyarlıdır. PAD4, kromatin dekonduksiyonu katalizler ve reaktif oksijen ürünleri aracılığı ile kompleks kromatin yapı hücre dışına salınır (103). Kromatin yapısında bulunan histonlar, NET'in en bol bileşenidir ve güçlü antimikrobiyal özelliklere sahiptir. Çeşitli enzimlerin ve nükleer içeriğin hücre dışına NET aracılığı ile salınması süreci nötrofillerin apoptozdan farklı olan hücre ölümü şekliyle olur ve bu da NETozis olarak adlandırılmaktadır (104).

NET oluşumu direkt patojen ilişkili mikrobiyal paternlerin (PAMP) uyarımının yanında hasar aracılı paternlerin (DAMP), diğer immün hücreler tarafından salınan sitokin ve kemokinlerin, virüslerin ve kanser ile ilişkili mekanizmaların da uyarımı ile tetiklenmektedir (105).

NETozis doğal bağışıklığın önemli bir efektör mekanizmasıdır. Nötrofil hücre dışı tuzaklarının aynı zamanda farklı patofizyolojik süreçlerde anahtar rol oynayan yapılar olduğu keşfedilmiştir. NETozis kontrol edilemeyen ve doku hasarına yol açan inflamatuvar immün cevaplara da neden olabilmektedir. Bu doku hasarı NET aracılı direk hücre ölümü, inflamatuvar sitokinlerin artmış salınımı, pro-inflamatuvar hücrelerin toplanması, immün komplekslerin oluşumu ve otoantikorların üretilmesi sonucu meydana gelir. NET yapısı plateletlerle de etkileşime geçerek trombozisi tetiklemekte ve organ hasarına neden olabilmektedir. Nitekim birçok otoimmün ve

otoinflamatuvar hastalıkta nötrofil hücre dışı tuzaklarının rolü tanımlanmıştır (106).

2.4. NET, NETozis ve Behçet Hastalığı

Nötrofillerin ve onların aşırı fonksiyonel olmasının 1975'ten beri BH'nin patogeneğinde rol oynadığı öne sürülmüştür (107). Son yıllarda, genetik, immünolojik ve moleküler veriler, nötrofillerin bu hastalıktaki önemli rolünü büyük ölçüde desteklemektedir.

BH atakları sırasında birçok hastada nötrofillerin kemotaksisinde artış gözlenmiştir (107). Ayrıca, hastaların tükürük ve serumunda nötrofil elastaz (NE), miyeloperoksidaz (MPO) ve S100A proteinlerinin arttığı bulunmuştur (107). Kemotaksise ek olarak, serbest radikal üretimi, nötrofillerin patojenlere karşı savunma için verdiği bir mekanizma sonucu gözlenir. ROS, NADPH oksidazın etkisiyle üretilir. Bu süreç, fazla miktarda oksijen tüketimine sebep olur ve bu oksijen, son derece reaktif süperoksit radikalleri olan O_2^- ve H_2O_2 'ye dönüştürülür. Bunun sonucunda MPO aktive olur ve mikrobisidal olan ikincil oksidanlar üretir. Ancak, yüksek miktarda oksidan oluşumu sonucu meydana gelen dengesizlik, doku hasarı ile ilişkilidir (108). Bu olaylar, birçok patolojik durumun başlangıcından sorumludur.

BH'de oksidan sistemde artış gözlenmiş olup antioksidan miktarında azalma görülmüştür (107). Ayrıca hastaların serum ve plazmasında artmış reaktif oksijen türleri (ROS) seviyeleri görülmüştür. Behçet hastalarında yüksek plazma MPO aktivitesi ve artmış nitrat/nitrit seviyeleri de bildirilmiştir. Bu nitrat/nitrit bileşenleri daha fazla ROS oluşumuna neden olmaktadır. Ayrıca, Behçet hastalarının nötrofillerinde siklooksijenaz-2'nin artmış ifadesi, pro-inflamatuar prostaglandinlerin sentezine neden olarak vasküler hasara katkıda bulunabilir (107).

Behçet hastalarında nötrofil aktivasyonunu tetikleyen çeşitli etmenler vardır. Bunların başında bakteriyel enfeksiyonlar gelmektedir. Bu nedenle, mikroorganizmaların veya bakteriyel bileşenlerin nötrofil aktivasyonuna neden olabileceği öne sürülmüştür. Çalışmalar, streptokok antijenlerine ve pnömokok aşılara maruz kalan hastaların atak geçirdiğini göstermektedir (107). Behçet hastalarından izole edilen nötrofillerin transkriptomik analizinde CCR1, CCR3, CCR4, CCR6, CCR7, CXCR1, CXCR2, CXCR3 gibi kemokin reseptörlerinin arttığını

göstermiştir (107). Kemokinlerin yanında, TNF- α , IL-6 ve IL-1 gibi birçok inflamatuvar sitokin de nötrofilleri aktive ettiği bilinmektedir (109). Bu sitokinler BH'de geniş çapta incelenmiştir ve başlıca Nf κ B yolağı üzerinden üretilmektedirler. Bu sitokinlerin seviyeleri hastalarda yüksektir ve hastalık aktivitesi ile arttıkça seviyeleri de artmaktadır (107). Bu sitokinler, nötrofiller de dahil olmak üzere geniş bir hücre yelpazesi tarafından salgılanabilirler ve nötrofiller için parakrin ve/veya otokrin aktivatörler olarak işlev görebilirler.

BH'de endotelial aktivasyon da çalışmalarca gösterilmiştir. Trombomodulin, selektinler ve endotelyum kaynaklı von Willebrand faktörü bu çalışmalarda öne çıkmaktadır (107). Aktivasyon sonrası, endotelial hücreler, nötrofillerin yuvarlanmasını ve adezyonunu kolaylaştıran çeşitli adezyon molekülleri ifade eder. Nötrofillerde CD11a ve CD18 artış gösterirken endotelial hücrelerde ICAM-1'in yukarı regülasyonu görülmüştür. Bu mekanizmalar, bu hücreler arasındaki etkileşimin önemini vurgular.

Çok sayıda çalışma, otoinflamatuvar veya otoimmün durumların etiolojisinde nötrofil ekstrasellüler tuzaklarının (NET'ler) rolünü ortaya koymuştur. Ayrıca, NET'ler, patolojik durumlarda, trombüs başlangıcı ve ilerlemesinin önemli bir tetikleyicisi olarak bilinmektedir. NET'ler aynı zamanda inme ve miyokard enfarktüsü gibi arteriyel hastalıklarda da rol oynamaktadır. Hastaların serum ve plazma örneklerinde MPO-DNA kompleksleri ve cf-DNA (cell-free DNA) gibi NET'lerin direkt olmayan belirteçlerinin yüksek bulunduğu ve bu durumun hastalık aktivitesi ve vasküler tutulum ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Ayrıca, Behçet hastalarına ait nötrofillerin in vitro ortamda uyarıcı olmadan bile daha fazla NETozise yatkın olduğu gösterilmiştir. Ayrıca, bu nötrofillerde PAD4 mRNA'sının da fazlaca ifade edildiği gösterilmiştir.

BH'de, vasküler durumun farklı damar tipleri ve boyutları görülürken, tekrarlayan trombozlarla komplike olan bir hastalıktır. Nötrofil aktivasyonu, artmış ROS üretimine yol açar. ROS, fibrinojeni okside ederek genel yapısını değiştirebilir; bu durum, fibrinojenin lizise karşı duyarlılığını bozarak fibrinojen fonksiyonunun etkisiz hale gelmesine neden olur. Bu da trombojenik ihtimali artırır. Behçet hastalarının nötrofilleri tarafından üretilen NET'ler, içsel ve dışsal pıhtılaşma yollarını aktive

ederek tromboz oluşumunu tetikleyebilir, endotelial hücre aktivasyonunu artırabilir ve trombositleri aktive edebilir. NET'lerin yanı sıra, nötrofiller IL-1, TNF- α ve IL-8 gibi proinflatuar sitokinlerin salınımı aracılığıyla endotelial hücreleri ve trombositleri de aktive eder. Tüm bu olaylar, BH'de immün tromboza katkıda bulunur.

BH tedavisinde steroidler, kolşisin, anti-TNF α ve apremilast gibi ilaçlar geniş ölçüde kullanılmaktadır. Bu ilaçların nötrofil aktivasyonunu ve NET'lerin oluşumunu azalttığı bilinmektedir. Ayrıca, dolaşımdaki NET'leri doğrudan hedef alan potansiyel diğer terapötik yaklaşımlar arasında N-asetil-sistein, PAD4 inhibitörü veya DNaz I gibi ilaçlar, *in vitro* ortamda ve fare modellerinde olarak etkili bir şekilde test edilse de insanlarda henüz kullanılmaya başlanmamıştır.

2.5. NET, NETozis ve PFAPA Sendromu

Nötrofillerde ve monositlerde bir aktivasyon belirteci olan CD64'ün PFAPA atakları sırasında dikkat çekici şekilde arttığı görülmüştür (73). Nötrofillerde PFAPA atakları sırasında ROS üretiminin arttığına gösterilmesi, doğal bağışıklık yanıtının düzensiz olduğuna işaret etmektedir. Ayrıca, nötrofillerde CD11b ekspresyonunun yüksek olduğu, L-selectin ifadesinin ise değişmediği ve apoptozun azaldığı rapor edilmiştir, bu da hücrelerin aktif ve canlı olduğunu göstermektedir (73). Bu bulgular, nötrofillerin inflamatuvar bir hastalık olan PFAPA'nın patogenezinde önemli bir rol oynadığını düşündürmektedir, ancak bu hücrelerin tam olarak patogenezdeki rolü henüz net değildir. Hem pediatrik hem yetişkin PFAPA hastalarında nötrofillerin NET üretme kapasitesi ve NETozis hakkında literatürde herhangi bir çalışma bulunmamaktadır.

2.6. Doğal Lenfoid Hücreler (ILCs)

ILC'ler, patojenlere karşı erken savunmada görev alan ve doku homeostazı, inflamasyon ve bağışıklık yanıtlarında kritik roller oynayan bir grup immün hücredir (110). Adaptif bağışıklık sistemi hücreleri olan T ve B lenfositlerinin aksine, ILC'ler antijen özgül reseptörlere sahip olmadıkları için antijen uyarımıyla klonal ekspansiyon geçirmezler. ILC'ler, sitokin üretimleri ve transkripsiyon faktörü ifadeleri profillerine göre sınıflandırılırlar. ILC1 hücreleri, CD4+ Yardımcı T hücre alt grubuna ait olan Th1 hücrelerine benzer ve IFN- γ ve TNF- α gibi sitokinler üretirler. Hücre içi

patojenlere karşı savunmada rol alırlar ve inflamasyona katkıda bulunurlar. ILC2 hücreleri ise Th2 hücrelerine benzer ve IL-4, IL-5, IL-9 ve IL-13 gibi sitokinler üretirler. Alerjik yanıtların yanı sıra helminth enfeksiyonları, doku onarımı ve metabolik homeostaz için önemlidirler. ILC3 hücreleri ise Th17 hücreleriyle benzer fonksiyonlar gösterir ve IL-17 ve/veya IL-22 üretirler. Mukozal bağışıklıkta, hücre dışı patojenlere karşı savunmada, doku onarımında ve bağırsak homeostazının sürdürülmesinde kritik bir rol oynarlar. ILC'ler, temel olarak cilt, bağırsak ve akciğer gibi bariyer dokularında bulunur ve epitelyal hücreler, stromal hücreler ve diğer immün hücrelerle etkileşerek doku bütünlüğünü ve bağışıklık yanıtlarını düzenlerler. Enfeksiyonlar, inflamatuvar bozukluklar, otoimmün hastalıklar ve kanser gibi çeşitli hastalıklarda önemli bir rol oynarlar. Bir çalışmada, sistemik lupus eritematozus (SLE) hastalarında ILC1 seviyelerinde sağlıklı kontrollerle karşılaştırıldığında artış görülmüş ve ILC2 ve ILC3 seviyelerinde azalma olduğu gösterilmiştir (111).

ILC'lerin, pediatrik BH ve PFAPA'nın patogeneziindeki rolü hakkında henüz yeterli bilgi bulunmamaktadır, ancak bu hücrelerin bağışıklıkla ilgili hastalıkların patofizyolojisinde potansiyel terapötik hedefler olabileceği düşünülmektedir.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Hastalar ve sağlıklı kontroller

Tez çalışmasına Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları ABD Çocuk İmmünoloji-Romatoloji Polikliniği'nde BH ve PFAPA tanısıyla takip edilmekte olan hastalar ve yaş uyumlu sağlıklı kontroller dahil edildi. Her bir gruptan 20 katılımcı çalışmada yer aldı.

PFAPA sendromlu hastaların (n=20) yaşları 4 ve 13 yıl arasında değişmekte olup ortalama yaş 8.05 ± 3.15 yıldır. Hastaların %55'i erkek ve %45'i kadındır. Hastaların hastanedeki ortalama takip süresi 44.05 ± 24.23 ay olup 1 ve 7 yıl arasında değişmekteydi. Hastaların hepsi son 48 saatte atak geçirmiş hastalardır ve hastaların hepsi kolçisin tedavisi görmekteydi. CRP seviyeleri 2-40 mg/l arasında değişmekte olup ortalama 8.59 ± 1.9 'du.

