



**T.C.
MUĞLA SITKI KOÇMAN ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ BİYOLOJİ ANA BİLİM DALI
TIBBİ BİYOLOJİ TEZLİ YÜKSEK LİSANS PROGRAMI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**KRONİK TONSİLLİTTE MİR-520D-5P, SMURF1 VE SMURF2
GENLERİNİN MOLEKÜLER VE IN SILICO ANALİZİ**

Murat CENİK

MUĞLA- 2025

T.C.
MUĞLA SITKI KOÇMAN ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ BİYOLOJİ ANA BİLİM DALI
TIBBİ BİYOLOJİ TEZLİ YÜKSEK LİSANS PROGRAMI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

KRONİK TONSİLLİTTE MİR-520D-5P, SMURF1 VE SMURF2
GENLERİNİN MOLEKÜLER VE IN SILICO ANALİZİ

Murat CENİK

Tez Danışmanı
Prof. Dr. Tuba EDGÜNLÜ

MUĞLA-2025

TEZ ONAYI

Murat CENİK tarafından hazırlanan “Kronik Tonsillitte miR-520d-5p, Smurf1 ve Smurf2 Genlerinin Moleküler ve in silico Analizi” başlıklı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Tıbbi Biyoloji Ana Bilim Dalı, Tıbbi Biyoloji Tezli Yüksek Lisans Programında, Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı	Prof. Dr. Sevim KARAKAŞ ÇELİK Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi	(İmza)
Tez Danışmanı	Prof. Dr. Tuba EDGÜNLÜ Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi	(İmza)
Üye	Doç. Dr. Turan DEMİRCAN Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi	(İmza)

Tez savunma tarihi: 17.06.2025

Bu tez Tıbbi Biyoloji Ana Bilim Dalı, Tıbbi Biyoloji Tezli Yüksek Lisans Programında, Yüksek Lisans Tezi olması için gerekli şartları yerine getirmektedir.

Prof. Dr. Müesser ÖZCAN
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

YAYIMLAMA VE FİKRİ MÜLKİYET HAKLARI BEYANI

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 metinleri sahiplerinden yazılı izin alarak kullandığımı ve istenildiğinde suretlerini Üniversiteye teslim etmeyi taahhüt ederim.

Enstitü tarafından onaylanan lisansüstü tezimin tamamını veya herhangi bir kısmını, basılı (kâğıt) ve elektronik formatta arşivleme ve aşağıda verilen koşullarla kullanıma açma iznini Muğla Sıtkı Koçman 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.

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

- Tezimle ilgili patent başvurusu yapılacağından veya patent alma süreci devam ettiğinden Enstitü Yönetim Kurulu kararı ile tezimin mezuniyet tarihimden itibaren 2 yıl erişime açılmasının ertelenmesini talep ediyorum.
- Tezimde yeni teknik, materyal ve metotlar kullanıldığından ve henüz makaleye dönüşmemiş olduğundan Enstitü Yönetim Kurul kararı ile mezuniyet tarihimden itibaren 6 ay tezimin erişime açılmasının ertelenmesini talep ediyorum.

17.06.2025

(İmza)

Murat CENİK

ETİK BEYAN

Yüksek lisans tezi olarak sunduğum “Kronik Tonsillitte miR520d-5p, Smurf1 ve Smurf2 Genlerinin Moleküler ve in silico Analizi” isimli çalışmada tezin planlanmasından yazımına kadar tüm süreçlerde etik ilkelere bağlı kaldığımı, tezime ilişkin bilgi ve belgeleri akademik ve bilimsel etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, kullandığım verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı, tezimde kullandığım tüm görsel ve yazılı materyallerin kaynağını gösterdiğimi, yararlandığım eserlerin tümünün kaynaklar bölümünde yer aldığını, tezimin Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kılavuzuna göre yazıldığını beyan ederim.

17.06.2025

(İmza)

Murat CENİK

TEŞEKKÜR

Öncelikle, yüksek lisans eğitimim ve tez çalışmalarım boyunca bilgi ve tecrübelerini hiç esirgmeden paylaşan, bana her daim yol gösteren, her zaman motive eden ve yanımda olan, desteğini hep arkamda hissettiğim, özverili çalışmalarını örnek aldığım danışmanım değerli hocam Prof. Dr. Tuba EDGÜNLÜ'ye sabrı, hoşgörüsü ve güler yüzü için teşekkürü borç bilirim.

Anabilim dalımızın değerli hocaları; Sn. Doç. Dr. Esin SAKALLI ÇETİN' e, Sn. Doç. Dr. Turan DEMİRCAN' a, Sn. Arş. Gör. Dr. İbrahim Uğur ÇALIŞ' a ve Sn. Arş. Gör. Dr. Aycan AŞIK' a yüksek lisans eğitimim boyunca yaptıkları bilimsel ve akademik katkıdan dolayı teşekkür ederim.

Tezimde yer alan hasta ve kontrol gruplarının doku örneklerinin toplanmasını organize eden, MSKÜ K.B.B Ana Bilim Dalı Öğretim Üyeleri; Sn. Doç. Dr. Ozan GÖKDOĞAN'a, Sn. Uzm. Dr. Ömer Faruk GÜZEL' e teşekkür ederim.

Tez ve laboratuvar çalışmalarım süresince tüm tecrübesini ve bilgi birikimini içtenlikle benimle paylaşan ve her zaman sabırla yanımda olan Çilem ÖZDEMİR'e, yüksek lisans eğitimim boyunca destekleri ve arkadaşlıkları için Murat YILMAZ, Ecenur ÖZDEMİR ve Dilek AKBAŞ 'a teşekkür ederim.

Hayatımın her döneminde yanımda olan, maddi ve manevi desteklerini benden eksik etmeyen ve benim bu zamanlara gelmemi sağlayan canım aileme sonsuz teşekkür ederim.

KRONİK TONSİLLİTTE MİR-520D-5P, SMURF1 VE SMURF2 GENLERİNİN MOLEKÜLER VE IN SILICO ANALİZİ

ÖZET

Çocukluk çağının en yaygın kulak burun boğaz rahatsızlıklarından olan tonsil hastalıkları, tonsil hipertrofisi ve rekürren tonsillit şeklinde görülür. Tonsil hipertrofisi, tonsillerin uyku ve beslenme sorunlarına yol açan anormal büyümesiyken, rekürren tonsillit sık tekrarlayan enfeksiyon ataklarını ifade eder. Her iki durumun etiyojisi tam olarak aydınlatılmamış, ancak patofizyolojilerinde inflamasyon ve bağışıklık yanıtı merkezi rol oynamaktadır. Dönüştürücü büyüme faktörü- β (TGF- β), immünolojik toleransta ve inflamatuvar yanıtlarda kompleks etkilere sahip önemli bir sitokindir. TGF- β sinyal yolunun negatif düzenleyicileri olan SMAD ubiquitinasyon düzenleyici faktör (SMURF) genleri (SMURF1 ve SMURF2), TGF- β reseptörleri ve SMAD proteinleri aracılığıyla sinyal iletimini modüle eder. Gen ekspresyonunun epigenetik düzenleyicileri olan mikroRNA'lar (miRNA'lar), tonsillit gibi hastalıklarda potansiyel biyobelirteçlerdir. miR-520d-5p'nin ise SMURF1 ve SMURF2 genlerinin olası hedefi olarak tanımlanmıştır. Bu çalışmada, adenotonsiller hipertrofi ve kronik tonsillit nedeniyle opere edilen hastalardan alınan tonsil dokuları incelenerek SMURF1, SMURF2 genlerinin ve miR-520d-5p'nin moleküler ve in silico analizleri yapılmıştır. Genlerin ekspresyon düzeyleri gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (RT-qPCR) ile belirlenmiştir. SMURF1 ve SMURF2 geninin etkileşimde olduğu genler ile miR-520d-5p'nin gen ontoloji (GO) ve yolak analizleri in silico araçlarla gerçekleştirilmiştir. Rekürren tonsillit grubunda, tonsil hipertrofisi grubuna kıyasla, SMURF1 ve miR-520d-5p ekspresyon düzeyleri istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (sırasıyla $p=0.032$ ve $p=0.038$). SMURF2 geninde ise anlamlı bir fark gözlenmemiştir ($p=0.512$). In silico analizler, SMURF1 ve SMURF2 genlerinin 12 genle etkileşimde olduğunu, özellikle SMAD1, SMAD5 ve SMAD6 gibi TGF- β sinyal yoluna ait düzenleyici proteinlerle güçlü etkileşimler sergilediğini göstermiştir. miR-520d-5p'nin tonsillit patogeneğinde rol oynayan birden fazla biyolojik süreç ve sinyal yolağına dahil olduğu, öne çıkan yolağın ise TGF- β sinyal yolağı olduğu belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: SMURF1, SMURF2, Kronik tonsillit, miRNA, Gen ekspresyonu, In silico

MOLECULAR AND IN SILICO ANALYSIS OF MIR-520D-5P, SMURF1 AND SMURF2 GENES IN CHRONIC TONSILLITIS

ABSTRACT

Tonsil diseases, which are the most common ear, nose and throat disorders of childhood, are seen in the form of tonsil hypertrophy and recurrent tonsillitis. Tonsil hypertrophy is the abnormal enlargement of the tonsils that leads to sleep and feeding problems, while recurrent tonsillitis refers to frequently recurrent infection attacks. The etiology of both conditions has not been fully elucidated, but inflammation and immune response play a central role in their pathophysiology. Transforming growth factor- β (TGF- β) is an important cytokine with complex effects in immunological tolerance and inflammatory responses. SMAD ubiquitination regulatory factor (SMURF) genes (SMURF1 and SMURF2), which are negative regulators of the TGF- β signaling pathway, modulate signal transduction through TGF- β receptors and SMAD proteins. MicroRNAs (miRNAs), which are epigenetic regulators of gene expression, are potential biomarkers in diseases such as tonsillitis. miR-520d-5p was identified as a possible target of SMURF1 and SMURF2 genes. In this study, tonsil tissues taken from patients who were operated for adenotonsillar hypertrophy and chronic tonsillitis were examined and molecular and in silico analyses of SMURF1, SMURF2 genes and miR-520d-5p were performed. Expression levels of the genes were determined by real-time polymerase chain reaction (RT-qPCR). Gene ontology (GO) and pathway analyses of the genes with which SMURF1 and SMURF2 genes interact and miR-520d-5p were performed by in silico tools. The expression levels of SMURF1 and miR-520d-5p were found to be statistically significant in the recurrent tonsillitis group compared to the tonsillar hypertrophy group ($p=0.032$ and $p=0.038$, respectively). No significant difference was observed in the SMURF2 gene ($p=0.512$). In silico analyses showed that SMURF1 and SMURF2 genes interacted with 12 genes, especially with regulatory proteins of the TGF- β signaling pathway, such as SMAD1, SMAD5 and SMAD6. It was determined that miR-520d-5p was involved in multiple biological processes and signaling pathways that play a role in the pathogenesis of tonsillitis, with the prominent pathway being the TGF- β signaling pathway.