Kontrol grubu olan Behçet hastalarının (n=20) 17'sinde HLA-B*51 pozitifken 3 hastada HLA-B*18 varyantı görüldü. Hastalarda HLA-B*51 pozitiflik oranı %85 olarak hesaplandı (0.85 ± 0.08). Hastaların yaş aralığı 6 ve 18 yıl arasında değişmekte olup ortalama yaş 11.4 yıldır (11.4 ± 1.55 yıl). Hastaların cinsiyet dağılımı eşittir. Hastanedeki takip süreleri 1 yıldan 7 yıla kadar değişiklik gösterdi. Ortalama takip süresi 39 aydır (39 ± 22.41 ay). Hastaların hepsi son 48 saatte atak geçirmiş hastalardır ve bütün hastalar kolçisin ilaç tedavisi görmekteydi. CRP seviyeleri 2-40 mg/l arasında değişmekte olup ortalama 5.8 ± 1.3 'tü (Referans aralığı: 0-6 mg/l). Sağlıklı kontrol grubunun (n=20) yaş aralığı 13-18 arasında değişirken ortalama yaş 15.9 ± 1.7 idi. Katılımcıların %60'ı erkek ve %40'ı kadındır. Kontrol grubunda sigara içen sayısı 0 (%0) idi. Katılımcıların aktif bir hastalığı yoktu.

3.2. Kan alımı ve hücrelerin izolasyonu

Bu çalışma için tüm hastalardan ve kontrollerden antikoagülan olarak EDTA içeren tüpe 20 ml periferik kan örneği alınmıştır. Kanların hepsi aynı koşullarda taşınmıştır. Laboratuvara ulaştırılan kan örneklerinden PBMC ve nötrofil izolasyonu yapılmıştır. PBMC izolasyonu Ficoll/Histopak dansite gradient santrifüj yöntemi ile gerçekleştirilmiştir. Bu yöntemde, kan örnekleri oda sıcaklığında 1:1 (v/v) oranında 1X PBS ile seyreltilmiştir. Seyreltilmiş kan örnekleri, 4 mL Ficoll (Sigma Aldrich-

Histopaque 1077) üzerine 5:2 (v/v) oranında yavaş bir şekilde yayıldı. Daha sonra, örnekler fren ayarı sıfırda olacak şekilde 400xg'de 30 dakika santrifüj edildi. Santrifüj sonucunda lenfositlerin bulunduğu bulutumsu katman toplanarak başka bir tüpe aktarıldı. Bu yeni tüpe aktarılan PBMC'ler, 10 mL RPMI-1640 ile 8 dakika boyunca 400xg'de santrifüj edilerek yıkandı. Süpernatant uzaklaştırılmış ve yıkanan hücreler 1 mL RPMI-1640 içinde yeniden süspansiyon edildi. 10 µL hücre süspansiyonu, 1:1 (v/v) oranında Tripan mavisi boyası ile 2 dakika inkübe edildi. Boyanmış hücreler, hücre sayım cihazına 10 µL hacminde yüklenerek sayım yapıldı. Hücre sayısı ve canlılık oranları kaydedildi. RPMI-1640 içinde bekletilen hücreler, 5 dakika boyunca 400xg'de santrifüj edilerek süpernatant kısım uzaklaştırıldı.

Elde edilen PBMC'lerden yaklaşık 1 milyon hücre LDN yüzdelerinin belirlenmesi için kullanılmıştır (3.3). Santrifüj sonrası eritrositler ve nötrofillerin bulunduğu çöken katman tüpten alınarak manyetik seperasyon yöntemi ile nötrofillerin izolasyonu gerçekleştirilmiştir (*Mojosort Human Neutrophil Isolation Kit*, Biolegend). Nötrofil izole etmek için önce 1 mL kan 5 mL'lik cam tüpe alındı. Üzerine 10 µL kitin içeriğinde bulunan *Biotin-Antibody Cocktail* eklendi. Pipetaj yapıldıktan sonra buza koyuldu ve 15 dakika inkübe edildi. İnkübasyon bittikten sonra kitin içerisinde bulunan manyetik bead karışımı önce 1 dakika boyunca vortex edildi ve daha sonra kan ve antikör kokteylinin bulunduğu tüpe 10 µL eklendi. Pipetaj yapıldıktan sonra buzda 15 dakika bekletildi. İnkübasyon süresi bittikten sonra yıkama aşamasına geçildi. 4 mL mojosort eklendi ve vortex yapıldı. 300xg'de 5 dakika çevirdikten sonra süpernatant kısmı atıldı. Daha sonra manyetik seperasyon için tüpe 3 mL Mojosort buffer eklendi ve pipetaj yapıldı. Tüp magnete koyuldu ve 5 dakika bekletildi. Başka bir tüpe bu tüpün içindeki buffer ve hücre karışımı magnetten çıkarmadan aktarıldı, yani negatif seçim yapılarak nötrofiller başka bir tüpe aktarılmış oldu. Manyetik ayırma işlemi toplam 3 kez yapıldı. Ayırdığımız nötrofiller 300xg'de 5 dakika santrifüj edildi. Daha sonra süpernatant atıldı ve üstüne 15 mL lizis buffer eklendi ve pipetaj yapıldı. Bu aşamanın amacı ortamda bulunan eritrositlerin lizis yolu ile uzaklaştırılmasıdır. 15 dakika boyunca inkübe edilen hücreler 300xg'de 5 dakika santrifüj edilip süpernatant kısmı atıldı. Daha sonra nötrofiller Mojosort buffer ile yıkandı ve tekrar aynı ayarlarda santrifüj edildi. Süpernatant atıldıktan sonra hücrelerin üstüne önceden hazırlanmış ve 37 dereceye getirilmiş 1 mL *NETosis Assay*

Buffer (NETosis Assay Kit, Cayman Chemicals) eklendi. Bu tampon hazırlanırken kitin protokolü esas alınmıştır ve 24 kuyucuklu plak için olan prosedüre uyulmuştur. Tampon RPMI içinde %1 BSA ve 100 µl (1 M) kalsiyum klorür çözülerek hazırlanmıştır. Nötrofillerin üzerine tampon eklendikten sonra yavaşça pipetaj yapıldı. Daha sonra 10 µl hücre süspansiyonu hücre sayım cihazına alınarak hücre sayımı yapıldı.

3.3. NET analizi

NET üretiminin belirlenmesi Elisa tabanlı bir kit ile yapılmıştır (*NETosis Assay Kit, Cayman Chemicals*). Bu kit NETosis sürecini ex vivo olarak çalışmak için tasarlanmıştır. Bu kitin prosedürü, NET'lerin içeriğinde bulunan DNA bileşenine bağlı değildir çünkü DNA salınımı NETosis'ten bağımsız olarak da gerçekleşebilir. Nötrofiller PMA ya da kalsiyum iyonofor ile NET salınımı için uyarılır. Şekil 3.1'de gösterildiği gibi, NET oluşumunun ardından serbest nötrofil elastaz (NE) ortamdan yıkanarak uzaklaştırılır. NET DNA'sının S7 nükleaz ile sindirilmesinin ardından, DNA'ya bağlı olan NE serbest kalır. NE içeren süpernatana, nötrofil elastaz tarafından parçalanan bir substrat eklenir ve bu reaksiyon sonucunda 405 nm'de ışık Emilimi olan 4-nitroanilin ürünü oluşur ve bu emilim spektrofotometre ile ölçülür. Pozitif kontrol olarak kullanılacak olan 18 U/ml konsantrasyonunda NE enzimi önceden ısıtılmış 2 ml NET tamponuna 2 µl hacimde eklendi. Pipetaj yoluyla iyice karıştırıldıktan sonra her kuyucuğa 100 µl olacak şekilde plaktaki iki kuyucuğa eklendi.

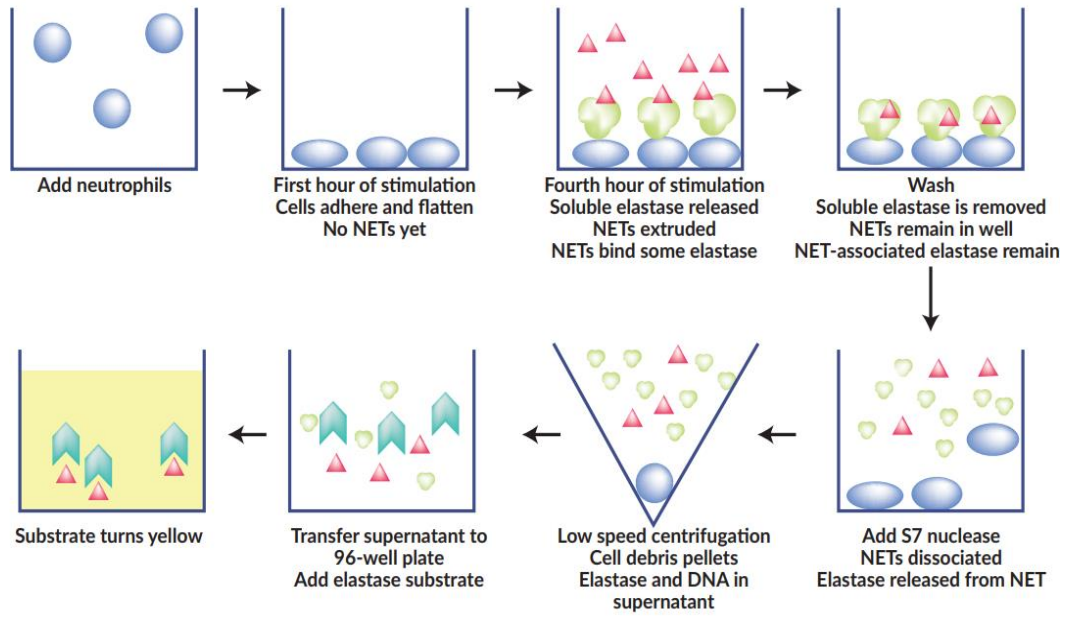
NE kullanılarak bir standart eğri oluşturuldu ve bu eğrinin denklemini kullanılarak NE konsantrasyonu bilinmeyen örneklerin konsantrasyonu hesaplandı. Bunun için standartlar Şekil 3.2'de gösterildiği gibi hazırlandı. Öncelikle NE enzimini seyreltmek ve böylelikle standartları hazırlamak için önceden hazırlanan 20 ml NET tamponuna 400 µl EDTA (500 mM) eklendi ve bu tamponun sıcaklığı 37 dereceye getirildi. 1 numaralı tüpe 5 ml EDTA eklenmiş tampon koyulurken 2'den 8'e kadar numaralandırılmış tüplere 1 ml eklendi. 1 numaralı tüpe 10 µl NE enzimi eklendi ve pipetaj yapıldı. Bu standardın konsantrasyonu 36 mU/ml'dir. Standardı ardışık olarak seyreltmek için, 1. tüpten 1 ml alınarak 2 numaralı tüpe koyuldu ve pipetaj yapıldı. Ardından, 2. tüpten 1 ml alınarak 3 numaralı tüpe koyuldu ve pipeta yapıldı. Aynı işlem 4-7 numaralı tüpler için tekrarlandı. 8 numaralı tüpe ise standart eklenmedi ve

negatif kontrol olarak kullanıldı.

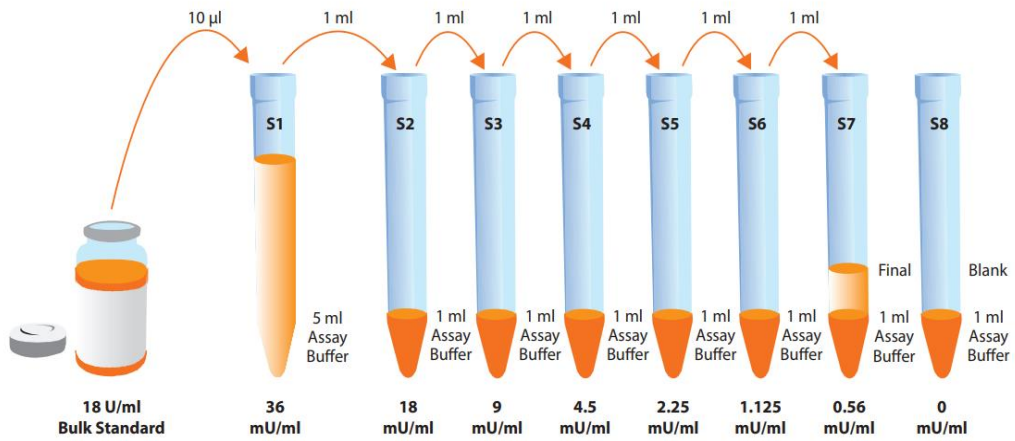
Örneklerin hazırlanması için izole edilen ve ısıtılmış NET tamponunda süspanse edilen nötrofillerden her bir kuyucukta 1 milyon olacak şekilde 800 µl hücre eklendi. 5 ml önceden ısıtılmış NET tamponuna 1 µl PMA (1 mM) eklenerek 10X PMA çözeltisi hazırlandı ve bu çözeltinin 100 µl'si kuyucuklarda bulunan hücrelerin üstüne eklendi. NET oluşumunu indüklemek için plak 4 saat boyunca 37°C'de inkübe edildi. İnkübasyon bittikten sonra kuyucuklardaki NET tamponu nazikçe ortamdan uzaklaştırıldı ve yavaşça kuyuların kenarlarına 1 ml önceden ısıtılmış NET tamponu eklendi. Yavaşça NET tamponu ortamdan geri alındı. Bu yıkama işlemi toplamda iki kez 1 ml ile gerçekleştirildi ve NET ile ilişkili olmayan, ortamda serbest halde bulunan NE uzaklaştırıldı. Yıkama işleminin ardından 12 ml önceden ısıtılmış NET tamponuna 12 µl S7 nükleaz (15.000 U/ml) eklenerek seyreltildi ve 15 U/ml S7 nükleaz çalışma çözeltisi hazırlandı. Her bir kuyucuğa 500 µl seyreltik S7 nükleaz eklendi. NET'leri bozmak için plak 37°C'de 15 dakika inkübe edildi. İnkübasyondan sonra süpernatantlar mikro santrifüj tüplerine aktarıldı. S7 nükleazı inaktif hale getirmek için tüplere 10 µl EDTA (500 mM) eklendi. Hüresel kalıntıları çöktürmek için tüpler 300 x g'de beş dakika santrifüj edildi. Süpernatant yeni bir mikro santrifüj tüpe aktarıldı.

Elastaz aktivitesinin test edilmesi için 96 kuyucuklu plak kullanıldı ve her örnek ve standart çift olarak test edildi. Optimal sonuçlar için, standartlar ve örnekler NETozis testinden önce su banyosunda 37°C'ye ısıtıldı. Standartlar için her kuyucuğa 100 µl standart (1-8 numara) eklendi. Örnekler için ise her kuyuya 100 µl kültür süpernatantı aktarıldı. 1:30 oranında seyreltilmiş NE substratı (N-metoksisüksinil-Ala-Ala-Pro-Val p-nitroanilid) solüsyonu hazırlamak için 15 mM olan substrattan 225 µl alınmış ve 6.5 ml PBS içinde seyreltildi. Her kuyuya 100 µl 1:30 oranında seyreltilmiş olan NE substratı eklendikten sonra plağın üstü film ile örtülmüş ve 90 dakika boyunca 37 derecede inkübe edildi. İnkübasyonun ardından kapağı örten film çıkarılmış ve kuyucuklardaki emilim 405 nm dalga boyunda spektrofotometrede okutuldu.

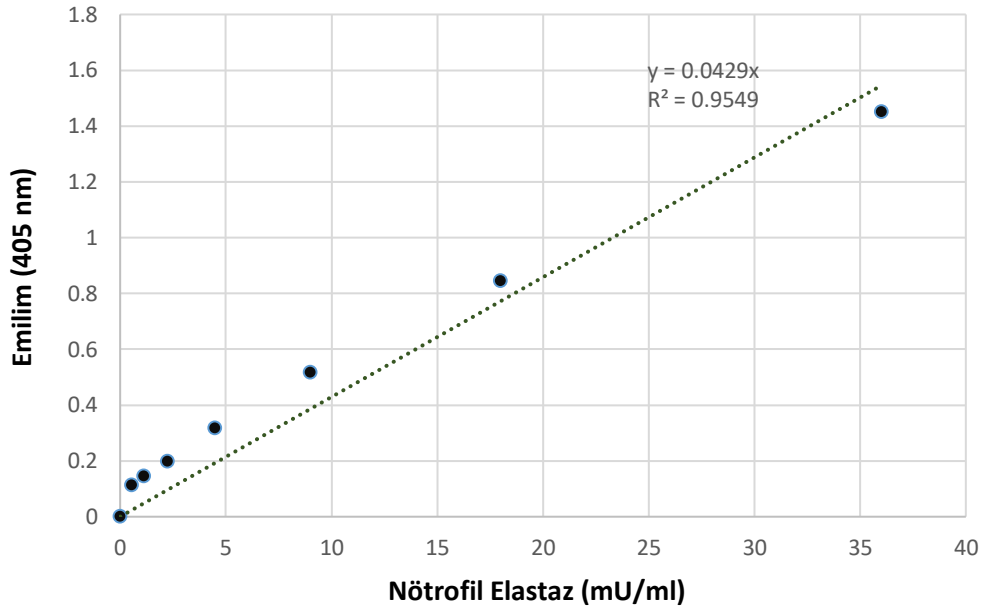
Bu sonuçlar doğrultusunda oluşturulan standart eğri Şekil 3.3'te verildi. Bu grafikteki eğim çizgisinin denklemi, örneklerin 405 nm'deki emilim değeri kullanılarak NE aktivitesinin ölçülmesini sağladı.



Şekil 3.1. NET oluşumu ve analizi için diyagram. (*NETosis Assay Kit Protocol*, Cayman Chemicals)



Şekil 3.2. Pozitif kontrollerin ve negatif kontrolün hazırlanması (*NETosis Assay Kit Protocol*, Cayman Chemicals)



Şekil 3.3. Nötrofil elastaz aktivitesi standart eğrisi.

3.4. LDN yüzdelerinin belirlenmesi

İzole edilen PBMC'lerin 1 milyonu LDN yüzdesi belirlemek için kullanılmıştır. PBMC'ler CD14, CD15, CD16 ve CD66b yüzey antikorları (Biolegend) eklenerek vortex yapıldı. 15 dakika karanlıkta inkübe edilerek antikorların bağlanması beklendi. 15 dakika sonra 1 mL PBS ile hücreler yıkandı, 350xg'de 5 dakika santrifüj edildi ve bağlanmayan antikorlar bu şekilde ortamdan uzaklaştırıldı. Süpernatant atıldıktan sonra hücrelerin üstüne 200 µL PBS eklendi ve vortex yapıldı. LDN yüzdeleri akım sitometri ile belirlenmiştir. LDN yüzdelerinin belirlenmesi için yapılan kapılama stratejisi şekil 3.4'te verilmiştir.

3.5. ILC yüzdelerinin belirlenmesi

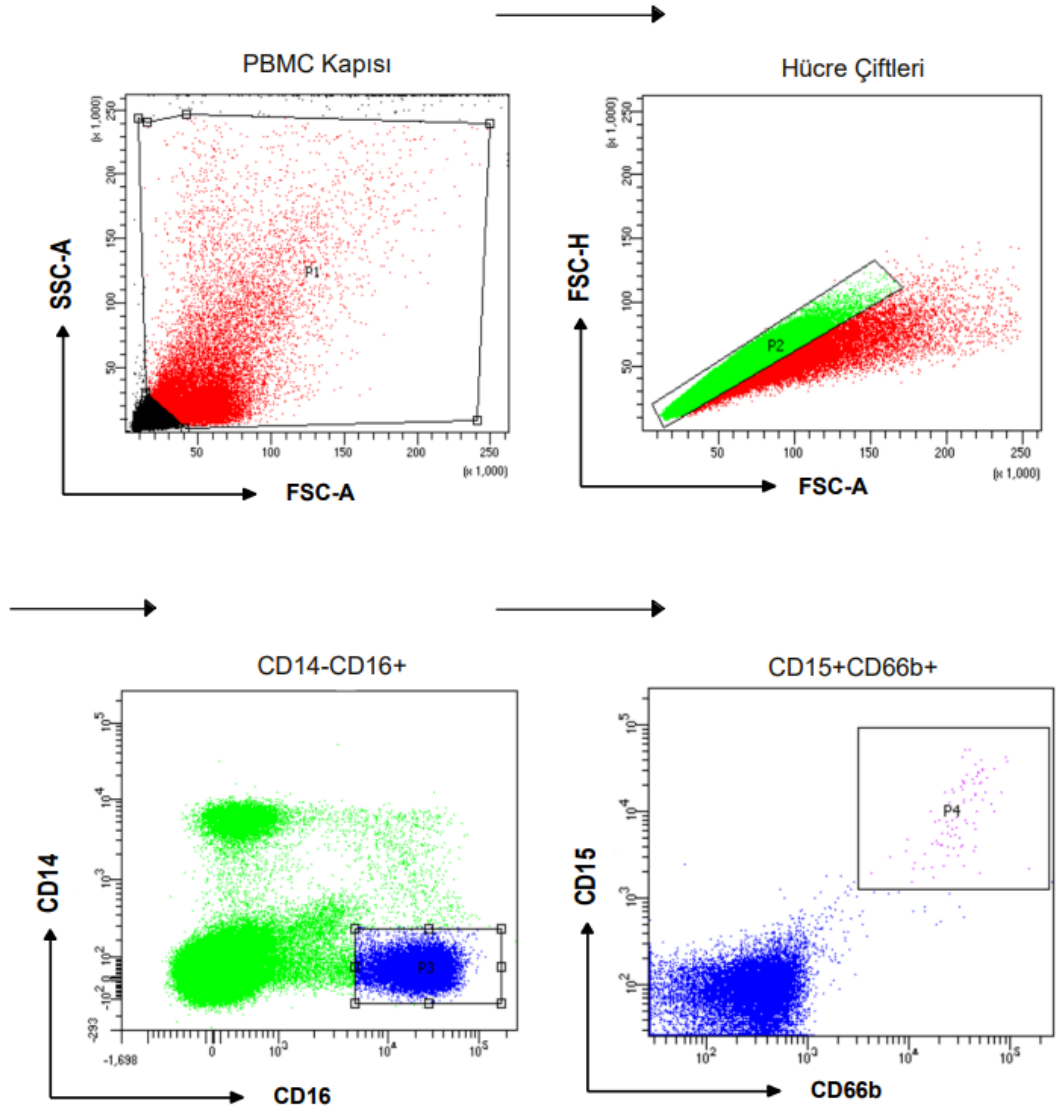
PBMC'lere *Lineage cocktail* (CD3, CD14, CD19, CD20, CD56), CD127, CD161, CRTH2 ve CD118 (Biolegend) eklenerek vortex yapıldı. 15 dakika karanlıkta inkübe edildi ve 1 mL PBS ile hücreler yıkandı, 350xg'de 5 dakika santrifüj edildi. Süpernatant atıldıktan sonra hücrelerin üstüne 200 µL PBS eklendi ve vortex yapıldı.

ILC yüzdeleri akım sitometri ile belirlenmiştir. Çalışmada ILC yüzdelерinin belirlenmesi için şu belirteçler kullanılmıştır:

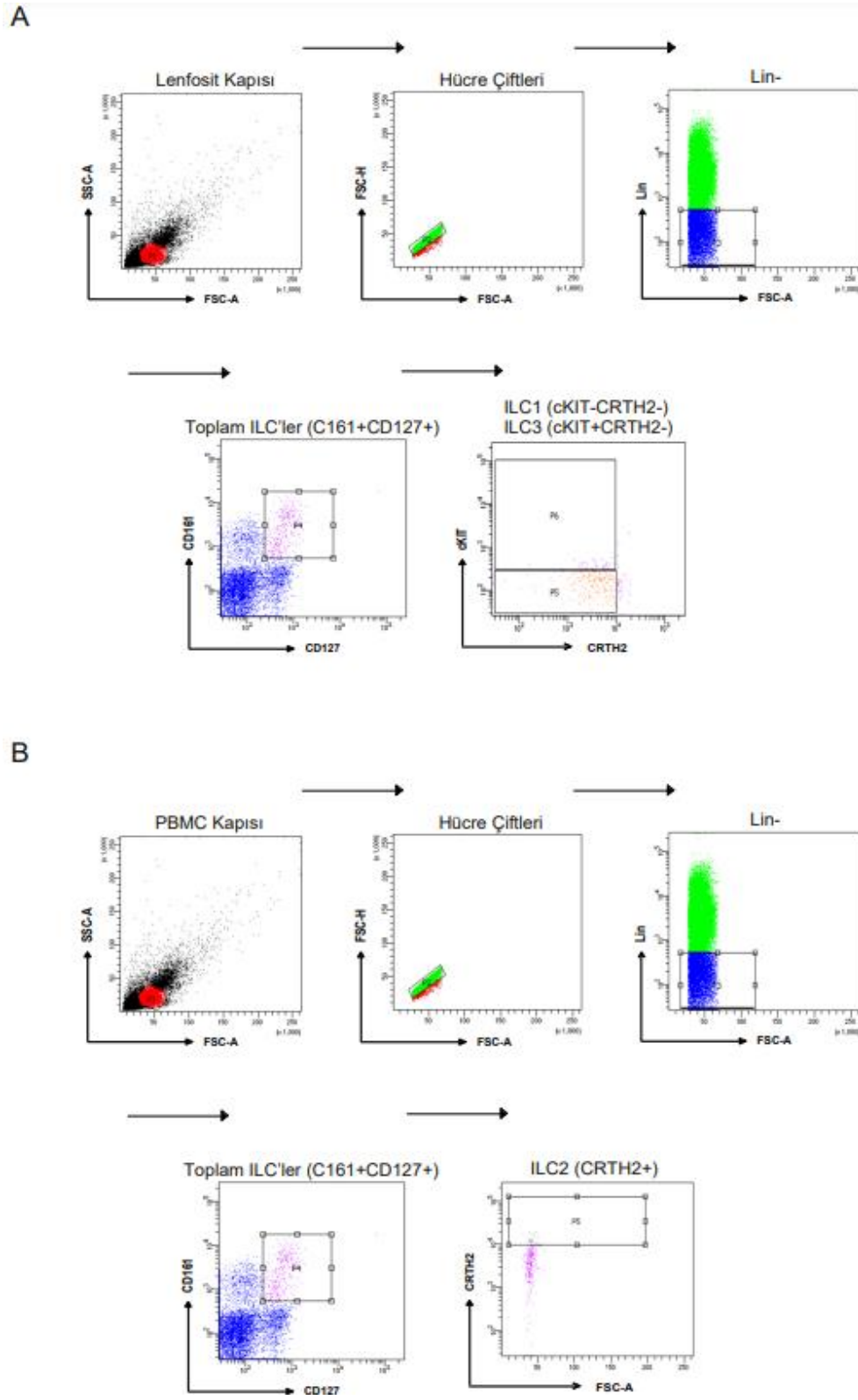
ILC1: Lin⁻/CD127⁺/CD161⁺/CRTH2⁻/CD117 (cKIT)⁻

ILC2: Lin⁻/CD127⁺/CD161⁺/CRTH2⁺

ILC3: Lin⁻/CD127⁺/CD161⁺/CRTH2⁻/CD117 (cKIT)⁺



Şekil 3.4. LDN yüzdelерinin akış sitometride kapılama stratejisi. LDN: *Low-density neutrophil*