Keywords: SMURF1, SMURF2, Chronic tonsillitis, miRNA, Gene expression, In silico



İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI	i
YAYIMLAMA VE FİKRİ MÜLKİYET HAKLARI BEYANI	ii
ETİK BEYAN	iii
TEŞEKKÜR	iv
ÖZET	v
ABSTRACT	vi
İÇİNDEKİLER	viii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	x
ŞEKİLLER VE RESİMLER DİZİNİ	xii
TABLolar DİZİNİ	xiii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Tonsillit Etiyolojisi	3
2.2. Palatin Tonsil Anatomisi.....	4
2.2.1. Tonsilla Palatina	4
2.2.2. Waldeyer Halkası	4
2.2.3. Palatin Tonsil Histolojisi	5
2.3. Tonsil İmmunolojisi	6
2.4. Doğal Lenfoid Hücreler	7
2.5. Kronik Tonsillit Patogenezinde Olası Rol Alan Moleküller.....	8
2.6. Kronik Tonsillit.....	10
2.7. Adenotonsil Hipertrofisi	11
2.8. Tonsillit ve Genetik Altyapısı	11
2.9. TGF- β ve Tonsillit	12
2.10. TGF-B İle SMURF1, SMURF2 Genleri Etkileşimleri	15
2.11. Mikro RNA'lar	18
2.12. SMURF1 SMURF2 Geni ve Mir520d-5p İlişkisi.....	19
3. YÖNTEM	24
3.1. Araştırma Modeli	24
3.2. Araştırma Evren ve Örnekleme/Araştırma Materyali.....	24
3.3. Veri Toplama Araçları	25
3.3.1. Kullanılan Araç-Gereçler, Kimyasallar ve Sarf Malzemeleri	25
3.4. Veri Toplama Süreci	26
3.4.1. Deney-Kontrol Gruplarının Oluşturulması	26

3.5. Deneysel Kurgu.....	28
3.5.1. Dokulardan RNA İzolasyonu	28
3.5.2. Gerçek Zamanlı Kantitatif Polimeraz Zincir Reaksiyonu (RT-qPCR)	28
3.5.3. In silico Analizler	32
3.6. İstatistiksel Analiz.....	32
3.7. Etik Onay	32
3.8. Araştırmanın Sınırlılıkları	33
4. BULGULAR.....	34
4.1. Demografik Veriler	34
4.2. Gen Ekspresyonu Düzeylerinin Değerlendirilmesi	35
4.2.1. Gen Ekspresyonu Düzeylerinin Hasta ve Kontrol Gruplarında Karşılaştırılması.....	35
4.2.2. Tonsil Dokularında SMURF1 Geni Ekspresyon Düzeylerinin Karşılaştırılması.....	36
4.2.3. Tonsil Dokularında SMURF2 Gen Ekspresyon Düzeylerinin Karşılaştırılması.....	37
4.2.4. Tonsil Dokularında miR-520d-5p Ekspresyon Düzeylerinin Karşılaştırılması	38
4.3. SMURF1 ve SMURF1 Genlerinin Etkileşimde Olduğu Genlerin Belirlenmesi, STRING ve KEGG Analizi Sonuçları	39
5. TARTIŞMA.....	44
6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER.....	54
6.1. Sonuçlar	54
6.2. Öneriler	55
KAYNAKLAR	56
EKLER	74
Ek 1: ETİK KURUL ONAYI	74
Ek 2: KURUM İZİN ONAYI	75
Ek 3: ÖZ GEÇMİŞ.....	76

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

- °C:** Santigrat Derece
- mg:** Miligram
- µl:** Mikrolitre
- ml:** Mililitre
- ALK5:** Aktivin Reseptör Benzeri Kinaz 5
- APC:** Antijen Sunan Hücreler
- BCR:** B hücresi reseptörleri
- BMP** Kemik Morfogenetik Protein
- cDNA** Komplementer DNA
- Ct:** Cycle of threshold (Eşik döngüsü)
- DC** Dendritik Hücreler
- ECM:** Ekstraselüler matriks
- EGF:** Epidermal Büyüme Faktörü
- GABHS** A Grubu beta-hemolitik Streptokok
- GALT** Bağırsakla ilişkili lenfoid dokuda
- GO:** Gen ontoloji
- HECT:** E6-AP Karboksil Sonlandırıcıya Homolog
- IFN-γ:** interferon-gama
- IL:** İnterlökin
- IL-17:** İnterlökin-17
- IL-1β:** İnterlökin-1 beta
- IL-6:** İnterlökin-6
- IL-8:** İnterlökin-8
- ILC:** Doğal Lenfoid Hücreleri
- iNOS:** indüklenebilir NOS
- KEGG:** Kyoto Genler ve Genomlar Ansiklopedisi
- LPS:** lipopolisakkarit
- LT:** Lingual tonsili
- MALT:** Mukoza İlişkili Lenfoid Doku
- miRDB:** miRNA Target Prediction And Functional Study Database
- miRNA** Mikro RNA

- MMP:** Matriks metalloproteinazlar
- mRNA:** Mesajcı ribonükleik asit
- NALT** Nazofaringeal İlişkili Lenforetiküler Dokuları
- NK:** Doğal Öldürücü Hücreler
- NO:** Nitrik oksit
- NOS:** Nitrik oksit sentazlar
- NT:** Nazofaringeal Tonsil
- OSA:** Obstrüktif uyku apnesi
- PAH:** Pulmoner Arteriyal Hipertansiyon
- PCR:** Polimeraz Zincir Reaksiyonu
- PPE:** Protein-protein etkileşimleri
- Pre-miRNA:** Erken miRNA
- Pri-miRNA:** Birincil miRNA
- PT:** Palatin Tonsil
- PTM:** Translasyon Sonrası Modifikasyon
- RISC:** RNA kaynaklı susturma kompleksine
- RNA:** Ribonükleik asit
- RT-PCR:** Real-Time PCR
- shRNA:** Kısa saç-tokası RNA
- SMURF:** SMAD ubikutunasyon düzenleyici faktör
- T-bet:** T hücrelerinde ifade edilen T-kutusu
- TCR:** T hücresi reseptörleri
- TGF- β :** Dönüştürücü Büyüme Faktörü Beta
- TLR:** Toll Benzeri Reseptörleri
- TNF:** Tümör Nekroz Faktörü
- TNF- α :** Tümör Nekroz Faktörü-alfa
- TRAF4:** Tümör Nekroz Faktörü Reseptörüyle İlişkili Faktör 4
- TRB3:** Tribbles homolog 3
- TT:** Tubal tonsil
- TTC3:** Tetratrikopeptid Tekrar Alanı 3

ŞEKİLLER VE RESİMLER DİZİNİ

Resim 2.1. Tonsil iltihabı.....	4
Resim 2.2. Waldeyer halkasının anatomisi.....	5
Şekil 2.1. TGF- β 'nin farklı hücre tipleri üzerindeki çok yönlü etkileri.....	14
Şekil 2.2. SMURF'ların transkripsiyonel seviyede düzenlenmesi.....	16
Şekil 2.3. SMURF'ların translasyon sonrası düzenlenmesi	17
Şekil 2.4. Genel miRNA biyogenezi.....	19
Şekil 2.5. SMURF'ların gen konumlarını, izoformlarını ve hücre içi dağılımını gösteren şematik diyagram.	20
Şekil 3.1. Materyal ve yöntem akış şeması.....	24
Resim 3.1. Hastadan alınan tonsil ve tonsil materyalinin ilk aşamada üç parçaya ayrılması	27
Şekil 3.2. Ekspresyon analizi yapılan genlerin her biri için düzenlenen örnek mikrolpaka düzeni	31
Şekil 4.1. Hasta ve kontrol grubu arasında SMURF1 geni için değişen ekspresyon seviyelerinin grafiksel gösterimi.	37
Şekil 4.2. Hasta ve kontrol grubu arasında SMURF2 geni için değişen ekspresyon seviyelerinin grafiksel gösterimi	38
Şekil 4.3. Hasta ve kontrol grubu arasında miR-520d-5p için değişen ekspresyon seviyelerinin grafiksel gösterimi.	39
Şekil 4.4. STRING veritabanından elde edilen SMURF1 ve SMURF2 proteinlerine ait protein-protein etkileşim ağı	40
Şekil 4.5. SMURF1 ve SMURF2 protein etkileşim ağının biyolojik süreç ve reactom yolak zenginleştirme analizi.....	41
Şekil 4.6. TGF- β sinyal yolağı.	43

TABLolar DİZİNİ

Tablo 2.1. Tonsillit ve genetik altyapısı.....	12
Tablo 3.1. cDNA sentezi için kullanılan bileşenler ve hacimleri	29
Tablo 3.2. Komplementer DNA elde etme reaksiyon koşulları.	29
Tablo 3.3. Ekspresyon analizinde kullanılan gene özgü primer sekansları	30
Tablo 3.4. Ekspresyon analizi reaksiyon karışımı.	31
Tablo 3.5. Ekspresyon için uygun reaksiyon koşulları.....	31
Tablo 4.1. Çalışma grubunun yaş ve cinsiyet dağılımı	34
Tablo 4.2. Çalışma grubunda sağ tonsil evrelemesi ve dağılımı	35
Tablo 4.3. Çalışma grubunun komplikasyon ve alerji öyküsü dağılımı	35
Tablo 4.4. Rekürren tonsil ve tonsil hipertrofisi olguların dokuları arasında ilgili genlerin ekspresyon, minimum, maksimum ve p değerleri	36
Tablo 4.5. miR-520d-5p için KEGG yolak zenginleştirme analizi sonuçları	42

1. GİRİŞ

Tonsil dokuları ile ilişkili hastalıklar, çocukluk döneminin kulak burun boğaz hastalıkları arasından en yaygın gözlenen tipidir. Çocukluk döneminde büyük olan adenoid ve tonsil dokularının, adolesan dönemde küçülmesi ve erişkin çağda neredeyse tamamen gerilemesi beklenir. Tonsillit patofizyolojisinde tonsillerdeki inflamasyon ve bağışıklık yanıtı yer almaktadır. İnflamatuar yanıtın başlaması için konağın kendisine yabancı olan molekülleri tanıyarak sitokin ve kemokinler aracılığıyla yanıtı tetiklemesi gerekir (Gysin, 2013). Kronik tonsillit, genellikle bakteriyel veya viral enfeksiyonlardan kaynaklanan, tonsil iltihabıyla karakterize, yaygın bir çocukluk çağı hastalığıdır. Tonsillit genellikle konservatif tedavilerle tedavi edilebilirken, bazı çocuklarda tonsil ameliyatı gibi cerrahi müdahale gerektiren, tekrarlayan veya şiddetli ataklar yaşanabilir (Aydoğan vd., 2007)

Doğal bağışıklık sistemi, deri ve mukozal epitelyal bariyerler ile humoral ve hücresel elemanlardan oluşmaktadır. İlave olarak, konağın kendisini yabancı olan patojenlerle ilgili molekülleri tanınması ve bağışıklık yanıtının oluşturulmasını sağlayan çeşitli reseptörlere sahiptir. Bu reseptörlerden biri de TGF- β reseptör ailesidir. TGF- β 'nin aracılık ettiği doğal ve inflamatuvar yanıtların kronik tonsillitlerde kritik bir rol oynadığı bilinmektedir. TGF-beta reseptör yolağı, bağışıklık tepkilerinin ve inflamasyonun düzenlenmesinde çok önemli bir rol oynar ve bu yolağın düzensizliği, tonsillit de dahil olmak üzere çeşitli inflamatuvar durumlarda etkindir (Li vd., 2006). Atopik çocukların adenoid hipertrofilerinin TGF- β 1 düzeyiyle ilişkili olabileceği ifade edilmiştir (Shin vd., 2023).

TGF- β yolağında görev alan SMURF (SMAD ubiquitunasyon düzenleyici faktör) genlerinin otokrin TGF- β 'nin korunmasına katkıda bulunabileceği ifade edilmiştir (Asano vd., 2004). SMURF1 ve SMURF2 TGF- β sinyal yolunun negatif düzenleyicileri olarak tanımlanmıştır (Kavsak vd., 2000). SMURF1'in, SMAD4 ile heteromerik kompleksler oluşturan BMP (Kemik Morfogenetik Protein) reseptörü tarafından düzenlenen SMAD proteinlerini etkilediği, ayrıca bağışıklık sinyallemesinde görev aldığı bilinmektedir (Fu vd., 2020). TGF- β reseptörünü bloke eden SMURF1 ve SMURF2 genleri SMAD6 ve SMAD7 üzerinde de etkili olmaktadır (Asano vd., 2004).

mir-520d-5p, transkripsiyon sonrası gen ekspresyonunu düzenlediği bilinen mikroRNA ailesinin bir üyesidir. mir-520d-5p, SMURF1 ve SMURF2 genlerinin ortak olası hedefi olarak tanımlanmıştır. Hücre döngüsü üzerinde de etkili olduğu bilinen mir-520d-5p'nin hepatoma, mide ve glioma gibi kanser türlerinde daha önce etkisi tanımlanmıştır (Fu vd., 2020).

Çalışmamızda, adenotonsiller hipertrofi ve kronik tonsillit nedeniyle opere olan hastalardan alınan tonsil dokuları kullanılarak, SMURF1, SMURF2 ve bunları ortak hedefi olduğu bilinen mir-520d-5p genlerinin ifade düzeylerinin kronik tonsillit gelişimi üzerine etkisinin araştırılması amaçlanmıştır. Tonsillit hastalığı ile ilişkili olarak, SMURF1, SMURF2 ve mir-520d-5p nin ilişkisi literatürde daha önce gösterilmemiştir. Tonsillit hastalığının tanı ve tedavisine katkıda bulunacak yeni biyobelirteç hedeflerinin sunulması ve literatürde bu anlamdaki boşluğun doldurulması araştırmamızın öncelikli hedefidir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Tonsillit Etiyolojisi

Tonsil ve geniz eti hipertrofisi çocuklarda tekrarlayan tonsil iltihabına ve üst hava yolu tıkanıklığına neden olabilir (Akker vd., 2003). Kronik Tonsillit hem çocukları hem de yetişkinleri etkileyen ciddi bir sağlık sorunudur ve şiddetli tekrarlayan tonsillitin tanımı değişmekle birlikte, yılda beş veya daha fazla gerçek tonsillit atağı, en az bir yıl süren semptomlar ve normal işlevi etkileyen ataklar olarak tanımlanır (Bakar vd., 2018). Çok sayıda çocuk tekrarlayan tonsillit ve boğaz ağrısından o kadar sık muzdariptir ki bu hastalıklar hayatlarının bir parçası haline gelir. Örneğin, bir çalışma peritonsiller apselerin yaklaşık %30'unun tonsil ameliyatı gerektirdiğini göstermektedir (Herzon, 1995). Tonsillit genellikle viral veya bakteriyel olabilen bir enfeksiyonun sonucu gelişir. Viral etiyolojiler en yaygın olanlardır. En yaygın viral nedenler genellikle rinovirüs, solunum sinsitiyal virüsü, adenovirüs ve koronavirüs gibi soğuk algınlığına neden olanlardır. Bunlar genellikle düşük virülansa sahiptir ve nadiren komplikasyonlara yol açar. Epstein-Barr mononükleoza neden olur, sitomegalovirüs, hepatit A, kızamıkçık ve HIV gibi diğer viral nedenler de Tonsil iltihabına neden olabilir (Georgalas, Tolley ve Narula, 2014). A Grubu beta-hemolitik Streptokok (GABHS), bakteriyel enfeksiyonların en yaygın nedenidir, ancak *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae* ve *Haemophilus influenza* da dahil edilmektedir (Wang vd., 2017). Hem aerobik hem de anaerobik olan patojenler bakteriyel tonsil iltihabına neden olabilir. Ayrıca, difteriye neden olan *Corynebacterium diphtheriae*, korunmasız bireylerde bir etiyoloji olarak dikkate alınmalıdır (Berger vd., 2016). Ek olarak, tüberküloz tekrarlayan tonsil iltihabıyla ilişkilendirilmiştir (Jadia vd., 2010).



Anderson ve Paterek, 2023.

Resim 2.1. Tonsil iltihabı

2.2. Palatin Tonsil Anatomisi

2.2.1. Tonsilla Palatina

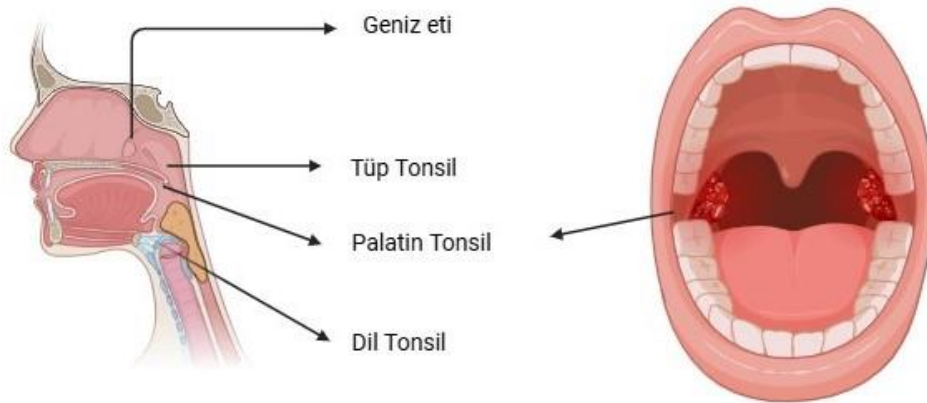
İnsan palatin tonsilleri ve nazofaringeal tonsil (adenoid), Waldeyer halkasının en büyük bileşenleridir ve kemirgenler ve diğer türlerin nazofaringeal ilişkili lenforetiküler dokuları (NALT) ile işlevsel olarak ilişkili olduğu düşünülmektedir (Frieke Kuper vd., 1992). Palatin tonsiller, farenksin lateral duvarında bulunan çift lenfoid organlardır. Orofaringeal boşluğun daha küçük ve daha az belirgin lenfoid dokuları lingual ve faringeal tonsillerdir (Boyaka vd., 2000).

Orofarenksin posterolateral duvarında, gastrointestinal sistemin ve üst solunum yollarının girişine yakın bir konumda bulunan palatin tonsiller, tonsiller fossa adı verilen bir alan içerisine yerleşir. Tonsiller fossa, önde palatoglossus arkada palatopharyngeus kaslarının oluşturduğu pilikalar tarafından sınırlandırılır. Aynı zamanda tonsiller parankim ile yakından ilişkili olan ve tonsilin derin yüzeyindeki superior faringeal konstriktör fasyaya gevşek bir şekilde bağlı olan, yoğun elastik liflerden yapılabir kapsül ile sarılıdır. Tonsillektomide tonsil kitlesi kapsülle birlikte çıkarılır (Sidell ve Shapiro, 1954).

2.2.2. Waldeyer Halkası

İnsan yutağındaki lenfoid dokunun varlığının önemi, 1884 yılında Waldeyer tarafından fark edilmiş olup, bu dokunun özel düzenlemesini günümüzde Waldeyer halkası olarak adlandırılan lenfoid doku 'halkası' olarak tanımlamıştır. Halka, yutağın çatısına bağlı nazofaringeal tonsil (NT) veya geniz eti; östaki tüplerinin yutak

açıklıklarında bulunan çift tubal tonsil (TT); orofarinkste konumlanmış çift palatin tonsil (PT); ve dilin arka üçte birinde bulunan lingual tonsili (LT) içerir. Farenksin mukozaları, dairesel bandı tamamlayan daha küçük, subepitelyal lenfoid doku koleksiyonları içerir (Niedzielski vd., 2023).



Kaynak: Samara, M Athanasopoulos ve I Athanasopoulos, 2023' den uyarlanmıştır.

Resim 2.2. Waldeyer halkasının anatomisi

2.2.3. Palatin Tonsil Histolojisi

Olgun palatin tonsil, bağışıklık gözetimindeki rolü için uyarlanmış belirgin bir histolojik yapı sergiler. Palatin tonsilin yüzeyi, orofarenksin astarıyla sürekli olan keratinize olmayan tabakalı skuamöz epitel ile kaplıdır. Palatin tonsilin tanımlayıcı bir özelliği, tonsil kripleri adı verilen yüzey epitelinin derin, dallanan invajinasyonunun varlığıdır. Bu kripler, tonsil parankimine derinlemesine uzanır. Kripler, antijenlerle temas için yüzey alanını artırır ve genellikle dökülmüş epitel hücreleri, lenfositler, bakteriler ve hücresel artıklar içerir (Olofsson, Hellström ve Hammarström, 2001). Alttaki bağ dokusu (lamina propria) yoğun bir şekilde lenfoid nodüllerle doludur. Her nodül tipik olarak, B lenfositlerin antijen uyarımı üzerine çoğaldığı ve farklılaştığı daha açık renkli bir alan olan bir germinal merkeze sahiptir. Germinal merkezin çevresinde, daha küçük, dinlenen B lenfositleri içeren manto bölgesi bulunur (Standring vd., 2005).

Nodüllere ek olarak, nodüller arasında ve kripleri çevreleyen diffüz lenfoid doku da bulunur. Bu alan lenfositleri (hem B hem de T hücreleri), plazma hücrelerini,

makrofajları ve dendritik hücreleri içerir. Lenfoid doku, retiküler bir bağ dokusu çerçevesi tarafından desteklenir. Lifli bir kapsül tonsilinin altında bulunur ve onu faringeal duvarın çevresindeki kaslardan ayırır. Trabeküller (kapsülün uzantıları) tonsil parankimine nüfuz ederek yapısal destek sağlar ve kan damarlarını, sinirleri ve lenf damarlarını taşır. Palatin tonsiller, mukozal bağışıklık sistemindeki rollerini gösteren MALT (Mukoza İlişkili Lenfoid Doku) olarak sınıflandırılır. Patojenlerle karşılaşmak ve onlara yanıt vermek için solunum ve sindirim yollarının girişinde stratejik olarak yer alırlar. Lenf düğümlerinin aksine, palatin tonsillerin afferent lenf damarları yoktur. Antijenler, kriptlerin epitelinden doğrudan tonsil dokusuna ulaşır. Bununla birlikte, bölgesel lenf düğümlerine (esas olarak jugulodigastrik lenf düğümleri) boşalan efferent lenf damarları vardır (Meegalla ve Downs, 2023).