Şekil 3.5. ILC hücrelerinin akış sitometride kapılama stratejisi. A. ILC1 ve ILC3

hücrelerin kapılama stratejisi **B.** ILC2 hücrelerin kapılama stratejisi. ILC: *Innate Lymphoid Cell*

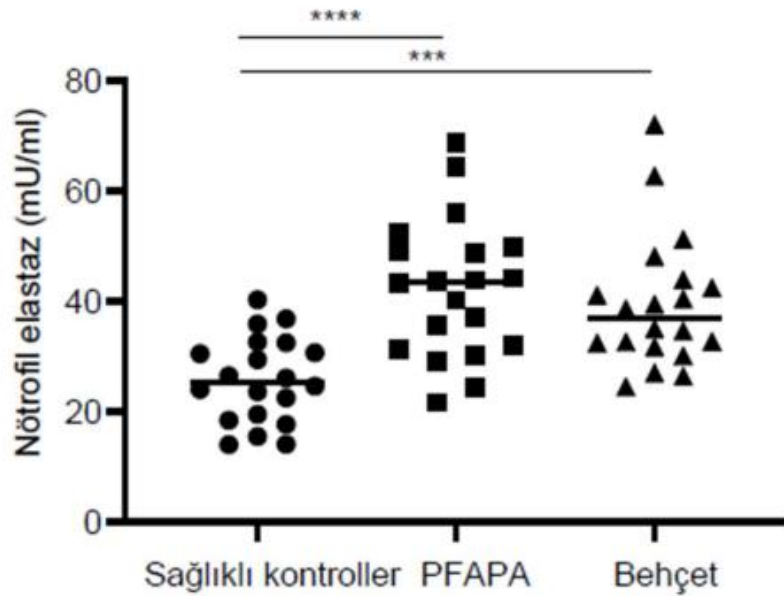
3.6. İstatiksel yöntemler

Elde edilen sonuçlar SPSS ve Graphpad programları kullanılarak analiz edilmiştir. Öncelikle grupların dağılımı (normal ya da değil) Kolmogorow-Smirnov ya da Ki-Kare testleri ile belirlenmiş, gruplar arası analizler ise (normal dağılım göstermemesi beklenmektedir) nonparametrik Kruskal Wallis ya da Mann-Whitney U testleri ile yapılmıştır.

4. BULGULAR

4.1. Hasta nötrofillerinde artmış NET üretimi

PMA ile uyarılan nötrofiller tarafından üretilen NET'ler, hasta gruplarında sağlıklı kontrollere göre yüksek olduğu bulundu (Şekil 4.1). PFAPA hastalarının nötrofillerinin NET üretimi sağlıklı kontrollere kıyasla oldukça yüksektir ($p < 0.0001$). Behçet hastalarının nötrofillerinin NET üretme kapasitesine baktığımızda ise sağlıklı kontrollere kıyasla yine oldukça yüksek seviyede olduğu Şekil 4.1'de görülmektedir ($p < 0.01$). Her iki hastalık grubunda da yüksek NET üretimi gözlenirse de PFAPA hastalarında Behçet hastalarından daha fazla NET üretimi olduğu gözlemlendi.

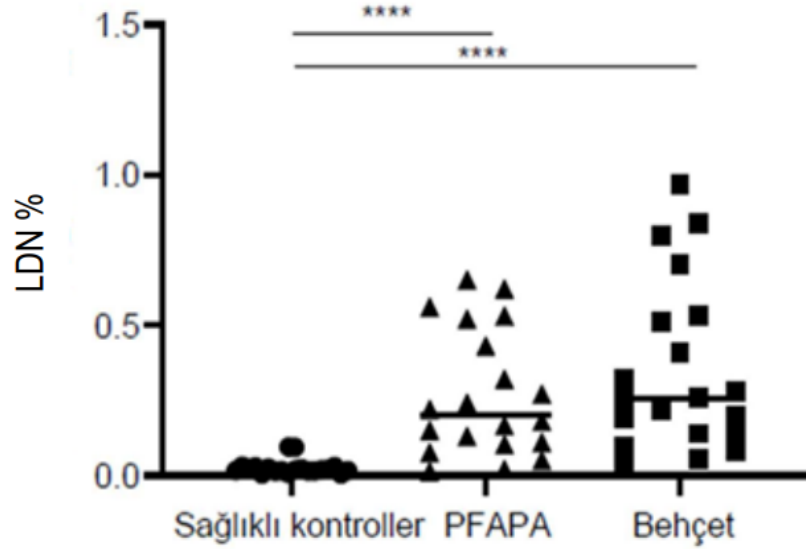


Şekil 4.1. Behçet ve PFAPA hastalarında NET üretimi. *** $p < 0.01$, **** $p < 0.0001$; NET: *Neutrophil extracellular traps*.

4.2. Hastalarda artmış LDN yüzdeleri

LDN yüzdelerinin akış sitometride ölçümünde kullanılan kapılama stratejisi Şekil 3.3'te verilmiştir. LDN hücre grubu yüzdelerinin hem Behçet hastalarında hem de PFAPA sendromlu hastalarda sağlıklı kontrollere kıyasla anlamlı şekilde yüksek

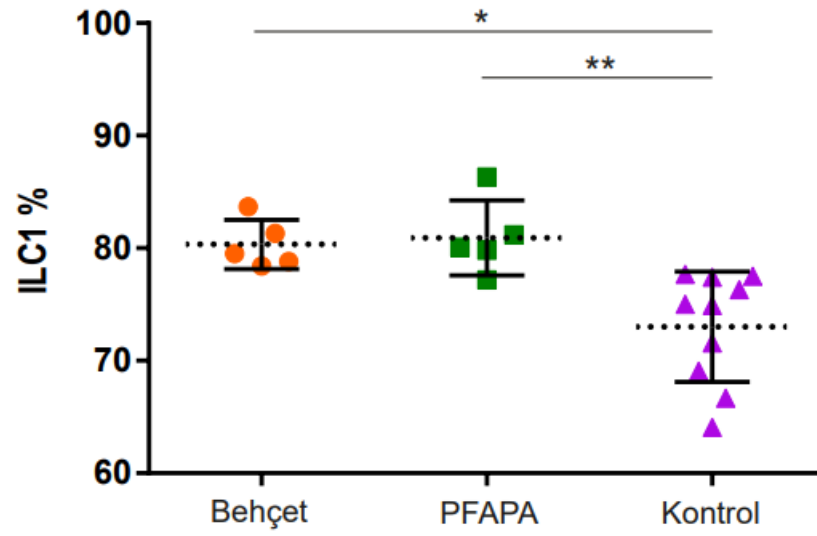
olduğu gösterildi ($p < 0.0001$). Bu yükseklik Behçet hastalarında PFAPA sendromlu hastalara göre daha fazla ölçüldü (Şekil 4.2) fakat anlamlı bir fark görülmedi.



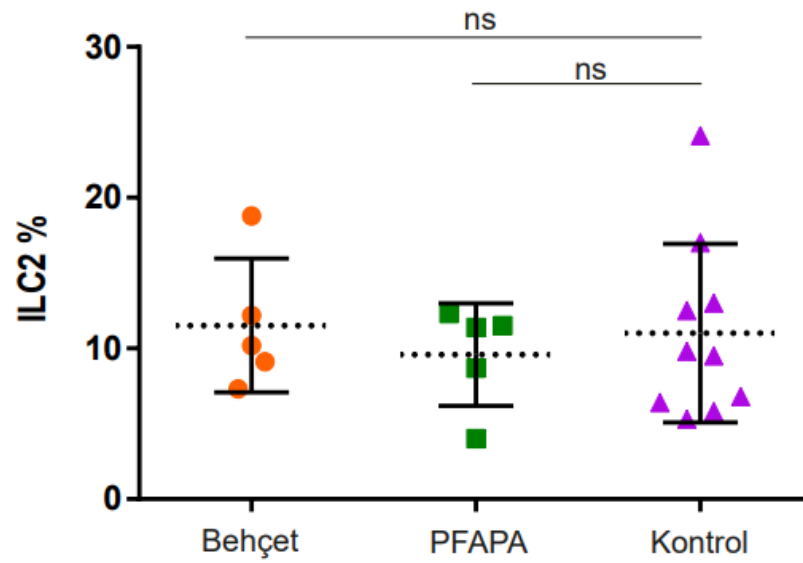
Şekil 4.2. LDN yüzdeleri. **** $p < 0.0001$; LDN: *Low-density neutrophil*.

4.3. Hastalarda yüksek ILC1 seviyesi

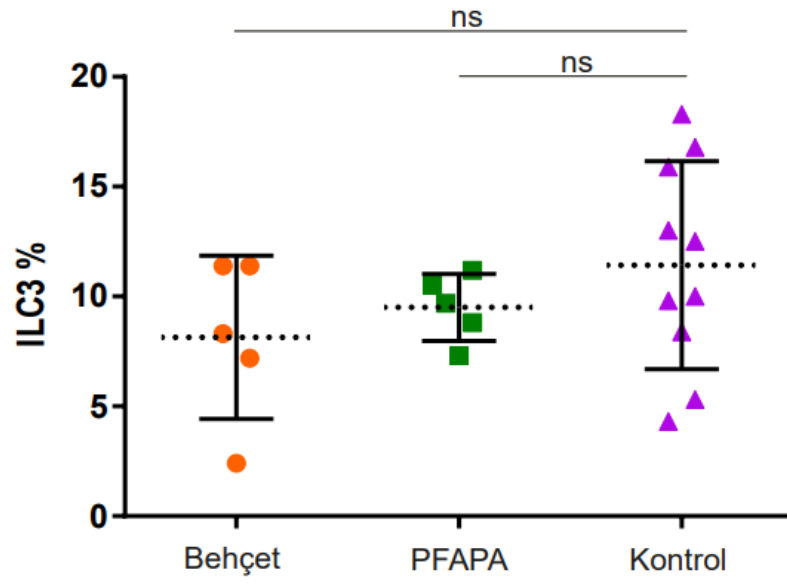
5 PFAPA, 5 Behçet hastası olmak üzere toplam 10 ataklı hastada ve 10 sağlıklı kontrolde ILC1, ILC2 ve ILC3 seviyelerine bakıldı. Yüzde hesabı total ILC'ler içinde yani Şekil 3.5'te gösterilen CD161+CD127+ kapısından yapılmıştır. Şekil 4.3'te görüldüğü üzere hastaların ILC1 yüzdeleri sağlıklı kontrollerle kıyaslandığında yüksek olarak görüldü. Bu oran PFAPA hastalarında daha fazladır ($p < 0.001$). ILC2 yüzdeleri ise Şekil 4.4'te verilmiştir ve sağlıklı kontrollerin ILC2 yüzdeleri ile hastalarinki arasında anlamlı bir fark görülmedi. ILC3 yüzdeleri Şekil 4.5'te verilmiştir. ILC3 yüzdelerinde görülen fark sağlıklı kontroller ile kıyaslandığında anlamlı değildi.



Şekil 4.3. ILC1 yüzdeleri. ILC: *Innate lymphoid cells*. * $p < 0.05$; ** $p < 0.001$



Şekil 4.4. ILC2 yüzdeleri. *ILC*: *Innate lymphoid cells*; **ns**: *non-significant*



Şekil 4.5. ILC3 yüzdeleri. **ILC**: *Innate lymphoid cells*; **ns**: *non-significant*

5. TARTIŞMA

Bu tez çalışmasında, PFAPA hastalarında Behçet hastaları ile karşılaştırmalı olarak inflamatuvar süreçlerin ve immün hücre profillerinin analizi yapılmıştır. Araştırmanın ilk aşamasında, PMA ile uyarılan nötrofillerin NET üretimi incelenmiş ve hem PFAPA hem de Behçet hastalarında sağlıklı kontrollere kıyasla anlamlı şekilde yüksek NET üretimi gözlenmiştir ($p < 0.0001$ ve $p < 0.01$ sırasıyla). PFAPA hastalarının nötrofillerinin NET üretme kapasitesi, Behçet hastalarına göre daha yüksek bulunmuştur (Şekil 4.1). Ayrıca, ILC1, ILC2 ve ILC3 hücre profilleri değerlendirilmiş ve PFAPA hastalarında ILC1 yüzdelerinin sağlıklı kontrollere ve Behçet hastalarına kıyasla yüksek olduğu ($p < 0.001$) saptanmıştır (Şekil 4.3). ILC2 ve ILC3 yüzdelerinde ise sağlıklı kontrollerle PFAPA ve Behçet hastaları arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır. LDN'ler ise hem Behçet hem de PFAPA hastalarında sağlıklı kontrollere göre yüksek yüzdelerde bulunmuştur ($p < 0.0001$). LDN yüzdeleri Behçet hastalarında PFAPA hastalarına göre daha yüksek bulursa da bu fark istatistiksel olarak anlamlı olmamıştır. Bu bulgular, PFAPA ve Behçet hastalıklarının immün patogenezi hakkında önemli bilgiler sunmakta ve her iki hastalığın inflamatuvar süreçlerinin karakteristik özelliklerini ortaya koymaktadır.

NETozis, doğal bağışıklığın kritik bir efektör mekanizması olarak kabul edilir ve NET'lerin çeşitli patofizyolojik süreçlerde anahtar roller üstlendiği daha önceki çalışmalarda gösterilmiştir. NET'ler, nötrofillerin patojenlerle savaşma yeteneğini artırmak için üretilen DNA, histonlar ve antimikrobiyal proteinlerden oluşan ağ benzeri yapılardır (97). Ancak, kontrolsüz NETozis sonrası üretilen fazla miktarda NET, doku hasarına yol açan inflamatuvar immün yanıtların ortaya çıkmasına da neden olabilir. Bu doku hasarı, NET aracılı hücre ölümü, inflamatuvar sitokinlerin artmış salınımı, pro-inflamatuvar hücrelerin toplanması, immün komplekslerin oluşumu ve otoantikorların üretilmesi sonucu meydana gelir (103). NET'lerin yapısal bileşenleri, inflamasyonu tetikleyen ve sürdüren bir dizi mekanizmayı harekete geçirebilir. Ayrıca, NET'ler plateletlerle (trombositler) etkileşime girerek trombozisi tetikler ve organ hasarına neden olabilir (21). NETozis'in birçok otoimmün ve otoinflamatuvar hastalıkta rol oynadığı belirlenmiştir. SLE, RA ve psöriyazis gibi hastalıklarda NET'lerin artmış varlığı ve aktivitesi, bu hastalıkların patogenezi

katkıda bulunur (93, 86). NET'lerin aşırı oluşumu, doku ve organlarda kronik inflamasyona ve hasara yol açarak hastalığın şiddetini artırabilir. Lupus ya da lupus benzeri hastalık dışında AAA ve Jüvenil Dermatomiyozi gibi inflamatuvar hastalıklarda da NET-hastalık patogenezi ilişkisi gösterilmiştir (11). Kronik bir inflamatuvar deri hastalığı olan Psoriasis hastalarından izole edilen nötrofillerde sağlıklı kontrol örneklerinden elde edilen nötrofillere göre ROS aracılı NETozis mekanizmasının artmış olduğu da gösterilmiştir (112). Literatürde otoinflamatuvar ve otoimmün hastalıklar dışında akciğer ve kalp hastalıklarında, sepsiste, diyabet gibi metabolik hastalıklarda ve COVID-19'da da NET'in ve NETozis'in hastalıkların patogenezi ile ilişkisinin araştırıldığı çalışmalar mevcuttur. Literatürde BH ile NET yapısının ilişkisinin araştırıldığı çalışmalar bulunmaktadır. Örneğin, 2019 yılında Alexandre Le Joncour ve arkadaşları, çalışmalarında aktif hastalığı olan hastalarda cfDNA (cell-free DNA) ve MPO-DNA düzeylerinin sağlıklı kontrollere ve inaktif hastalara göre yüksek olduğunu göstermişlerdir (14). Aynı çalışmada Behçet hastalarında spontan NETozis oluşumunun da sağlıklı kontrollere göre yüksek olduğu saptanmıştır. Hastalardan alınan biyopsi materyallerinde ise vaskülitik inflamasyon bölgelerinde artmış NET oluşumu gösterilmiştir. PFAPA sendromunda nötrofillerin rolü, hastalığın inflamatuvar karakterini anlamak açısından kritik öneme sahiptir. Nötrofiller, doğuştan gelen bağışıklık yanıtının merkezi bir parçası olarak, patojenlerle mücadelede ve inflamasyon süreçlerinde önemli görevler üstlenirler. PFAPA sendromu sırasında nötrofillerin aktivasyonunda gözlemlenen belirgin değişiklikler, bu hücrelerin hastalığın patogenezinde ne kadar önemli bir rol oynadığını ortaya koymaktadır. PFAPA atakları sırasında, nötrofillerin CD64 ekspresyonunda ve ROS üretiminde önemli bir artış gözlenmesi hücrelerin inflamatuvar yanıtlarının yoğunlaştığını ve patojenlere karşı daha aktif bir şekilde yanıt verdiklerini göstermektedir (73). PFAPA hastalarında NET üretimi ve NETozis konusunda literatürde mevcut çalışmaların eksikliği, bu alandaki bilgilerin sınırlı olduğunu göstermektedir. Bu tez çalışmasında, PFAPA hastalarının nötrofillerinin NET üretme kapasitesinin sağlıklı kontrollere kıyasla yüksek olduğu bulunmuştur (Şekil 4.1), bu da hastalığın inflamatuvar sürecinde NETozisin rolünü destekleyen önemli bir bulgudur. Bu bulgular, PFAPA sendromu ve BH'deki inflamatuvar yanıtların farklılıklarını ve benzerliklerini ortaya koyarak, her iki hastalığın tedavi stratejilerinin

geliştirilmesinde ve yönetiminde önemli ipuçları sağlayabilir.

Bu tez çalışmasında PFAPA ve Behçet hastalarında NET üretimi artmış olarak gözlenmiş fakat bu artış PFAPA hastalarında daha fazla olmuştur (Şekil 4.1). PFAPA ve Behçet hastalıkları, inflamasyonun farklı yollarla tetiklendiği iki farklı hastalık grubudur. PFAPA, periyodik ateş atakları ile karakterize olan bir hastalık olup, sık ve düzenli aralıklarla inflamatuvar yanıtlar gösterir. Bu, sürekli bir inflamatuvar ortam yaratarak nötrofillerin sürekli olarak aktif olmasına ve daha fazla NET üretimine neden olabilir. BH ise genellikle kronik ve süregen bir inflamasyonla ilişkilidir. PFAPA'nın daha sık tekrarlayan atakları, nötrofillerin NET üretimini artırabilir. PFAPA hastalarında NETozis oranının daha fazla olma sebebi bu olabilir fakat ilaç tedavisinin hastalara göre değişiklik gösteriyor olma ihtimali de bu sonuçları etkilemiş olabilir. Bu çalışmaya katılım gösteren bütün hastalar kolşisin tedavisi görmektedir. Bu tedavinin NETozis üzerindeki etkileri hakkında daha fazla araştırma yapılması gerekse de genel olarak inflamasyonu azaltma yeteneği, NETozis sürecini dolaylı olarak etkileyebilir. Bir çalışmada, kolşisin antioksidan bir gücü olmamasına rağmen, oksidasyon kaynaklı NET üretimini engelleyen koruyucu bir etkisi olduğu in vitro ortamda gösterilmiştir (115). Vaidya ve çalışma arkadaşlarının akut koroner sendromu olan hastalar üzerinde yaptığı bir çalışmada ise kolşisin nötrofil iskeletini stabilize ederek NET üretimini inhibe edebildiğini göstermiştir (116). Bu tez çalışmasında, kolşisin tedavisi alan PFAPA ve Behçet hastalarında NET üretiminin yüksek olduğu gözlemlenmiştir. Bu çelişkili sonuçların birkaç olası nedeni olabilir. İlk olarak, kolşisin NET üretimini inhibe etme mekanizması, hastaların genetik ve moleküler profilleri nedeniyle bireysel farklılıklar gösterebilir. İkinci olarak, kolşisin etkisi, inflamasyonun şiddeti ve atak sıklığı gibi klinik faktörlere bağlı olarak değişebilir. PFAPA hastalarında inflamatuvar atakların sık ve yoğun olması, kolşisin tedavisine rağmen yüksek NET üretimine yol açabilir. Üçüncü olarak, kolşisin tedavisine karşı gelişen tolerans veya yetersiz doz, nötrofillerin NET üretimini yeterince baskılayamaması ile sonuçlanabilir. Son olarak, PFAPA ve Behçet hastalıklarının patogenezindeki farklılıklar, kolşisin nötrofil üzerindeki etkilerini de farklılaştırabilir. Bu nedenle, kolşisin farklı hastalık gruplarındaki etkilerini daha iyi anlamak için daha kapsamlı ve uzun süreli klinik çalışmalara ihtiyaç vardır. Bu bulgular, PFAPA ve Behçet hastalarının tedavisinde kolşisin optimal kullanımını

belirlemede bir yol gösterici olabilir.

Bu tez çalışmasında gösterilen bir diğer bulgu, hastalarda yüksek LDN yüzdelerinin görülmesidir. 20 hasta ile yapılan LDN yüzdesi ölçümlerinde hem PFAPA hem Behçet gruplarında LDN'lerin anlamlı olarak sağlıklı kontrollere göre yüksek olduğu bulunmuştur (Şekil 4.2). Bu oran, hastalardan elde edilen kan örneklerinde özellikle atak sırasında ölçüldüğü için hastalık patogenezinde LDN'lerin önemli rolü olduğunu düşündürmektedir.

LDN'ler düşük yoğunluklu nötrofil hücreleridir ve SLE ve RA gibi kronik inflamatuvar hastalıklarda proinflamatuvar özellikleri ile tanımlanmışlardır ve bu hücrelerin yüzdelerinin hastalığın şiddeti ile doğru oranda arttığı daha önce yapılan farklı çalışmalarda gösterilmiştir (87, 88, 94). LDN'lerin inflamatuvar yanıtları artırarak doku hasarına yol açabileceği, bağışıklık sisteminin düzenlenmesinde rol oynayabileceği ve hastalığın ilerleyişini etkileyebileceği düşünülmektedir. LDN'lerin detaylı incelenmesi, kronik inflamatuvar ve otoimmün hastalıkların mekanizmalarının daha iyi anlaşılmasına ve yeni tedavi stratejilerinin geliştirilmesine katkı sağlayabilir. LDN'lerin BH ve PFAPA sendromunda sayılarının artmasının birkaç potansiyel sonucu olabilir. LDN sayılarının artması sonucu inflamatuvar yanıtların şiddeti ve süresi de artabilir. Böylece LDN'lerin yüksek inflamatuvar kapasiteleri, bu hastalıklarda görülen kronik inflamasyonun ve doku hasarının gelişimine katkıda bulunabilir. LDN'lerin NET üretme kapasiteleri, lupus gibi otoimmün hastalıklarda inflamatuvar yanıtları ve doku hasarını artıran bir faktör olarak rol oynar (117). NET'lerin varlığı, inflamatuvar döngüleri tetikleyebilir ve kronik inflamasyonun devam etmesine neden olabilir. LDN'lerin, inflamatuvar sitokinler IL-8 ve IL-6'yı yüksek düzeyde saldıdığı bilinmektedir (87). Bu sitokinler, inflamatuvar yanıtların ve doku hasarının artmasına katkıda bulunabilir. Bu tez çalışması sonuçlarına göre, Behçet hastalığı ve PFAPA sendromunda LDN'lerin yüksek olması, bu hücrelerin inflamatuvar süreçlerde oynadığı kritik rolü vurgular ve bu hastalıklarda LDN'lerin yüksek sayıda olmasının önemi, kronik inflamasyon ve otoimmün yanıtların şiddetini artıran bir mekanizma olarak değerlendirilmelidir.

Kolçisin tedavisi almasına rağmen Behçet ve PFAPA hastalarında LDN sayılarının yüksek kalmasının birkaç nedeni olabilir. Kolçisin, mikrotübül

polimerizasyonunu inhibe ederek hücrel migrasyonu ve inflamatuvar hücrelerin aktivasyonunu azaltır (118), ancak LDN'lerin yüksek sayıda kalması, bu hücrelerin inflamatuvar yanıtın bir parçası olarak sürekli üretilmesi ve aktivasyonunun devam etmesi nedeniyle olabilir. Ayrıca, kolçisin tedavisi LDN'lerin fonksiyonlarını tamamen baskılayamayabilir ve bu hücreler inflamatuvar süreçlerde rol oynamaya devam edebilir. Sonuç olarak, düşük dansiteli nötrofillerin Behçet hastalığı ve PFAPA sendromunda yüksek sayıda olması, bu hücrelerin inflamatuvar yanıtların düzenlenmesinde ve hastalığın patogeneğinde önemli bir rol oynadığını göstermektedir. Bu bulgu, hastalıkların daha iyi anlaşılmasına ve potansiyel tedavi hedeflerinin belirlenmesine katkı sağlayabilir.

Bu tez çalışmasında gösterilen bir diğer bulgu ILC yüzdelerindeki farklılıklar olmuştur. Hem PFAPA hem de Behçet hastalarında sağlıklı kontrollere kıyasla ILC1 yüzdeleri belirgin şekilde yüksek bulundu. PFAPA hastalarında bu artış daha da belirgindi ($p < 0.001$). Bu durum, PFAPA ve Behçet hastalarının inflamatuvar yanıtlarında ILC1 hücrelerinin önemli bir rol oynadığını göstermektedir. ILC2 yüzdeleri açısından, PFAPA ve Behçet hastaları ile sağlıklı kontroller arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır. Bu sonuç, ILC2 hücrelerinin bu hastalıklarda inflamatuvar yanıtı doğrudan katılmadığını veya hastalığın patofizyolojisinde belirgin bir rol oynamadığını gösterebilir. ILC3 yüzdeleri incelendiğinde, PFAPA ve Behçet hastaları ile sağlıklı kontroller arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır. ILC3 hücreleri mukozal bağışıklıkta önemli bir rol oynar, ancak bu hastalıkların patogenezi ile doğrudan ilişkili olmayabilir.

PFAPA ve Behçet hastalarında ILC1 yüzdelerinin yüksek bulunması, bu hücrelerin IFN- γ ve TNF- α gibi pro-inflamatuvar sitokinler üretme kapasiteleriyle ilişkilendirilebilir. Bu sitokinler, inflamatuvar yanıtın artmasına ve hastalığın semptomlarının şiddetlenmesine katkıda bulunabilir. Özellikle PFAPA hastalarında daha belirgin bir artış görülmesi, bu hastalığın inflamatuvar doğasının daha belirgin olabileceğini veya daha güçlü bir immün yanıt tetiklediğini gösterebilir.

ILC2 ve ILC3 hücrelerinde anlamlı bir değişiklik görülmemesi, bu hücre gruplarının PFAPA ve Behçet hastalıklarının patogeneğinde belirgin bir rol oynamadığını veya bu hücrelerin yanıtının hastalık sürecinde daha az önemli olduğunu

gösterebilir. ILC2 hücreleri genellikle alerjik reaksiyonlar ve doku onarımı ile ilişkilidir, bu yüzden bu hastalıklarda aktif rol almıyor olabilirler. ILC3 hücreleri ise mukozal dokularda etkilidir; bu yüzden periferik kan örneklerinde belirgin değişiklikler gözlenmemiş olabilir.