2.3. Tonsil İmmunolojisi

Palatin tonsiller, solunum ve sindirim yollarının girişinde stratejik olarak yer alan ve patojenlerle karşılaşp onlara yanıt veren mukozal bağışıklık sisteminin temel bileşenleridir (Meegalla ve Downs, 2023). Benzersiz yapıları ve hücresel bileşimleri, bu immünolojik rol için özel olarak uyarlanmıştır (Fossum vd., 2017).

Derin, içe doğru kıvrılmış kriptler, ağız boşluğuna giren antijenlerle (bakteriler, virüsler, yiyecek parçacıkları vb.) temas için yüzey alanını önemli ölçüde artırır. Kriptleri kaplayan epitel genellikle ince ve retiküle edilmiştir ve epitel hücreleri ile altta yatan lenfositler ve antijen sunan hücreler (APC'ler) arasında yakın temas vardır. Bu, antijenlerin doğrudan lenfoid dokuya aktarılmasını kolaylaştırır (Perry, 1994). M hücreleri (mikro kıvrım hücreleri) adı verilen özel epitel hücreleri tonsil epitelinde bulunur. Bağırsakla ilişkili lenfoid dokuda (GALT) bulunanlara benzer şekilde, M hücreleri antijenleri kript lümeninden altta yatan lenfoid hücrelere aktif olarak aktarır (Corr, Gahan ve Hill, 2008).

Palatin tonsilleri, farklı bölmelere organize edilmiş çeşitli bağışıklık hücreleriyle yoğun bir şekilde doludur (Hagel vd., 2021). Lenfoid Foliküller, çoğunlukla B hücresi açısından zengin bölgelerdir ve antijen uyarımı üzerine B hücresi çoğalmasının, plazma hücrelerine farklılaşmasının (antikor salgılayan hücreler) ve afinite olgunlaşmasının gerçekleştiği germinal merkezleri içerir. Germinal merkezi çevreleyen manto bölgesi naif B hücreleri içerir (Takechi vd., 2013). İnterfoliküler Bölgeler, Foliküller arasındaki bu

bölgeler T hücreleri (hem yardımcı hem de sitotoksik T hücreleri), dendritik hücreler (DC'ler) ve makrofajlar açısından zengindir. DC'ler, antijenin T hücrelerine sunulması ve T hücresi aracılı bağışıklık tepkilerinin başlatılması için önemlidir (Takahara vd., 2005). Kripto epiteli, sadece bir bariyer değil, aynı zamanda öncelikle lokal bağışıklık gözetimine katkıda bulunan T hücreleri olan intraepitelyal lenfositleri (IEL'ler) de içerir. Epitel içerisinde ayrıca, yüzeye nüfuz eden antijenleri yakalayabilen DC'ler ve makrofajlar da bulunur (Samara, M Athanasopoulos ve I Athanasopoulos, 2023).

Hem humoral (antikor aracılı) hem de hücre aracılı bağışıklık tepkileri tonsiller içinde başlatılır ve geliştirilir. Humoral bağışıklık, germinal merkezlerdeki B hücreleri ve T foliküler yardımcı (Tfh) hücrelerinin yardımıyla, antijene özgü çeşitli antikor türleri (IgG, IgA, IgM ve IgE) üretmek için farklılaşır. IgA, mukozal bağışıklık için özellikle önemlidir ve giriş yerindeki patojenleri nötralize etmek için tonsil kripleri için salgılanabilir (Donnadieu vd., 2020). Afferent lenfatiklerin yokluğunda lenf düğümlerinin aksine, tonsiller diğer dokulardan gelen lenfi filtrelemez. Ağız boşluğunda bulunan antijenlerle doğrudan karşılaşırlar. Efferent lenfatikler, tonsillerde üretilen aktive edilmiş bağışıklık hücreleri ve antikorlar, efferent lenf damarları aracılığıyla bölgesel lenf düğümlerine (esas olarak jugulodigastrik düğümler) boşalır ve daha geniş sistemik bağışıklık tepkisine katkıda bulunur. Tonsiller, esas olarak savunmada yer alırken, zararsız antijenlere karşı oral toleransın gelişmesinde de rol oynayabilir, gıda ve komensal mikroorganizmalara karşı uygunsuz bağışıklık tepkilerini önleyebilir (Donnadieu vd., 2020).

2.4. Doğal Lenfoid Hücreler

Doku homeostazında, patojenlere karşı savunmada ve diğer bağışıklık hücrelerinin düzenlenmesinde önemli roller oynayan, ilgi çekici ve nispeten yakın zamanda tanımlanmış bir doğuştan bağışıklık hücreleri ailesi olan Doğal Lenfoid Hücreleri (ILC'ler). ILC'ler, T ve B hücrelerinin (adaptif bağışıklık sisteminin bir parçası olan) aksine, T hücresi reseptörleri (TCR'ler) ve B hücresi reseptörleri (BCR'ler) gibi somatik olarak yeniden düzenlenmiş antijene özgü reseptörlerden yoksun olan belirgin bir lenfosit soyudur (Jiao vd., 2016).

Bu spesifik reseptörlerden yoksun olmalarına rağmen, ILC'ler çeşitli sitokinler ve diğer mediatörler üreterek doku hasarına, enfeksiyona ve diğer çevresel sinyallere hızlı yanıt verebilen güçlü efektör hücrelerdir (Lee ve Dyken, 2023).

Vücuttaki dokularda, özellikle mukozal yüzeylerde (bağırsak, akciğerler ve tonsiller gibi) stratejik olarak yerleşmişlerdir, burada nöbetçi görevi görürler ve savunmanın ilk hattına katkıda bulunurlar (Panda ve Colonna, 2019). ILC'ler, sitokin profillerini, gelişimlerini ve işlevlerini düzenleyen bazı transkripsiyon faktörlerini yansıttıkları için T yardımcı (Th) hücrelerinin doğuştan gelen karşılıkları olarak kabul edilirler (Jegatheeswaran, Mathews ve Crome, 2021).

ILC'ler, sitokin üretimlerine ve gelişimlerini yöneten transkripsiyon faktörlerine göre genel olarak üç ana gruba ayrılır. Birinci grup ILC'ler, bunlar interferon-gama (IFN- γ) üretimi ve transkripsiyon faktörü T-bet'e (T hücrelerinde ifade edilen T-kutusu) bağımlılıkları ile karakterize edilir (Ma vd., 2023). Bu grup şunları içerir; Doğal öldürücü hücreler (NK): Bunlar virüs bulaşmış ve tümör hücrelerine karşı sitotoksik aktiviteleriyle iyi bilinirler (Croy vd., 1997). ILC1: Bu hücreler, NK hücrelerine kıyasla daha fazla dokuda yerleşiktir ve daha az sitotoksiktir. Esas olarak hücre içi patojenlere yanıt olarak IFN- γ üretirler ve doku iltihabında ve hücre içi bakteri ve virüslere karşı savunmada rol oynarlar (Adams ve Sun, 2018). Büyük bir mukozal giriş noktasında yer aldıkları için, ILC'ler tonsillerde bulunur ve muhtemelen lokal bağışıklıkta önemli bir rol oynarlar. ILC'lerin üç grubu da tonsil dokusunda mevcuttur. ILC1'ler ve NK hücreleri, üst solunum yollarında yaygın olan viral enfeksiyonlara karşı erken savunmaya katkıda bulunabilir (Weizman vd., 2017).

2.5. Kronik Tonsillit Patogenezinde Olası Rol Alan Moleküller

Kronik tonsillit gelişimine ve semptomlarına çok sayıda molekül ve inflamatuvar süreç katkıda bulunmaktadır. Bu moleküller sitokinler, kemokinler, enzimler ve hatta genetik faktörler olmak üzere çok farklı kategorilerde bulunmaktadır (Varón vd., 2021). Proinflamatuvar sitokinler, inflamasyonu başlatmada ve sürdürmede hayati öneme sahiptir. Kronik tonsillitte, birkaç proinflamatuvar sitokin genellikle artış gösterir. Tümör Nekroz Faktörü-alfa (TNF- α). Diğer sitokinlerin, kemokinlerin ve yapışma moleküllerinin üretimini teşvik ederek lökosit toplanmasına ve doku inflamasyonuna katkıda bulunabilir (Dhamoon vd., 2017). *İnterlökin-1 beta (IL-1 β)*: Ateş, ağrı ve diğer bağışıklık

hücrelerinin aktivasyonunda rol oynayan bir diğer önemli proinflamatuvar sitokindir. Ayrıca doku yeniden şekillenmesine ve fibroza da katkıda bulunabilir (Cartmell, Luheshi ve Rothwell, 1999). *İnterlökin-6 (IL-6)*: Hem pro- hem de anti-inflamatuvar etkilere sahip bir pleyotropik sitokindir, ancak kronik inflamasyonda pro-inflamatuvar rolleri sıklıkla baskındır.

Akut faz yanıtlarını, B hücresi farklılaşmasını uyarabilir ve doku hasarına katkıda bulunabilir (Geiger vd., 1988). *İnterlökin-8 (IL-8) / CXCL8*: Nötrofilleri inflamasyon bölgesine çeken güçlü bir kemokindir (Bickel, 1993). *İnterlökin-17 (IL-17)*: Th17 hücreleri ve diğer bağışıklık hücreleri tarafından üretilen bir sitokin ailesi. IL-17, hücre dışı bakterilere ve mantarlara karşı konak savunmasında ve kronik inflamatuvar hastalıklarda etkin rol oynar. Bunun yanı sıra diğer pro-inflamatuvar sitokinlerin ve kemokinlerin üretimini teşvik edebilir (Valeri ve Raffatelli, 2016). IFN- γ , Öncelikle Th1 yanıtları ve antiviral bağışıklık ile ilişkili olsada, IFN- γ makrofajları aktive ederek ve MHC molekülleri ile adezyon moleküllerinin ekspresyonunu artırarak kronik inflamasyona da katkıda bulunabilir (Mocellin vd., 2005).