2021 yılında Gelmez ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada, 32 ataklı Behçet hastasında, inaktif Behçet hastalarına ve sağlıklı bireylere kıyasla artmış total ILC ve ILC3 seviyeleri yüksek bulunmuştur. Bu bulgular, bizim çalışmamızda Behçet ve PFAPA hastalarında ILC3 seviyelerinde sağlıklı kontrollere kıyasla anlamlı bir artış bulunmamasıyla çelişmektedir. Gelmez ve arkadaşlarının çalışmasında kullanılan hasta popülasyonu ile bizim çalışmamızda kullanılan hasta popülasyonu arasında farklılıklar olabilir. Örneğin, hastaların yaşı, hastalık süresi, cinsiyet dağılımı, eşlik eden hastalıklar ve tedavi protokolleri farklılık gösterebilir. Bu faktörler, immün yanıtları ve dolayısıyla ILC seviyelerini etkileyebilir.

Bu tez çalışmasında elde edilen sonuçlarda, pediatrik PFAPA hastalarında, hastalığın aktif olduğu dönemde artmış NET üretimi gözlenmiştir (Şekil 4.4) ve bu sonuçlar Behçet ve sağlıklı kontrollerle kıyaslanmıştır. Behçet hastalarında da yüksek oranda NETozis görüldüğü için PFAPA ile Behçet hastaları arasında bir fark gözlenmemiştir. NETozis miktarındaki bu artış, PFAPA hastalarında ilk defa bu tez çalışmasında gösterilmiştir. Ayrıca LDN ve ILC yüzdesine de ilk kez bakılmış olup önemli sonuçlar elde edilmiştir. Elde edilen sonuçların özellikle PFAPA hastalığının patogenezinde ileriye dönük faydalı bilgiler vereceği düşünülmektedir.

6. SONUÇ ve ÖNERİLER

1. PFAPA ve Behçet hastalarının nötrofillerinde, sağlıklı kontrollere kıyasla anlamlı ölçüde artmış NET üretimi gözlenmiştir. PFAPA hastalarında NET üretimi, Behçet hastalarına göre daha fazla bulunmuştur.
2. PFAPA ve Behçet hastalarında, sağlıklı kontrollere kıyasla anlamlı şekilde yüksek LDN yüzdeleri gözlenmiştir.
3. PFAPA hastalarında ILC1 seviyeleri, Behçet hastalarına ve sağlıklı kontrollere kıyasla yüksek bulunmuştur.
4. PFAPA ve Behçet hastalıklarının patogeneğinde rol oynayan hücresel mekanizmaların daha iyi anlaşılması için daha geniş hasta popülasyonları üzerinde çalışmalar yapılmalıdır. Özellikle hastalıkların farklı aşamalarında (atak dönemi vs. remisyonda) bu hücrelerin rollerini incelemek, hastalığın seyrini daha iyi anlamaya yardımcı olabilir.
5. Kolşisinin NETozis üzerindeki etkisini anlamak için ileri in-vitro ve in-vivo çalışmalar yapılmalıdır. Bu, kolşisinin terapötik etkilerini optimize etmek için yeni stratejiler geliştirmeye yardımcı olabilir.
6. ILC'lerin PFAPA ve Behçet hastalıklarındaki rolü daha ayrıntılı bir şekilde incelenmelidir. Özellikle ILC1 hücrelerinin bu hastalıklardaki spesifik fonksiyonları ve bu hücrelerin inflamatuvar yanıtların düzenlenmesindeki katkıları araştırılmalıdır.
7. LDN ve ILC1 seviyeleri gibi immün hücre popülasyonlarının biyomarker olarak kullanımı, hastalık aktivitesini ve tedavi yanıtını izlemek için araştırılmalıdır. Bu tür biyomarkerlar, klinik pratiğe entegre edilerek hastaların yönetiminde faydalı olabilir.
8. PFAPA ve Behçet hastalıklarının tedavisinde, özellikle inflamatuvar yanıtları hedef alan yeni tedavi stratejileri araştırılmalıdır. Bu bağlamda, NETozis ve ILC'ler üzerine odaklanan yeni ilaçlar veya tedavi yaklaşımları, hastaların semptomlarını hafifletmede ve hastalık seyrini iyileştirmede etkili olabilir.

7. KAYNAKLAR

1. Asna Ashari K, Rezaei N. Pfapa (periodic fever, aphthous stomatitis, pharyngitis, and Adenitis) syndrome: An overview of genetic background. *Clinical Rheumatology*. 2021 May 20;40(11):4437–44. doi:10.1007/s10067-021-05770-z
2. Manthiram K, Preite S, Dedeoglu F, Demir S, Ozen S, Edwards KM, et al. Common genetic susceptibility loci link Pfapa syndrome, Behçet's disease, and recurrent aphthous stomatitis. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2020 Jun 9;117(25):14405–11. doi:10.1073/pnas.2002051117.
3. Dilsen N. History and development of Behcet's disease. *Rev Rhum Engl Ed*. 1996;63(7-8):512-9.
4. Berthelot J-M, Le Goff B, Neel A, Maugars Y, Hamidou M. NETosis: At the crossroads of rheumatoid arthritis, Lupus, and Vasculitis. *Joint Bone Spine*. 2017 May;84(3):255–62. doi:10.1016/j.jbspin.2016.05.013
5. Hassani M, Hellebrekers P, Chen N, van Aalst C, Bongers S, Hietbrink F, et al. On the origin of low-density neutrophils. *Journal of Leukocyte Biology*. 2020 Mar 14;107(5):809–18. doi:10.1002/jlb.5hr0120-459r
6. Hazenberg MD, Spits H. Human innate lymphoid cells. *Blood*. 2014 Jul 31;124(5):700–9. doi:10.1182/blood-2013-11-427781.
7. Yildiz M, Haslak F, Adrovic A, Sahin S, Koker O, Barut K, et al. Pediatric Behcet's Disease. *Front Med (Lausanne)*. 2021;8:627192.
8. Yazici H, Tuzun Y, Pazarli H, Yurdakul S, Ozyazgan Y, Ozdogan H, et al. Influence of age of onset and patient's sex on the prevalence and severity of manifestations of Behcet's syndrome. *Ann Rheum Dis*. 1984;43(6):783-9.
9. Pineton de Chambrun M, Wechsler B, Geri G, Cacoub P, Saadoun D. New insights into the pathogenesis of Behcet's disease. *Autoimmun Rev*. 2012;11(10):687-98.
10. Mehmood N, Low L, Wallace GR. Behcet's Disease-Do Microbiomes and Genetics Collaborate in Pathogenesis? *Front Immunol*. 2021;12:648341.
11. Balt J, Uehara O, Abiko Y, Jamyanjav B, Jav S, Nagasawa T, et al. Alteration of oral flora in Mongolian patients with Behcet's disease: a multicentre study. *Clin Exp Rheumatol*. 2020;38 Suppl 127(5):80-5.
12. Seoudi N, Bergmeier LA, Drobniowski F, Paster B, Fortune F. The oral mucosal and salivary microbial community of Behcet's syndrome and recurrent aphthous stomatitis. *J Oral Microbiol*. 2015;7:27150.
13. Cosan F, Aktas Cetin E, Akdeniz N, Emrence Z, Cefle A, Deniz G. Natural Killer Cell Subsets and Their Functional Activity in Behcet's Disease. *Immunol Invest*. 2017;46(4):419-32.
14. Le Joncour A, Martos R, Loyau S, Lelay N, Dossier A, Cazes A, et al. Critical role of neutrophil extracellular traps (NETs) in patients with Behcet's disease. *Ann Rheum Dis*. 2019;78(9):1274-82.
15. Fu B, Tian Z, Wei H. Subsets of human natural killer cells and their regulatory effects. *Immunology*. 2014;141(4):483-9.
16. Accardo-Palumbo A, Giardina AR, Ciccia F, Ferrante A, Principato A, Impastato R, et al. Phenotype and functional changes of Vgamma9/Vdelta2 T lymphocytes in Behcet's disease and the effect of infliximab on Vgamma9/Vdelta2 T cell expansion, activation and cytotoxicity. *Arthritis Res Ther*. 2010;12(3):R109.
17. Freysdottir J, Hussain L, Farmer I, Lau SH, Fortune F. Diversity of gammadelta

T cells in patients with Behcet's disease is indicative of polyclonal activation. *Oral Dis.* 2006;12(3):271-7.

18. Hamzaoui K, Hamzaoui A, Hentati F, Kahan A, Ayed K, Chabbou A, et al. Phenotype and functional profile of T cells expressing gamma delta receptor from patients with active Behcet's disease. *J Rheumatol.* 1994;21(12):2301-6.

19. Tong B, Liu X, Xiao J, Su G. Immunopathogenesis of Behcet's Disease. *Front Immunol.* 2019;10:665.

20. Emmi G, Becatti M, Bettiol A, Hatemi G, Prisco D, Fiorillo C. Behcet's Syndrome as a Model of Thrombo-Inflammation: The Role of Neutrophils. *Front Immunol.* 2019;10:1085.

21. Tsioumpkou M, Krijgsman D, Leusen JHW, Olofsen PA. The Role of Cytokines in Neutrophil Development, Tissue Homing, Function and Plasticity in Health and Disease. *Cells.* 2023;12(15).

22. Ben Ahmed M, Houman H, Miled M, Dellagi K, Louzir H. Involvement of chemokines and Th1 cytokines in the pathogenesis of mucocutaneous lesions of Behcet's disease. *Arthritis Rheum.* 2004;50(7):2291-5.

23. Frassanito MA, Dammacco R, Cafforio P, Dammacco F. Th1 polarization of the immune response in Behcet's disease: a putative pathogenetic role of interleukin-12. *Arthritis Rheum.* 1999;42(9):1967-74.

24. Imamura Y, Kurokawa MS, Yoshikawa H, Nara K, Takada E, Masuda C, et al. Involvement of Th1 cells and heat shock protein 60 in the pathogenesis of intestinal Behcet's disease. *Clin Exp Immunol.* 2005;139(2):371-8.

25. Kim J, Park JA, Lee EY, Lee YJ, Song YW, Lee EB. Imbalance of Th17 to Th1 cells in Behcet's disease. *Clin Exp Rheumatol.* 2010;28(4 Suppl 60):S16-9.

26. Nagafuchi H, Takeno M, Yoshikawa H, Kurokawa MS, Nara K, Takada E, et al. Excessive expression of Txk, a member of the Tec family of tyrosine kinases, contributes to excessive Th1 cytokine production by T lymphocytes in patients with Behcet's disease. *Clin Exp Immunol.* 2005;139(2):363-70.

27. Yamaguchi Y, Takahashi H, Satoh T, Okazaki Y, Mizuki N, Takahashi K, et al. Natural killer cells control a T-helper 1 response in patients with Behcet's disease. *Arthritis Res Ther.* 2010;12(3):R80.

28. Chi W, Zhou S, Yang P, Chen L. CD4(+) T cells from behcet patients produce high levels of IL-17. *Eye Sci.* 2011;26(2):65-9.

29. Direskeneli H, Fujita H, Akdis CA. Regulation of TH17 and regulatory T cells in patients with Behcet disease. *J Allergy Clin Immunol.* 2011;128(3):665-6.

30. Filleron A, Tran TA, Hubert A, Letierce A, Churlaud G, Kone-Paut I, et al. Regulatory T cell/Th17 balance in the pathogenesis of paediatric Behcet disease. *Rheumatology (Oxford).* 2021;61(1):422-9.

31. Aktas Cetin E, Cosan F, Cefle A, Deniz G. IL-22-secreting Th22 and IFN-gamma-secreting Th17 cells in Behcet's disease. *Mod Rheumatol.* 2014;24(5):802-7.

32. Sugita S, Kawazoe Y, Imai A, Kawaguchi T, Horie S, Keino H, et al. Role of IL-22- and TNF-alpha-producing Th22 cells in uveitis patients with Behcet's disease. *J Immunol.* 2013;190(11):5799-808.

33. Cai T, Wang Q, Zhou Q, Wang C, Hou S, Qi J, et al. Increased expression of IL-22 is associated with disease activity in Behcet's disease. *PLoS One.* 2013;8(3):e59009.

34. de Menthon M, Lavalley MP, Maldini C, Guillevin L, Mahr A. HLA-B51/B5 and the risk of Behcet's disease: a systematic review and meta-analysis of case-control

- genetic association studies. *Arthritis Rheum.* 2009;61(10):1287-96.
35. Takeno M. The association of Behcet's syndrome with HLA-B51 as understood in 2021. *Curr Opin Rheumatol.* 2022;34(1):4-9.
 36. Demirseren DD, Ceylan GG, Akoglu G, Emre S, Erten S, Arman A, et al. HLA-B51 subtypes in Turkish patients with Behcet's disease and their correlation with clinical manifestations. *Genet Mol Res.* 2014;13(3):4788-96.
 37. Koumantaki Y, Stavropoulos C, Spyropoulou M, Messini H, Papademetropoulos M, Giziaki E, et al. HLA-B*5101 in Greek patients with Behcet's disease. *Hum Immunol.* 1998;59(4):250-5.
 38. Pirim I, Atasoy M, Ikbal M, Erdem T, Aliagaoglu C. HLA class I and class II genotyping in patients with Behcet's disease: a regional study of eastern part of Turkey. *Tissue Antigens.* 2004;64(3):293-7.
 39. Mungall AJ, Palmer SA, Sims SK, Edwards CA, Ashurst JL, Wilming L, et al. The DNA sequence and analysis of human chromosome 6. *Nature.* 2003;425(6960):805-11.
 40. Choo SY. The HLA system: genetics, immunology, clinical testing, and clinical implications. *Yonsei Med J.* 2007;48(1):11-23.
 41. Pavlos R, McKinnon EJ, Ostrov DA, Peters B, Buus S, Koelle D, et al. Shared peptide binding of HLA Class I and II alleles associate with cutaneous nevirapine hypersensitivity and identify novel risk alleles. *Sci Rep.* 2017;7(1):8653.
 42. Gebreselassie D, Spiegel H, Vukmanovic S. Sampling of major histocompatibility complex class I-associated peptidome suggests relatively looser global association of HLA-B*5101 with peptides. *Hum Immunol.* 2006;67(11):894-906.
 43. Khoshbakht S, Baskurt D, Vural A, Vural S. Behcet's Disease: A Comprehensive Review on the Role of HLA-B*51, Antigen Presentation, and Inflammatory Cascade. *Int J Mol Sci.* 2023;24(22).
 44. Kone-Paut I. Behcet's disease in children, an overview. *Pediatr Rheumatol Online J.* 2016;14(1):10.
 45. Costagliola G, Cappelli S, Consolini R. Behcet's Disease in Children: Diagnostic and Management Challenges. *Ther Clin Risk Manag.* 2020;16:495-507.
 46. Kone-Paut I, Shahram F, Darce-Bello M, Cantarini L, Cimaz R, Gattorno M, et al. Consensus classification criteria for paediatric Behcet's disease from a prospective observational cohort: PEDBD. *Ann Rheum Dis.* 2016;75(6):958-64.
 47. Tugal-Tutkun I, Mudun A, Urgancioglu M, Kamali S, Kasapoglu E, Inanc M, et al. Efficacy of infliximab in the treatment of uveitis that is resistant to treatment with the combination of azathioprine, cyclosporine, and corticosteroids in Behcet's disease: an open-label trial. *Arthritis Rheum.* 2005;52(8):2478-84.
 48. Kone-Paut I, Yurdakul S, Bahabri SA, Shafae N, Ozen S, Ozdogan H, et al. Clinical features of Behcet's disease in children: an international collaborative study of 86 cases. *J Pediatr.* 1998;132(4):721-5.
 49. Ostrovsky M, Rosenblatt A, Iriqat S, Shteivi A, Sharon Y, Kramer M, et al. Ocular Behcet Disease-Clinical Manifestations, Treatments and Outcomes According to Age at Disease Onset. *Biomedicines.* 2023;11(2).
 50. Noel N, Bernard R, Wechsler B, Resche-Rigon M, Depaz R, Le Thi Huong Boutin D, et al. Long-term outcome of neuro-Behcet's disease. *Arthritis Rheumatol.* 2014;66(5):1306-14.
 51. Yildiz M, Koker O, Adrovic A, Sahin S, Barut K, Kasapcopur O. Pediatric

Behcet's disease - clinical aspects and current concepts. *Eur J Rheumatol.* 2020;7(Suppl1):S38-S47.

52. Bulur I, Onder M. Behcet disease: New aspects. *Clin Dermatol.* 2017;35(5):421-34.

53. Bayraktar Y, Ozaslan E, Van Thiel DH. Gastrointestinal manifestations of Behcet's disease. *J Clin Gastroenterol.* 2000;30(2):144-54.

54. Hu YC, Chiang BL, Yang YH. Clinical Manifestations and Management of Pediatric Behcet's Disease. *Clin Rev Allergy Immunol.* 2021;61(2):171-80.

55. Mendes D, Correia M, Barbedo M, Vaio T, Mota M, Goncalves O, et al. Behcet's disease--a contemporary review. *J Autoimmun.* 2009;32(3-4):178-88.

56. Hatemi G, Mahr A, Ishigatsubo Y, Song YW, Takeno M, Kim D, et al. Trial of Apremilast for Oral Ulcers in Behcet's Syndrome. *N Engl J Med.* 2019;381(20):1918-28.

57. Saadoun D, Wechsler B, Terrada C, Hajage D, Le Thi Huong D, Resche-Rigon M, et al. Azathioprine in severe uveitis of Behcet's disease. *Arthritis Care Res (Hoboken).* 2010;62(12):1733-8.

58. Esatoglu SN, Hatemi G. Update on the treatment of Behcet's syndrome. *Intern Emerg Med.* 2019;14(5):661-75.

59. Hatemi G, Christensen R, Bang D, Bodaghi B, Celik AF, Fortune F, et al. 2018 update of the EULAR recommendations for the management of Behcet's syndrome. *Ann Rheum Dis.* 2018;77(6):808-18.

60. Kotter I, Gunaydin I, Zierhut M, Stubiger N. The use of interferon alpha in Behcet disease: review of the literature. *Semin Arthritis Rheum.* 2004;33(5):320-35.

61. Wang A, Manthiram K, Dedeoglu F, Licameli GR. Periodic fever, aphthous stomatitis, pharyngitis, and adenitis (PFAPA) syndrome: A review. *World J Otorhinolaryngol Head Neck Surg.* 2021;7(3):166-73.

62. Perko D, Debeljak M, Toplak N, Avcin T. Clinical features and genetic background of the periodic Fever syndrome with aphthous stomatitis, pharyngitis, and adenitis: a single center longitudinal study of 81 patients. *Mediators Inflamm.* 2015;2015:293417.

63. Gomez-Caverzaschi V, Yague J, Espinosa G, Mayordomo-Bofill I, Bedon-Galarza R, Araujo O, et al. Disease phenotypes in adult patients with suspected undifferentiated autoinflammatory diseases and PFAPA syndrome: Clinical and therapeutic implications. *Autoimmun Rev.* 2024:103520.

64. Kanik A, Eliacik K, Kanik ET, Demircelik Y, Demir BK. A comparative study for the clinical features in children with PFAPA syndrome who were diagnosed before and after the age of five. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol.* 2022;158:111153.

65. Kovacs L, Hlavata A, Baldovic M, Paulovicova E, Dallos T, Fehervizyova Z, et al. Elevated immunoglobulin D levels in children with PFAPA syndrome. *Neuro Endocrinol Lett.* 2010;31(6):743-6.

66. Oretti C, Barbi E, Marchetti F, Lepore L, Ventura A, D'Osualdo A, et al. Diagnostic challenge of hyper-IgD syndrome in four children with inflammatory gastrointestinal complaints. *Scand J Gastroenterol.* 2006;41(4):430-6.

67. Yamazaki T, Hokibara S, Shigemura T, Kobayashi N, Honda K, Umeda Y, et al. Markedly elevated CD64 expressions on neutrophils and monocytes are useful for diagnosis of periodic fever, aphthous stomatitis, pharyngitis, and cervical adenitis (PFAPA) syndrome during flares. *Clin Rheumatol.* 2014;33(5):677-83.

68. Stojanov S, Lapidus S, Chitkara P, Feder H, Salazar JC, Fleisher TA, et al.

Periodic fever, aphthous stomatitis, pharyngitis, and adenitis (PFAPA) is a disorder of innate immunity and Th1 activation responsive to IL-1 blockade. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2011;108(17):7148-53.

69. Franchi L, Eigenbrod T, Munoz-Planillo R, Nunez G. The inflammasome: a caspase-1-activation platform that regulates immune responses and disease pathogenesis. *Nat Immunol*. 2009;10(3):241-7.

70. Theodoropoulou K, Vanoni F, Hofer M. Periodic Fever, Aphthous Stomatitis, Pharyngitis, and Cervical Adenitis (PFAPA) Syndrome: a Review of the Pathogenesis. *Curr Rheumatol Rep*. 2016;18(4):18.

71. Cartmell T, Poole S, Turnbull AV, Rothwell NJ, Luheshi GN. Circulating interleukin-6 mediates the febrile response to localised inflammation in rats. *J Physiol*. 2000;526 Pt 3(Pt 3):653-61.

72. Vuran G, Berdeli A. Next-Generation Sequencing Analysis of MVK, NLRP3, TNFRSF1A, and PSTPIP1 Genes in Patients without MEFV Gene Variation and Genotype-Phenotype Correlation. *Eur J Rheumatol*. 2022;9(2):62-7.

73. Sundqvist M, Wekell P, Osla V, Bylund J, Christenson K, Savman K, et al. Increased intracellular oxygen radical production in neutrophils during febrile episodes of periodic fever, aphthous stomatitis, pharyngitis, and cervical adenitis syndrome. *Arthritis Rheum*. 2013;65(11):2971-83.

74. Nigrovic PA, Lee PY, Hoffman HM. Monogenic autoinflammatory disorders: Conceptual overview, phenotype, and clinical approach. *J Allergy Clin Immunol*. 2020;146(5):925-37.

75. Dusser P, Hentgen V, Neven B, Kone-Paut I. Is colchicine an effective treatment in periodic fever, aphthous stomatitis, pharyngitis, cervical adenitis (PFAPA) syndrome? *Joint Bone Spine*. 2016;83(4):406-11.

76. Feder HM, Salazar JC. A clinical review of 105 patients with PFAPA (a periodic fever syndrome). *Acta Paediatr*. 2010;99(2):178-84.

77. Ter Haar N, Lachmann H, Ozen S, Woo P, Uziel Y, Modesto C, et al. Treatment of autoinflammatory diseases: results from the Eurofever Registry and a literature review. *Ann Rheum Dis*. 2013;72(5):678-85.

78. Wurster VM, Carlucci JG, Feder HM, Jr., Edwards KM. Long-term follow-up of children with periodic fever, aphthous stomatitis, pharyngitis, and cervical adenitis syndrome. *J Pediatr*. 2011;159(6):958-64.

79. Ibanez Alcalde MLM, Caldevilla Asenjo L, Calvo Rey C, Garcia-Mon Maranes F, Blazquez Gamero D, Saavedra Lozano J, et al. Characteristics and Disease Course in a Cohort of Children With PFAPA Syndrome in the Community of Madrid, Spain. *Reumatol Clin (Engl Ed)*. 2019;15(6):355-9.

80. Krol P, Bohm M, Sula V, Dytrych P, Katra R, Nemcova D, et al. PFAPA syndrome: clinical characteristics and treatment outcomes in a large single-centre cohort. *Clin Exp Rheumatol*. 2013;31(6):980-7.

81. Malech HL, Deleo FR, Quinn MT. The role of neutrophils in the immune system: an overview. *Methods Mol Biol*. 2014;1124:3-10.

82. Lee WL, Harrison RE, Grinstein S. Phagocytosis by neutrophils. *Microbes Infect*. 2003;5(14):1299-306.

83. Chan L, Karimi N, Morovati S, Alizadeh K, Kakish JE, Vanderkamp S, et al. The Roles of Neutrophils in Cytokine Storms. *Viruses*. 2021;13(11).

84. Domer D, Walther T, Moller S, Behnen M, Laskay T. Neutrophil Extracellular Traps Activate Proinflammatory Functions of Human Neutrophils. *Front Immunol*.

2021;12:636954.

85. Hacbarth E, Kajdacsy-Balla A. Low density neutrophils in patients with systemic lupus erythematosus, rheumatoid arthritis, and acute rheumatic fever. *Arthritis Rheum.* 1986;29(11):1334-42.
86. Carmona-Rivera C, Kaplan MJ. Low-density granulocytes: a distinct class of neutrophils in systemic autoimmunity. *Semin Immunopathol.* 2013;35(4):455-63.
87. Denny MF, Yalavarthi S, Zhao W, Thacker SG, Anderson M, Sandy AR, et al. A distinct subset of proinflammatory neutrophils isolated from patients with systemic lupus erythematosus induces vascular damage and synthesizes type I IFNs. *J Immunol.* 2010;184(6):3284-97.
88. Bennett L, Palucka AK, Arce E, Cantrell V, Borvak J, Banchereau J, et al. Interferon and granulopoiesis signatures in systemic lupus erythematosus blood. *J Exp Med.* 2003;197(6):711-23.
89. Gabay C, Cakir N, Moral F, Roux-Lombard P, Meyer O, Dayer JM, et al. Circulating levels of tumor necrosis factor soluble receptors in systemic lupus erythematosus are significantly higher than in other rheumatic diseases and correlate with disease activity. *J Rheumatol.* 1997;24(2):303-8.
90. Malide D, Russo P, Bendayan M. Presence of tumor necrosis factor alpha and interleukin-6 in renal mesangial cells of lupus nephritis patients. *Hum Pathol.* 1995;26(5):558-64.
91. Studnicka-Benke A, Steiner G, Petera P, Smolen JS. Tumour necrosis factor alpha and its soluble receptors parallel clinical disease and autoimmune activity in systemic lupus erythematosus. *Br J Rheumatol.* 1996;35(11):1067-74.
92. Garcia-Romo GS, Caielli S, Vega B, Connolly J, Allantaz F, Xu Z, et al. Netting neutrophils are major inducers of type I IFN production in pediatric systemic lupus erythematosus. *Sci Transl Med.* 2011;3(73):73ra20.
93. Kahlenberg JM, Carmona-Rivera C, Smith CK, Kaplan MJ. Neutrophil extracellular trap-associated protein activation of the NLRP3 inflammasome is enhanced in lupus macrophages. *J Immunol.* 2013;190(3):1217-26.
94. Murad M, Low L, Davidson M, Murray PI, Rauz S, Wallace GR. Low density neutrophils are increased in patients with Behcet's disease but do not explain differences in neutrophil function. *J Inflamm (Lond).* 2022;19(1):5.
95. Rada B. Neutrophil Extracellular Traps. *Methods Mol Biol.* 2019;1982:517-28.
96. Brinkmann V, Reichard U, Goosmann C, Fauler B, Uhlemann Y, Weiss DS, et al. Neutrophil extracellular traps kill bacteria. *Science.* 2004;303(5663):1532-5.
97. Hakkim A, Fuchs TA, Martinez NE, Hess S, Prinz H, Zychlinsky A, et al. Activation of the Raf-MEK-ERK pathway is required for neutrophil extracellular trap formation. *Nat Chem Biol.* 2011;7(2):75-7.
98. Lu DJ, Furuya W, Grinstein S. Involvement of multiple kinases in neutrophil activation. *Blood Cells.* 1993;19(2):343-9; discussion 9-51.
99. Lominadze G, Powell DW, Luerman GC, Link AJ, Ward RA, McLeish KR. Proteomic analysis of human neutrophil granules. *Mol Cell Proteomics.* 2005;4(10):1503-21.
100. Voynow JA, Shinbashi M. Neutrophil Elastase and Chronic Lung Disease. *Biomolecules.* 2021;11(8).
101. Weinrauch Y, Drujan D, Shapiro SD, Weiss J, Zychlinsky A. Neutrophil elastase targets virulence factors of enterobacteria. *Nature.* 2002;417(6884):91-4.