TGF- β , bu sitokinin ikili bir rolü vardır. İnflamatuvar yanıtın erken dönemlerinde pro-inflamatuvar etkilere sahip olabilir. Ancak, aynı zamanda doku onarımı ve fibroziste de önemli bir rol oynar. Kronik tonsillitte, kalıcı TGF- β sinyali, Tonsillerin karakteristik doku mimarisinin değişmesine yol açabilir (Tie vd., 2022). Kemokinler bağışıklık hücresi trafiğini yönlendirir, CXCL8 (IL-8), Tonsil kriptleri içindeki biyofilmlerde bakterilerin sürekli varlığı, epitel hücrelerden, makrofajlardan ve diğer bağışıklık hücrelerinden CXCL8 salınımını sürekli olarak uyarır ve kronik nötrofil infiltrasyonuna yol açar. Nötrofiller bakterileri temizlemek için önemli olsa da, uzun süreli varlıkları zararlı enzimlerin ve reaktif oksijen türlerinin salınımına neden olabilir (Figuroa vd., 2021). CXCL9, CXCL10, CXCL11 (IFN- γ indüklenebilir kemokinler), bu kemokinler, özellikle Th1 hücreleri olmak üzere T hücrelerini tonsil dokusuna çekmek için çok önemlidir. Kronik tonsillitte, IFN- γ 'nin sürekli üretimi, bu kemokinlerin yüksek seviyelerine katkıda bulunarak yoğun bir lenfosit infiltratına yol açar. CCL2 (MCP-1), makrofajlara farklılaşabilen, sitokinler ve diğer medyatörleri serbest bırakarak inflamatuvar ortama katkıda bulunabilen monositleri çağırır (Dewald vd., 2005).

ICAM-1 ve VCAM-1: TNF- α ve IL-1 β gibi proinflamatuvar sitokinler tarafından indüklenen tonsile kan damarlarının endotel hücrelerindeki artmış ekspresyonları, lökositlerin tonsil parankimine sıkıca yapışmasını ve ardından göç etmesini sağlar. Bu sürekli lökosit alımı, kronik inflamasyonun bir özelliğidir (McEver, 2015). *Matriks metalloproteinazlar (MMP'ler)*: Bu çinko bağımlı endopeptidazlar, hücre dışı matrisin parçalanmasında rol oynar. Kronik tonsil iltihabında, MMP'lerin (örn. MMP-9) aşırı aktivitesi, doku yeniden şekillenmesine, kolajen ve diğer ECM (Ekstraselüler Matriks) bileşenlerinin bozulmasına ve potansiyel olarak tonsillerin büyümesine ve yapısının değişmesine katkıda bulunur (Acioglu vd., 2010).

Nitrik oksit (NO), Nitrik oksit sentazlar (NOS) özellikle inflamatuvar durumlarda indüklenebilir NOS (iNOS) tarafından üretilen NO'nun karmaşık etkileri vardır. Mikrobisidal olabilir ve vazodilatasyonda rol oynayabilir, ancak aşırı NO üretimi aynı zamanda doku hasarına ve inflamasyona da katkıda bulunabilir (Kim ve Lee, 2025). Bakteriyel Biyofilmler, Tonsil kriptlerinde polimikrobiyal biyofilmlerin varlığı kronik inflamasyonun temel itici gücüdür. Biyofilmlerdeki bakteriler hem konak bağışıklık sisteminden hem de antibiyotik tedavisinden korunur ve bu da tonsil bağışıklık hücrelerinin kalıcı antijenik uyarılmasına yol açar. Bu bakterilerin lipopolisakkarit (LPS) ve peptidoglikanlar gibi bileşenleri, bağışıklık hücreleri ve epitel hücrelerdeki Toll benzeri reseptörleri (TLR'ler) aktive ederek proinflamatuvar sitokinlerin ve kemokinlerin salınımını tetikleyebilir (Alasil vd., 2013).

2.6. Kronik Tonsillit

Tekrarlayan tonsillit, genellikle bir yıl içinde yedi veya daha fazla tonsillit atağının, iki ardışık yıl boyunca yılda beş veya daha fazla atağın veya üç ardışık yıl boyunca yılda üç veya daha fazla atağın meydana gelmesiyle tanımlanır. Bu durum genellikle sık poliklinik ziyaretlerine, uzun süreli antibiyotik kullanımına ve tekrarlayan ateşli ataklara yol açar. Kronik tonsillit bağlamında, hastalar sıklıkla tekrarlayan boğaz ağrısı, ağız kokusu, tonsil döküntülerinin birikmesi, peritonsiller eritem ve kalıcı servikal lenfadenopati ile başvururlar. Ek olarak, yorgunluk, miyalji ve artralji gibi sistemik semptomlar ateşli ataklara eşlik edebilir. Tekrarlayan veya kronik adenotonsiller enfeksiyonlar öncelikle pediatrik popülasyonu etkiler ve genellikle sağlıklı bireylerde görülür. Sistemik immünolojik eksikliklerin yokluğunda, bu enfeksiyonların hem nazal

hem de orofaringeal seviyelerde epitel bariyerinin lokal işlev bozukluklarından kaynaklandığı düşünülmektedir (Passali vd., 2004).

2.7. Adenotonsil Hipertrofisi

Çocukluk döneminde belirgin olma eğiliminde olan adenoid ve tonsil dokuları, ergenlik döneminde tipik olarak gerileme geçirir. Yetişkinlikte adenoid dokusu genellikle tamamen gerilerken, tonsiller önemli ölçüde küçülür. Ancak çocukluk döneminde, bu lenfoid dokuların hipertrofisi, üst solunum yolu tıkanıklığı, beslenme zorlukları, zayıf kilo alımı, horlama, obstrüktif uyku apnesi, ağız solunumu ve ilişkili kraniyofasiyal gelişimsel anomaliler gibi bir dizi klinik soruna yol açabilir. Ek olarak, enürezis ve gece rahatsızlıkları gibi durumlar da gözlemlenebilir (Viciani vd., 2016). Adenotonsiller hipertrofi, pediatrik popülasyonda Obstrüktif Uyku Apne Sendromu'nun (OSAS) önde gelen bir nedenidir. Çocuklarda OSAS, kardiyovasküler disfonksiyon, bozulmuş büyüme, nörodavranışsal bozukluklar ve sistemik inflamasyon dahil olmak üzere bir dizi komplikasyonla ilişkilendirilmiştir (Marcus vd., 2012).

2.8. Tonsillit ve Genetik Altyapısı

Araştırmalar, genetiğin bir bireyin tonsille ilgili sorunlara, özellikle tekrarlayan akut tonsillit potansiyel olarak kronik tonsillit ve tonsil hipertrofisine (büyüme) yatkınlığında rol oynayabileceğini göstermektedir (Bager vd., 2018). Tekrarlayan kronik tonsillit aile öyküsü olan çocukların genetik miras nedeniyle aşırı bir bağışıklık tepkisi gösterebileceğini vurgulamaktadır. Çalışma, tekrarlayan tonsillitli pediatrik hastaların klinik değerlendirmesinde aile öyküsünün dikkate alınmasının önemini vurgulamaktadır (Haapasalo vd., 2020). Her iki ebeveyninde de tekrarlayan kronik tonsillit öyküsü olan pediatrik hastalarda, genetik kalıtım, bağışıklık tepkisiyle birlikte tonsiller hasarın şiddetini belirler (Todorović ve Zvrko, 2013). Tekrarlayan/kronik tonsillitli hastalarda yapılan genetik analizde, IL1B-31*C alelinin en az bir kopyasına sahip olanların (hem homozigot hem de heterozigot) hastalığı geliştirme riskinin daha yüksek olduğu bulunmuştur (Andrade vd., 2017). Ayrıca, iki konak bağışıklık ilişkili polimorfizmin, tamamlayıcı faktör (CFH) ve (TLR) 4-T399T'in GAS Tonsillitinde rol oynadığı bildirilmiştir (Haapasalo vd., 2012 ; Liadaki vd., 2011).

Tablo 2.1. Tonsillit ve genetik altyapısı

Süreç	Açıklama	İlgili Gen/Molekül/Protein	Rolü / Etkisi
1. Bakteri Girişi ve Yapışması	<i>Streptococcus pyogenes</i> tonsil epiteline tutunur	<i>M protein geni</i> (emm geni)	Bakterinin epitele yapışmasını sağlar, immün yanıtta kaçış sağlar
2. PAMP Tanıma	Bakteriyel moleküller epitel ve bağışıklık hücrelerinde tanınır	<i>TLR2, TLR4</i>	Bağışıklık hücrelerini aktive eder, sitokin üretimini tetikler
3. Proinflamatuvar Sitokin Salınımı	İnflamasyon başlar, hücreler arası iletişim kurulur	<i>IL1B, IL6, TNF</i>	Ateş, ağrı, doku hasarı oluşumu
4. Alarminlerin Salınımı	Hücre hasarı sonucu salınan içsel uyarıcılar	<i>HMGB1, IL33</i>	Bağışıklık hücrelerini hızla aktive eder
5. Adaptif Bağışıklık Aktivasyonu	Antijen sunumu sonrası T hücreleri farklılaşır	<i>TBX21</i> (T-bet), <i>RORC</i> (ROR γ t)	Th1 (IFN- γ) ve Th17 (IL-17) hücrelerinin oluşumu
6. Sitokin Üretimi ve Hücre Göçü	Sitokinler bağışıklık hücrelerini çekip inflamasyonu sürdürür	<i>IFNG, IL17A, IL22</i>	Nötrofil aktivasyonu, epitel bariyer onarımı
7. Antikor Yanıtı	B hücreleri aktive olur, spesifik antikorlar üretir	<i>IGH</i> (İmmünooglobulin genleri)	Bakteriye özgü antikorlarla bağışıklık sağlanır
8. Genetik Yatkınlık	Bazı gen varyasyonları hastalığa duyarlılığı artırabilir	<i>HLA-DRB1, TNFA</i> polimorfizmleri	İltihap yanıtının şiddetini ve kronikleşme riskini etkiler