102. Hazen SL, Hsu FF, Duffin K, Heinecke JW. Molecular chlorine generated by the myeloperoxidase-hydrogen peroxide-chloride system of phagocytes converts low density lipoprotein cholesterol into a family of chlorinated sterols. *J Biol Chem.* 1996;271(38):23080-8.
103. Liu X, Arfman T, Wichapong K, Reutelingsperger CPM, Voorberg J, Nicolaes GAF. PAD4 takes charge during neutrophil activation: Impact of PAD4 mediated NET formation on immune-mediated disease. *J Thromb Haemost.* 2021;19(7):1607-17.
104. Vorobjeva NV, Chernyak BV. NETosis: Molecular Mechanisms, Role in Physiology and Pathology. *Biochemistry (Mosc).* 2020;85(10):1178-90.
105. Iba T, Murai M, Nagaoka I, Tabe Y. Neutrophil extracellular traps, damage-associated molecular patterns, and cell death during sepsis. *Acute Med Surg.* 2014;1(1):2-9.
106. Mutua V, Gershwin LJ. A Review of Neutrophil Extracellular Traps (NETs) in Disease: Potential Anti-NETs Therapeutics. *Clin Rev Allergy Immunol.* 2021;61(2):194-211.
107. Le Joncour A, Cacoub P, Boulaftali Y, Saadoun D. Neutrophil, NETs and Behcet's disease: A review. *Clin Immunol.* 2023;250:109318.
108. Glennon-Alty L, Hackett AP, Chapman EA, Wright HL. Neutrophils and redox stress in the pathogenesis of autoimmune disease. *Free Radic Biol Med.* 2018;125:25-35.
109. Kato T, Kitagawa S. Regulation of neutrophil functions by proinflammatory cytokines. *Int J Hematol.* 2006;84(3):205-9.
110. Nagasawa M, Spits H, Ros XR. Innate Lymphoid Cells (ILCs): Cytokine Hubs Regulating Immunity and Tissue Homeostasis. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 2018;10(12).
111. Clottu AS, Humbel M, Fluder N, Karampetsou MP, Comte D. Innate Lymphoid Cells in Autoimmune Diseases. *Front Immunol.* 2021;12:789788.
112. Hu SC, Yu HS, Yen FL, Lin CL, Chen GS, Lan CC. Neutrophil extracellular trap formation is increased in psoriasis and induces human beta-defensin-2 production in epidermal keratinocytes. *Sci Rep.* 2016;6:31119.
113. Jia J, Wang M, Meng J, Ma Y, Wang Y, Miao N, et al. Ferritin triggers neutrophil extracellular trap-mediated cytokine storm through Msr1 contributing to adult-onset Still's disease pathogenesis. *Nat Commun.* 2022;13(1):6804.
114. Odabas AR, Karakuzu A, Cetinkaya R, Selcuk Y, Keles S, Bilen H. Increased serum ferritin levels in active Behcet's disease. *Int J Clin Pract.* 2002;56(4):310-1.
115. Bettiol A, Becatti M, Silvestri E, Argento FR, Fini E, Mannucci A, et al. Neutrophil-mediated mechanisms of damage and in-vitro protective effect of colchicine in non-vascular Behçet's syndrome. *Clinical and Experimental Immunology.* 2021 Oct 8;206(3):410–21. doi:10.1111/cei.13664.
116. Vaidya K, Tucker B, Kurup R, Khandkar C, Pandzic E, Barraclough J, et al. Colchicine inhibits neutrophil extracellular trap formation in patients with acute coronary syndrome after percutaneous coronary intervention. *Journal of the American Heart Association.* 2021 Jan 5;10(1). doi:10.1161/jaha.120.018993.
117. Tay SH, Celhar T, Fairhurst A. Low-density neutrophils in systemic lupus erythematosus. *Arthritis & Rheumatology.* 2020 Aug 26;72(10):1587–95. doi:10.1002/art.41395
118. Margolis RL, Wilson L. Addition of colchicine-tubulin complex to microtubule ends: The mechanism of substoichiometric colchicine poisoning. *Proceedings of the*

National Academy of Sciences. 1977 Aug;74(8):3466-70.
doi:10.1073/pnas.74.8.3466

8. EKLER

Ek 1. Tez Çalışması ile İlgili Etik Kurul İzni



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

Sayı : 16969557-721

Konu : ARAŞTIRMA PROJESİ DEĞERLENDİRME RAPORU

Toplantı Tarihi : 05 NİSAN 2022 SALI
Toplantı No : 2022/06
Proje No : GO 22/320 (Değerlendirme Tarihi: 05.04.2022)
Karar No : 2022/06-60

Üniversitemiz Çocuk Sağlığı Enstitüsü öğretim üyelerinden Dr. Öğr. Üyesi Baran ERMAN'ın sorumlu araştırmacı olduğu, Prof. Dr. Sara Şebnem Kılıç GÜLTEKİN, Dr. Öğr. Gör. Hülya KÖSE ile birlikte çalışacakları, GO 22/320 kayıt numaralı "**Pediyatrik Behçet ve PFAPA Sendromlu Hastalarda Netozis ve Nötrofil Fonksiyonlarının Araştırılması**" başlıklı proje önerisi araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş olup, 06 Nisan 2022 – 06 Nisan 2023 tarihleri arasında geçerli olmak üzere etik açıdan **uygun bulunmuştur**. Çalışma tamamlandığında sonuçlarını içeren bir rapor örneğinin Etik Kurulumuza gönderilmesi gerekmektedir.

1. Prof. Dr. G. Burça AYDIN	(Başkan)	8. Doç. Dr. Hande Güney DENİZ	(Üye)
İZİNLİ			
2. Prof. Dr. M. Özgür UYANIK	(Üye)	9. Doç. Dr. Tolga YILDIRIM	(Üye)
		İZİNLİ	
3. Prof. Dr. Ayşe Kin İŞLER	(Üye)	10. Doç. Dr. Merve BATUK	(Üye)
4. Prof. Dr. Sibel PEHLİVAN	(Üye)	11. Doç. Dr. Gülten KOÇ	(Üye)
5. Doç. Dr. H. Tuna Çak ESEN	(Üye)	12. Dr. Öğr. Üyesi Müge DEMİR	(Üye)
6. Doç. Dr. Nüket Paksoy ERBAYDAR	(Üye)	13. Av. Buket ÇINAR	(Üye)
7. Doç. Dr. Betül Çelebi SALTİK	(Üye)		

Ek 2. Orijinallik Ekran Çıktısı

24.07.2024 11:48 Turnitin - Orijinallik Raporu - PFAPA HASTALARINDA BEHÇET HASTALARI İLE KARŞILAŞTIRMALI OLARAK NETOZİS, DÜŞÜK DANSİTELİ NÖTROFİLLER VE DOĞAL LENFOİD ...

Turnitin Orijinallik Raporu	
İşleme kondu: 24-Tem-2024 11:25 +03 NUMARA: 2421721354 Kelime Sayısı: 13487 Gönderildi: 1	
PFAPA HASTALARINDA BEHÇET HASTALARI İLE KARŞILAŞTIRMALI OLARAK NETOZİS, DÜŞÜK DANSİTELİ NÖTROFİLLER VE DOĞAL LENFOİD HÜCRELERİN DEĞERLENDİRİLMESİ Ümran-Abacı tarafından	
Benzerlik Endeksi 7%	Kaynağa göre Benzerlik İnternet Sources: %5 Yayımlar: %5 Öğrenci Ödevleri: %1

< 1% match (03-Şub-2017 tarihli öğrenci ödevleri) Submitted to TechKnowledge Turkey on 2017-02-03
< 1% match (21-Haz-2017 tarihli öğrenci ödevleri) Submitted to TechKnowledge Turkey on 2017-06-21
< 1% match (26-Haz-2017 tarihli öğrenci ödevleri) Submitted to TechKnowledge Turkey on 2017-06-26
< 1% match (05-Eki-2016 tarihli öğrenci ödevleri) Submitted to TechKnowledge Turkey on 2016-10-05
< 1% match (28-Ara-2021 tarihli internet) https://ihsadyavinevi.com/wp-content/uploads/2021/12/Teori-Arastirma-Uyqulamalar-TEMEI-TIP-BİLİMLERİNDE-GÜNCEL-YAKLAŞIMLAR.pdf
< 1% match (05-May-2024 tarihli internet) https://pdffox.com/skapular-retraksiyon-egzersizlerinin-aseptomatik-ve-subakromiyal-skma-sendromu-olan-pdf-free.html
< 1% match ("Textbook of Autoinflammation", Springer Nature, 2019) "Textbook of Autoinflammation", Springer Nature, 2019
< 1% match (03-Tem-2019 tarihli internet) https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2018.01895/full
< 1% match (18-Ara-2023 tarihli internet) https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2023.1253964/full
< 1% match (08-Haz-2023 tarihli internet) https://www.researchgate.net/publication/337111520_Benign_Anorctal_Schwannom'un_Transanal_Submukozal_Rezaksiyonu
< 1% match (05-Oca-2023 tarihli internet) https://www.researchgate.net/publication/263542170_IOLMaster_ve_A-Taravici_Ultrason_ile_On_Kamara_Derinligi_ve_Aksiyel_Uzunluk_Olcumlerinin_Karsilastirilmasi
< 1% match () Phillip Ssekamatte, Marjorie Nakibuule, Rose Nabatanzi, Moses Egesa et al. "Type 2 Diabetes Mellitus and Latent Tuberculosis Infection Moderately Influence Innate Lymphoid Cell Immune Responses in Uganda", <i>Frontiers in Immunology</i> .
< 1% match (30-May-2017 tarihli öğrenci ödevleri) Submitted to Akdeniz University on 2017-05-30
< 1% match (01-Şub-2022 tarihli internet)

https://www.turnitin.com/newreport_printview.asp?eq=1&eb=1&esm=0&oid=2421721354&sid=0&n=0&m=2&svr=6&r=53.16857881046744&lang=tr

1/17

Ek 3. Dijital Makbuz



Dijital Makbuz

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

Gönderinizin ilk sayfası aşağıda gönderilmektedir.

Gönderen: Ümran Aba
Ödev başlığı: PFAPA HASTALARINDA BEHÇET HASTALARI İLE KARŞILAŞTIRM...
Gönderi Başlığı: PFAPA HASTALARINDA BEHÇET HASTALARI İLE KARŞILAŞTIRM...
Dosya adı: TEZ_ÜA.docx
Dosya boyutu: 2.72M
Sayfa sayısı: 66
Kelime sayısı: 13,487
Karakter sayısı: 90,537
Gönderim Tarihi: 24-Tem-2024 11:24ÖÖ (UTC+0300)
Gönderim Numarası: 2421721354



9. ÖZGEÇMİŞ

İsim: Ümran Aba

e-mail: umranaba127@gmail.com

Adres: 06530 Çankaya/Ankara, Türkiye

EĞİTİM

Hacettepe Üniversitesi, Çocuk Sağlığı Entitüsü

08.2022 – 08.2024

MSc., **İmmünoloji** (GPA: 3.59)

Danışman: Doç. Dr. Baran Erman

Tez: PFAPA Hastalarında Behçet Hastaları ile Karşılaştırmalı Olarak NETozis, Düşük Dansiteli Nötrofiller ve Doğal Lenfoid Hücrelerin Değerlendirilmesi.

Orta Doğu Teknik Üniversitesi (ODTÜ), Fen Edebiyat Fakültesi

2017 – 2022

BSc., **Biyoloji** (GPA: 2.98)

YAYINLAR

1. Erman B, Aba U, Ipsir C, Pehlivan D, Aytakin C, Cildir G, et al. Genetic evaluation of the patients with clinically diagnosed inborn errors of immunity by whole exome sequencing: Results from a Specialized Research Center for immunodeficiency in Türkiye. 2024 Mar 11; doi:10.21203/rs.3.rs-4058291/v1

2. Aba Ü, Maslak İC, İpşir C, Pehlivan D, Warnock NI, Tumes DJ, et al. A novel homozygous germline mutation in transferrin receptor 1 (tfr1) leads to combined immunodeficiency and provides new insights into iron-immunity axis. Journal of Clinical Immunology. 2024 Jan 25;44(2). doi:10.1007/s10875-024-01658-0

DENEYİM

Can Sucak Translasyonel İmmünoloji Araştırma Laboratuvarı, Hacettepe

Üniversitesi

08.2022-08.2024

Bursiyer, Doç. Dr. Baran Erman danışmanlığında

DİL

İngilizce, C1