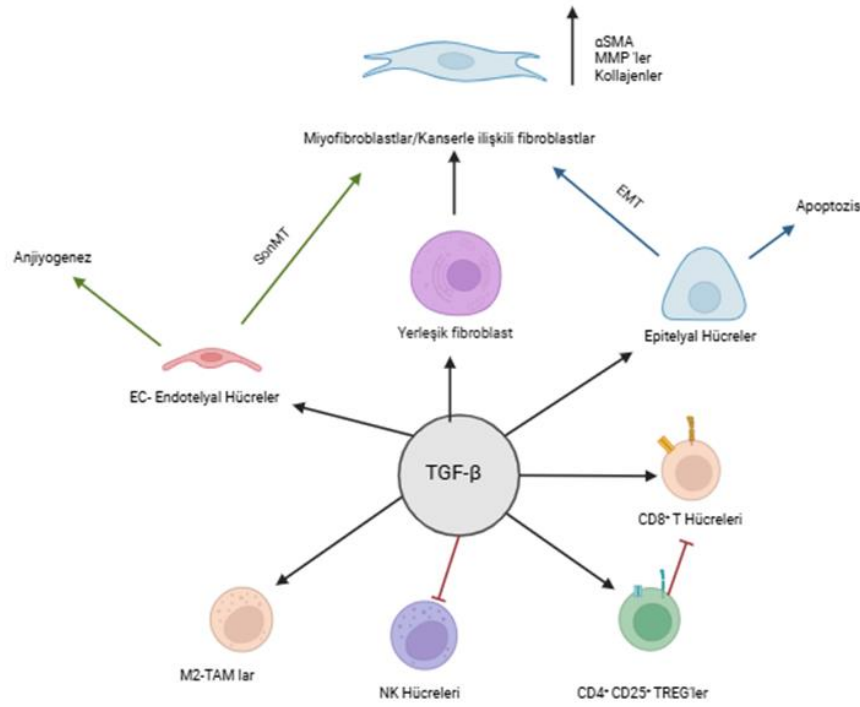
2.9. TGF- β ve Tonsillit

TGF- β sinyal yolu, tonsillerler içindeki çeşitli hücrelerde, iltihaplanma, bağışıklık tepkileri ve doku yeniden şekillenmesi dahil olmak üzere önemli bir rol oynar. TGF- β , tonsil hücrelerinin yüzeyindeki belirli reseptörlere bağlanarak etkilerini gösterir (McClean ve Guglielmo, 2010). Üç ana TGF- β reseptörü türü vardır, Tip I (T β RI), Aktivin Reseptör Benzeri Kinaz 5 (ALK5) olarak da bilinir, T β RII tarafından aktive edilen ve daha sonra SMAD adı verilen aşağı akış sinyal moleküllerini fosforile eden bir

serin/treonin kinazdır. T β RI, kanonik TGF- β sinyalleme sinin çoğunun aracılık etmesi için gereklidir (Liu vd., 2009). Tip II (T β RII), serin/treonin kinazdır ve sürekli olarak aktiftir. Ligand bağlanması üzerine (TGF- β), T β RII T β RI'yi toplar ve fosforile eder ve bu da aktivasyonuna yol açar (McClean ve Guglielmo, 2010). Tip III (T β RIII), betaglikan olarak da bilinen bu reseptör, TGF- β 'ya yüksek afiniteyle bağlanan ancak hücre içi sinyalleme alanından yoksun bir transmembran proteoglikandır. Ligandı T β RII'ye sunarak TGF- β sinyallemesini modüle ettiği ve böylece hücre sel sürece bağlı olarak sinyalleme yi artırdığı veya engellediği düşünülmektedir (Casillas, Wrana ve Massagué, 1993).

Tonsillerdeki TGF- β reseptörleri, tonsil dokusundaki çeşitli hücre tiplerinde ifade edilir, epitel hücreleri bunlardan biridir. TGF- β 'nın kriptlerde bulunan bağışıklık hücrelerinin işlevlerini ve etkileşimlerini düzenlemede bir rolü olduğu düşünülmektedir. Lenfoid hücreler (T hücreleri, B hücreleri), TGF- β , tonsiller lenfoid foliküller ve interfoliküler bölgelerdeki lenfositlerin çoğalması, farklılaşması ve aktivasyonu üzerinde önemli etkilere sahiptir. Bu etkiler, bu hücrelerdeki reseptörleri aracılığıyla gerçekleşir. Örneğin, TGF- β , T hücresi çoğalmasını engelleyebilir ve bağışıklık homeostazını korumak için çok önemli olan düzenleyici T hücrelerinin (Treg'ler) farklılaşmasını teşvik edebilir. B hücrelerinde, TGF- β apoptozu indükleyebilir ve antikor üretimini düzenleyebilir (Moreau vd., 2022 ; Spender vd., 2009).

TGF- β , dendritik hücreler ve makrofajlar gibi APC tonsil dokusundaki olgunlaşma süreçlerini ve işlevlerini düzenleyebilir. Antijenleri T hücrelerine sunma ve bağışıklık tepkisini şekillendirme yeteneklerini etkileyebilir. Fibroblastlar ve diğer stromal hücreler, TGF- β , hücre dışı matris üretimi ve doku yeniden şekillenmesinin güçlü bir düzenleyicisidir. Tonsil stromasındaki fibroblastlardaki reseptörleri, özellikle kronik tonsil iltihabında görülen kronik inflamasyon ve potansiyel fibroz bağlamında önemli olabilen bu etkilere aracılık eder. Şekil 2.1 (Caja vd., 2018).



Kaynak: Caja vd., 2018' den uyarlanmıştır.

Şekil 2.1. TGF-β'nin farklı hücre tipleri üzerindeki çok yönlü etkileri

TGF-β'nin çeşitli rolleri göz önüne alındığında, tonsillerdeki reseptörlerinin ekspresyonu ve sinyalizasyonunun kronik tonsillitin patogeneğinde önemli ölçüde rol oynaması muhtemeldir, Enflamasyonun Düzenlenmesi; TGF-β, bağlama ve ilgili spesifik reseptörlere ve alt akış sinyal yollarına bağlı olarak hem pro- hem de anti-inflamatuar etkilere sahip olabilir. Kronik tonsillitte, TGF-β reseptör sinyalleşmesinin düzensizliği kalıcı inflammatuar duruma katkıda bulunabilir (Gil ve Izquierdo, 2014). TGF-β'nin tonsillerdeki lenfositler ve APC'ler üzerindeki etkileri, TGF-β reseptörleri aracılığıyla, pro-inflamatuar ve düzenleyici bağışıklık tepkileri arasındaki dengeyi etkileyebilir. Anormal TGF-β sinyalleşmesi, kronik Tonsillitte bu dengeyi bozabilir (Harrison vd., 2011). TGF-β'nin stromal hücreler üzerindeki reseptörleri aracılığıyla ECM birikimini teşvik etme yeteneği, kronik Tonsillitlerde gözlenen doku değişikliklerine ve potansiyel fibrozise katkıda bulunabilir (Zhang vd., 2024). TGF-β'nin diğer bağlamlarda bakteriyel biyofilm oluşumunu teşvik ettiği gösterilmiştir. Bu tonsil kriptlerinde meydana gelirse, kronik inflamasyonu daha da kötüleştirebilir (Wu vd., 2025).

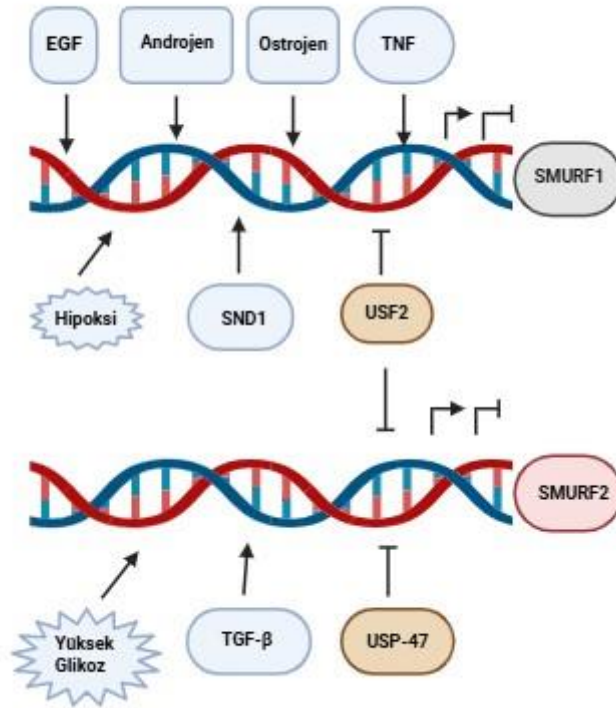
2.10. TGF-B İle SMURF1, SMURF2 Genleri Etkileşimleri

TGF-beta yolu ile SMURF1 ve SMURF2 genleri arasındaki bağlantı önemlidir çünkü bu genler tarafından kodlanan proteinler, SMURF1 ve SMURF2, TGF-beta sinyal yolunun temel negatif düzenleyicileri olarak görev yapan E3 ubiquitin ligazlarıdır (Sun vd., 2018). TGF-beta yolunun aktivasyonu, R-SMAD'lerin (SMAD2 ve SMAD3) fosforilasyonuna ve nükleer translokasyonuna yol açar. Bu aktive edilmiş SMAD'ler, ko-SMAD SMAD4 ile kompleks halinde, SMURF1 ve SMURF2 genlerinin promotör bölgelerindeki spesifik DNA düzenleyici elementlere bağlanır. Bu bağlanma, SMURF1 ve SMURF2 proteinlerinin transkripsiyonunu ve ardından translasyonunu teşvik eder. Bu nedenle, TGF-beta yolu kendi negatif düzenleyicilerinin üretimini tetikler (Kurisaki vd., 2001).

SMURF1 ve SMURF2, TGF-beta sinyalizasyonunu azaltmak yönünde etki gösterir. Bir kez üretildiklerinde, SMURF1 ve SMURF2, ubiquitinasyon ve proteazom tarafından sonraki bozunma için TGF-beta yolunun temel bileşenlerini hedefleyen E3 ubiquitin ligazları olarak işlev görür (Imamura, Oshima ve Hikita, 2013). SMURF1 ve SMURF2, aktif SMAD2 ve SMAD3'ü doğrudan ubiquitinleyebilir, bu da onların bozulmasına ve azalma yönünde düzenlenmesine neden olur. Bu, TGF-beta sinyallemesinin birincil sinyal dönüştürücülerinin seviyelerini azaltarak kendi sonlanmasını desteklediği negatif bir geri bildirim döngüsü yaratır. SMURF1 ve SMURF2 ayrıca ubiquitinasyon için TGF-beta tip I reseptörünü hedef alabilir ve bu da onun internalizasyonuna ve degradasyonuna yol açar. Bu, TGF-beta ligandlarına bağlanmak için hücre yüzeyindeki reseptör sayısını azaltır ve böylece hücre zarındaki sinyal iletimini zayıflatır. Bu süreç genellikle SMURF1/2'yi reseptör kompleksine çeken inhibitör SMAD7 tarafından güçlendirilir (Murakami vd., 2003).

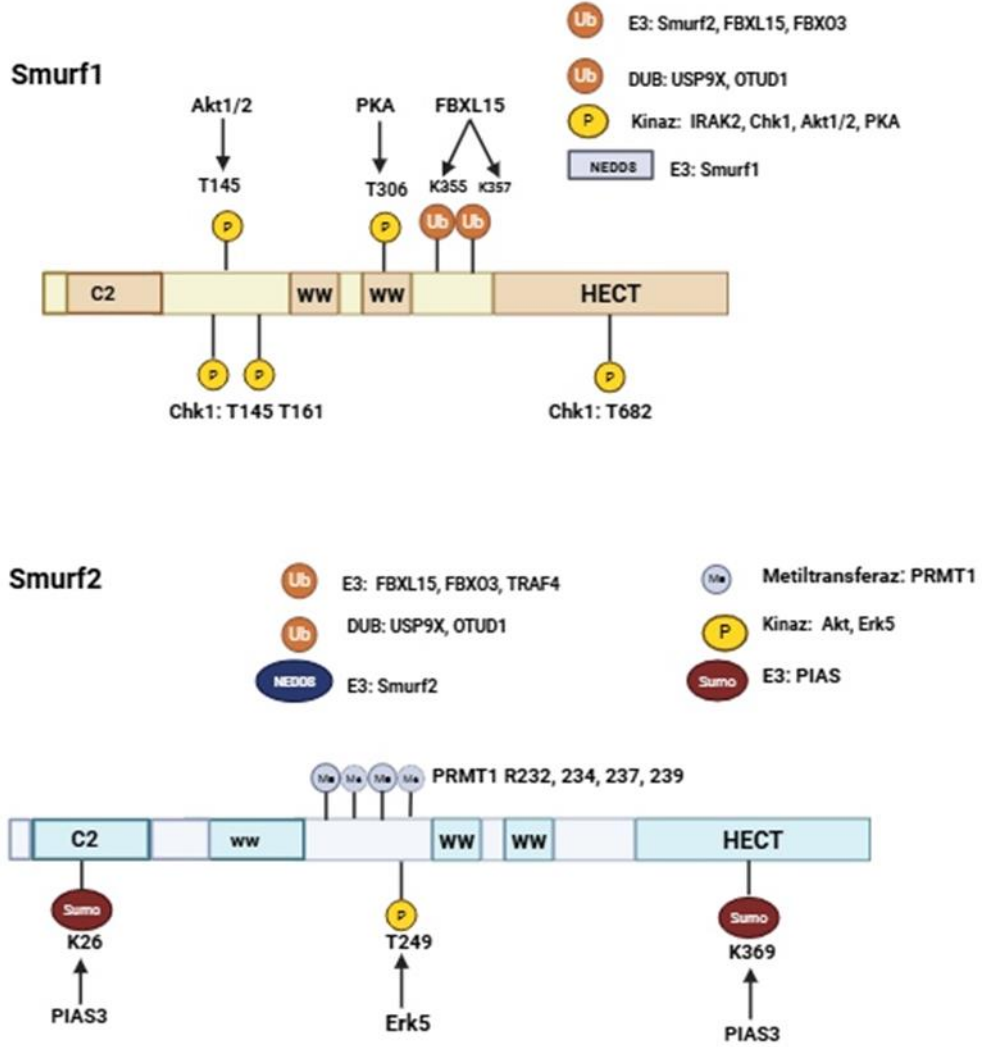
SMURFların ilk olarak BMP/TGF- β yolları üzerinde negatif düzenleyici etkilere sahip olduğu gösterilmiştir. SMURF1, BMP yolu spesifik R-SMADlar'ın sabit durum seviyelerini seçici bir şekilde düzenler (Zhu vd., 1999). Bu R-SMAD'lara ek olarak, SMAD7 de SMURF1 tarafından ubiquitinlenir (Grönroos vd., 2002). SMURF1, proteazomal bozunma için BMP reseptörleri tip I (BMPRI), SMAD1/5 ve hatta TGF- β reseptörü tip I'in (T β RI) bozunmasını desteklemek için I-SMADs'ı kullanabilir (Ebisawa vd., 2001 ; Murakami vd., 2003). Epidermal Büyüme Faktörü (EGF), MDA-MB-231

hücrelerinde SMURF1 (Mesajcı ribonükleik asit) mRNA ekspresyonunu indükler (Kwon vd., 2013). Östrojen ayrıca SMURF1 ekspresyonunu tetikler. Ek olarak, SMURF1 östrojen reseptörü α' yı ($ER\alpha$) stabilize eder ve bu da gelişmiş östrojen sinyalizasyonu ve hücre çoğalmasıyla sonuçlanır. Böylece, SMURF1- $ER\alpha$ pozitif bir geri bildirim döngüsü oluşturur (Yang vd., 2018). Ayrıca, TNF, osteoblastlardaki SMURF1 mRNA seviyelerini artırarak osteogenezisi inhibe eder (Kaneki vd., 2006). Ek olarak, hipoksi, pulmoner arteriyel hipertansiyon (PAH) modelinde SMURF1 ekspresyonunu indükler (Murakami vd., 2010).



Kaynak: Fu vd., 2020' den uyarlanmıştır.

Şekil 2.2. SMURF'ların transkripsiyonel seviyede düzenlenmesi



Kaynak: Fu vd., 2020' den uyarlanmıştır.

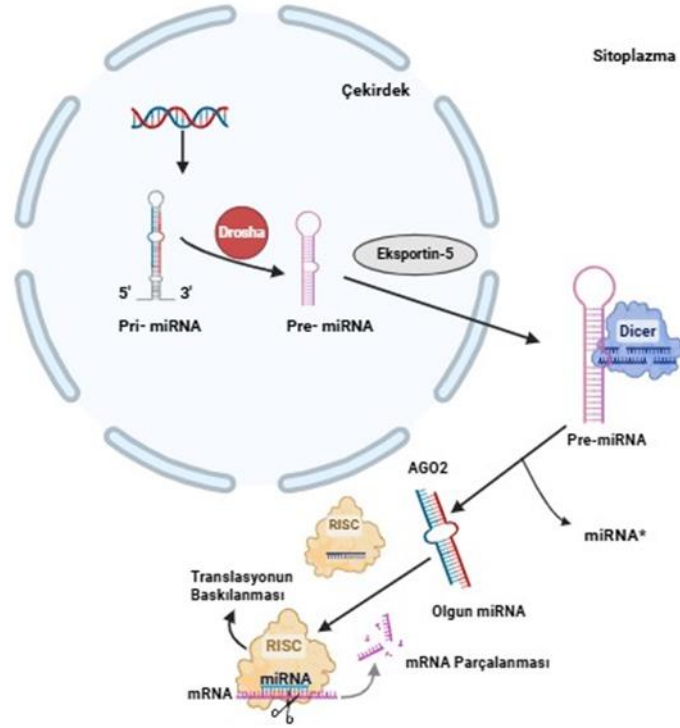
Şekil 2.3. SMURF'ların translasyon sonrası düzenlenmesi

Sitoplazmada, SMURF2 TGF- β reseptörü SMAD1 ve SMAD2'yi parçalar (Kavsak vd., 2000). SMURF2, SMAD3'ün çoklu mono-ubikitinasyonunu başlatır ve SMAD3 komplekslerinin oluşumunu engeller (Tang vd., 2011). TGF- β etkileşiminden sonra, nükleer SMURF2, özellikle SMAD7 olmak üzere I-SMADlar ile etkileşime girer ve böylece SMURF2'nin nükleer ihracatını teşvik eder. Dahası, SMAD7, SMURF2'nin TGF- β reseptörüne alınmasına yardımcı olur ve nihayetinde TGF- β yolunu engeller (Kavsak vd., 2000).

2.11. Mikro RNA'lar

MikroRNA'lar (miRNA'lar), genellikle yaklaşık 21-25 nükleotid uzunluğunda olan, küçük, kodlamayan RNA molekülleridir ve transkripsiyondan sonra gen ekspresyonunu düzenlemede önemli bir rol oynarlar. Bunu, mRNA moleküllerindeki tamamlayıcı dizilere bağlanarak gerçekleştirirler (Bartel, 2018). İlk olarak 1993 yılında Lee ve meslektaşları tarafından tanımlanmış ve mikroRNA terimi 2001 yılında ortaya atılmıştır (Lee, Feinbaum ve Ambros, 1993). miRNA, mRNA ipliğinin kesilmesini yönlendirerek, onun proteine çevrilmesini önleyebilir (Buhagiar ve Kleaveland, 2024). miRNA, ribozomun mRNA'ya bağlanmasını engelleyebilir veya translasyon sürecini yavaşlatabilir, bunun sonucunda daha az protein üretilir (Humphreys vd., 2005). miRNA'lar ayrıca mRNA'nın poli(A) kuyruğunun kısalmasına neden olarak, onu bozulmaya karşı daha duyarlı hale getirebilir (Tang vd., 2021).

mRNA'nın aksine, miRNA'lar protein kodlamaz Şekil 2.6 (Hynes ve Kakumani, 2024). Birçok miRNA farklı türlerde bulunmaktadır ve bu da bunların önemli biyolojik işlevlere sahip olduğunu göstermektedir (Loh, Yi ve Streelman, 2011). Farklı mikroRNA'lar farklı hücre tiplerinde ve dokularda ifade edilir ve bu da çeşitli biyolojik süreçlerdeki farklı rollerini gösterir (Londina vd., 2015). Gen ifadesinin temel düzenleyicileridir ve çok çeşitli hücrel süreçleri etkilerler (Moya, Vilella ve Simón, 2014). Anormal miRNA ekspresyonunun kanser, kardiyovasküler hastalıklar ve nörolojik bozukluklar dahil olmak üzere çeşitli hastalıklarla bağlantılı olduğu görülmüştür (Wang vd., 2014).



Kaynak: O'Brien vd., 2018' den uyarlanmıştır.

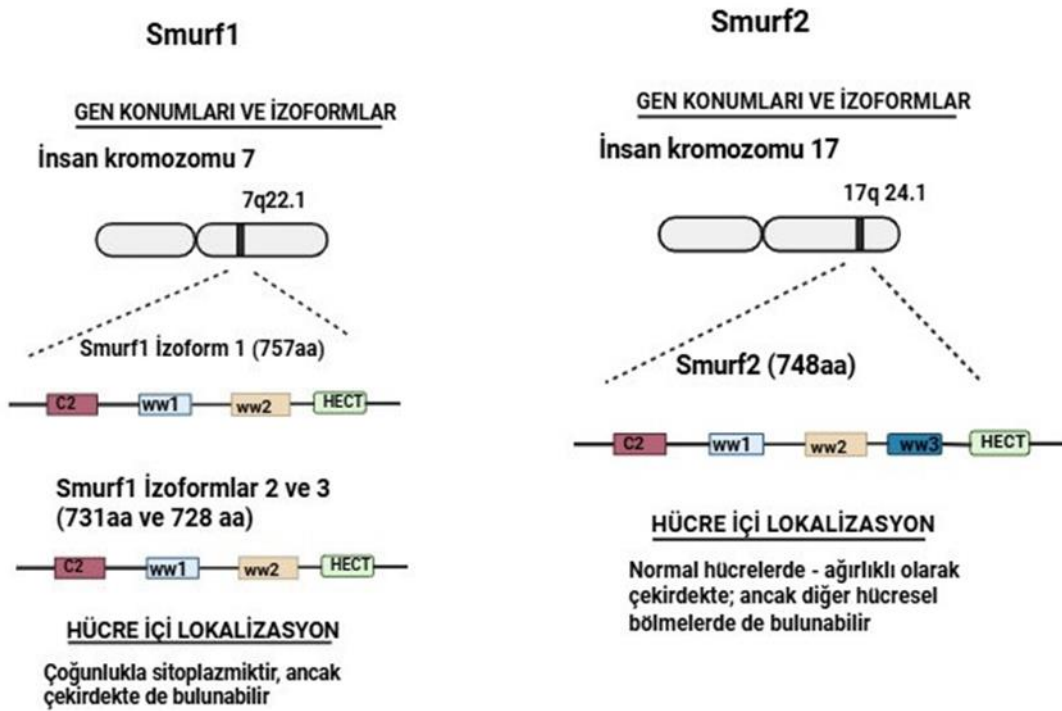
Şekil 2.4. Genel miRNA biyogenezi.

miRNA genleri çekirdekte uzun birincil miRNA'lara (pri-miRNA'lar) transkripsiyona uğrar. pri-miRNA'lar, RNase III enzimi Drosha'yı içeren Mikroişlemci adı verilen bir enzim kompleksi tarafından yaklaşık 70 nükleotidlik daha kısa, saç tokası şeklindeki öncül miRNA'lara (pre-miRNA'lar) işlenir (Ros ve Ørom, 2024). Pre-miRNA'lar, Exportin-5 proteini tarafından çekirdekten sitoplazmaya taşınır. Sitoplazmada, Dicer adı verilen başka bir RNase III enzimi, pre-miRNA'ları daha kısa, çift sarmallı RNA duplekslerine, yani olgun miRNA duplekslerine (yaklaşık 22 nükleotid uzunluğunda) ayırır (Yi vd., 2003). Olgun miRNA dupleksinin bir ipliği (kılavuz iplik) RNA kaynaklı susturma kompleksine (RISC) yüklenirken, diğer iplik (yolcu iplik) genellikle parçalanır. RISC kompleksindeki miRNA, tamamlayıcı dizilere sahip hedef mRNA'lara yönlendirir ve bu da mRNA bozunumuna veya translasyonel baskılamaya yol açar (O'Brien vd., 2018).

2.12. SMURF1 SMURF2 Geni ve Mir520d-5p İlişkisi

SMURF1 ve SMURF2 genleri, TGF- β sinyal yolunun düzenlenmesi de dahil olmak üzere çeşitli hücresel süreçlerde önemli roller oynayan, birbirine yakın iki E3 ubiquitin ligazını kodlar (Koganti, Cohen ve Blank, 2018). SMURF1 insanlarda 7.

kromozomda bulunurken, SMURF2 17. kromozomda bulunur Şekil 2.5 (Koganti, Cohen ve Blank, 2018).



Kaynak: Koganti, Cohen ve Blank, 2018' den uyarlanmıştır.

Şekil 2.5. SMURF'ların gen konumlarını, izoformlarını ve hücre içi dağılımını gösteren şematik diyagram.

SMURF1 ve SMURF2 proteinleri, E3 ubiquitin ligazlarının HECT (E6-AP Karboksil Sonlandırıcıya Homolog) domain ailesine aittir (Bernatik vd., 2020). Önemli dizi homolojisine sahiptirler ve N-terminal C2 alanı (membran bağlanmasında rol oynar), WW alanları (protein-protein etkileşimlerini aracılık eder) ve C-terminal HECT alanı (katalitik aktiviteyi içerir) gibi benzer yapısal özelliklere sahiptirler (Lu vd., 2011). Hem SMURF1 hem de SMURF2, ubiquitin moleküllerini hedef proteinlere bağlamak üzere işlev görür ve bu da sıklıkla proteazom tarafından parçalanmalarına yol açar (Lin, Liang ve Feng, 2000).

SMURF1 ve SMURF2 başlangıçta BMP/TGF- β sinyal yollarının negatif düzenleyicileri olarak tanımlanmıştır. Bu yollar embriyogenezde ve yetişkin doku homeostazında ve ayrıca çeşitli insan hastalıklarının patogeneğinde önemli roller oynar (Guo ve Wang, 2009). Kanserde, bu yolların ikili bir rolü olduğu görülmektedir: hem kanser gelişiminde hem de baskılanmasında işlev görmektedir (Bach, Park ve Lee, 2018). SMURF1'in BMP reseptörüyle düzenlenen SMAD proteinlerini (R-SMAD'lar; yani

SMAD1 ve SMAD5) ubiquitinleştirdiği ve parçaladığı gösterilmiştir. Bu proteinler ortak bir ortak SMAD (Co-SMAD) SMAD4 ile heteromerik kompleksler oluşturur. Oluşumun ardından bu kompleks, tümör oluşumu, kanser ilerlemesi ve kemoterapi direnci ile de ilişkili olan çeşitli hedef genlerin transkripsiyonunu düzenlemek için çekirdeğe taşınır. SMURF1'in BMP'ye özgü SMAD'ları ve BMP reseptörlerini parçalama yeteneği, BMP sinyal yoluna negatif geri bildirim sağlar. Dikkat çekici bir şekilde, SMURF1, TGF- β süper ailesi sinyallemesini birkaç farklı mekanizma ile baskılayan inhibitör SMAD (I-SMAD), SMAD6 ve SMAD7 ile işbirliği yapabilir (Murakami vd., 2003; Zhu vd., 1999).

SMURF2'nin E3 ubiquitin ligaz işlevleri, öncelikle TGF- β sinyal yolunu negatif olarak düzenleme yeteneğiyle ilişkilendirilmiştir. TGF- β ligandı ile reseptör uyarımının ardından, SMURF2 çekirdekte sitozole taşınır. Bunun gerçekleşmesi için, nükleer SMURF2'nin I-SMAD'a, özellikle SMAD7'ye bağlanması gerekir, bu da SMURF2'nin nükleer ihracatını kolaylaştırır. Sitozolda iken SMURF2, TGF- β reseptörünün (yani TGF- β RI) proteazomal bozunmasını ve SMAD2 ve SMAD3 gibi TGF- β -spesifik R-SMADs'ı etkiler ve teşvik eder (Lin, Liang ve Feng, 2000; Nakao vd., 1997)

SMURF1'in hücre iskeleti organizasyonu ve hücre hareketliliğinde rol oynayan önemli bir protein olan RhoA'yı düzenlediği gösterilmiştir (Zheng vd., 2022). SMURF1, çeşitli hücre tiplerinde hücre polaritesini düzenlemede rol oynamaktadır (Zhang, Wang ve Wrana, 2004). SMURF2'nin ayrıca hücre polaritesi ile, özellikle düzlemsel hücre polaritesi (PCP) ve nöronal gelişim gibi süreçlerle de bağlantısı olduğu görülmüştür (Narimatsu vd., 2009). SMURF1, çeşitli doğuştan bağışıklık sinyalizasyon yollarının düzenlenmesinde rol oynar. Bu yolların bileşenlerini ubiquitinasyon için hedefleyebilir ve bağışıklık tepkisinin pozitif veya negatif düzenlenmesine yol açabilir (Costa vd., 2023). SMURF1'e benzer şekilde SMURF2, ubiquitinasyon için sinyal moleküllerini hedefleyerek doğuştan gelen bağışıklık tepkilerini düzenlemede rol oynar (Pan vd., 2014).

SMURF1'in, belirli hücresel bileşenlerin veya patojenlerin bozunma için hedeflendiği seçici otofajiye katıldığı gösterilmiştir (Franco vd., 2017). SMURF1'in otofajideki rolü daha iyi belirlenmiş olsa da, SMURF2'nin de bu süreçte rol aldığı, potansiyel olarak diğer sinyal yollarının düzenlenmesi veya otofajiye ilişkili proteinleri doğrudan hedeflemesi yoluyla rol aldığı düşünülmektedir (Borroni vd., 2018).

miR-520d-5p, miRNA ailesine ait küçük bir kodlamayan RNA molekülüdür. miRNA'lar, mRNA'ların 3' çevrilmeyen bölgesindeki (3'UTR) tamamlayıcı dizilere bağlanarak, transkripsiyon sonrası düzeyde gen ifadesinin düzenlenmesinde önemli bir rol oynar ve bu da mRNA bozunumuna veya translasyonel baskılamaya yol açar (Tsukerman vd., 2014). "miR" mikroRNA'yı belirtir, "520d" bu belirli miRNA için özel bir tanımlayıcıdır ve "-5p" bu olgun miRNA'nın öncül miRNA'nın (ön-miRNA) saç tokasının 5' kolundan türetildiğini belirtir. Diğer kol "-3p" olarak adlandırılır. mir520d geni insanlarda 19. kromozomda bulunur (Miura vd., 2019).

Diğer miRNA'lar gibi miR-520d-5p de daha uzun bir birincil transkriptin (pri-miRNA) parçası olarak transkripsiyona uğrar, çekirdekte Drosha enzimi tarafından öncül bir miRNA'ya (pre-miRNA) işlenir, sitoplazmaya aktarılır ve daha sonra Dicer enzimi tarafından olgun 21-23 nükleotid miR-520d-5p dupleksini üretmek üzere işlenir. Bu dupleksin bir ipliği daha sonra kompleksi hedef mRNA'larına yönlendirmek için RISC yüklenir (Hibio vd., 2012 ; Maltby vd., 2016)

Araştırmalar, miR-520d-5p'nin çeşitli biyolojik süreçlerde yer aldığını ve rolünün hücresel bağlama göre değişebileceğini göstermektedir (Lu vd., 2020). Bazı kanserlerde miR-520d-5p'nin hücre proliferasyonunu, göçünü ve istilasını inhibe ederek tümör baskılayıcı olarak etki ettiği gösterilmiştir. Bu genellikle onkogenlerin aşağı düzenlenmesi yoluyla gerçekleşir (Yan vd., 2015). miR-520d-5p, farklı hücre tiplerinde apoptozis (programlanmış hücre ölümü) yollarını da etkileyebilir (Jiao vd., 2018). Bazı çalışmalar, miR-520d-5p'nin kondrogenesis (kıkırdak oluşumu) de dahil olmak üzere gelişimde bir rolü olduğunu öne sürmektedir (Lu vd., 2020). miR-520d-5p için çeşitli hedef genler farklı çalışmalarda tanımlanmıştır ve bu hedefler hücresel bağlama göre değişmektedir. Örnekler arasında hücre sinyalizasyonunda, hücre döngüsü düzenlenmesinde ve hücre dışı matris bileşenlerinde yer alan genler yer almaktadır (Ishihara vd., 2019).

Biyoenformatik araçlar ve veri tabanları (TargetScan, miRDB, miRWalk, vb. gibi) genellikle 3'UTR'deki dizi tamamlayıcılığına dayalı olarak belirli miRNA'ların potansiyel mRNA hedeflerini tahmin etmek için kullanılır (Liu, Li ve Cairns, 2014). miR-520d-5p, hem SMURF1 hem de SMURF2 genlerini regüle etme potansiyeli olan bir

düzenleyicidir (*MiRBase*, n.d.). SMURF1 ve SMURF2, TGF-beta yolunun negatif düzenleyicileri olduğundan, ifadelerindeki bir azalma TGF-beta sinyallemesinin artmasına neden olabilir (Tang vd., 2011). SMURF1 ve SMURF2, TGF-beta sinyal yolunda önemli roller oynayan HECT tipi E3 ubiquitin ligazlarıdır. Ubiquitinasyon ve ardından proteazomal bozunma için reseptör tarafından düzenlenen SMAD proteinlerini hedefleyerek yolu düzenlerler ve böylece çoğalma, farklılaşma ve apoptoz gibi hücrel süreçleri düzenlerler. SMURF1 ve SMURF2, TGF-beta yolunun negatif düzenleyicileridir (Fukunaga vd., 2008).

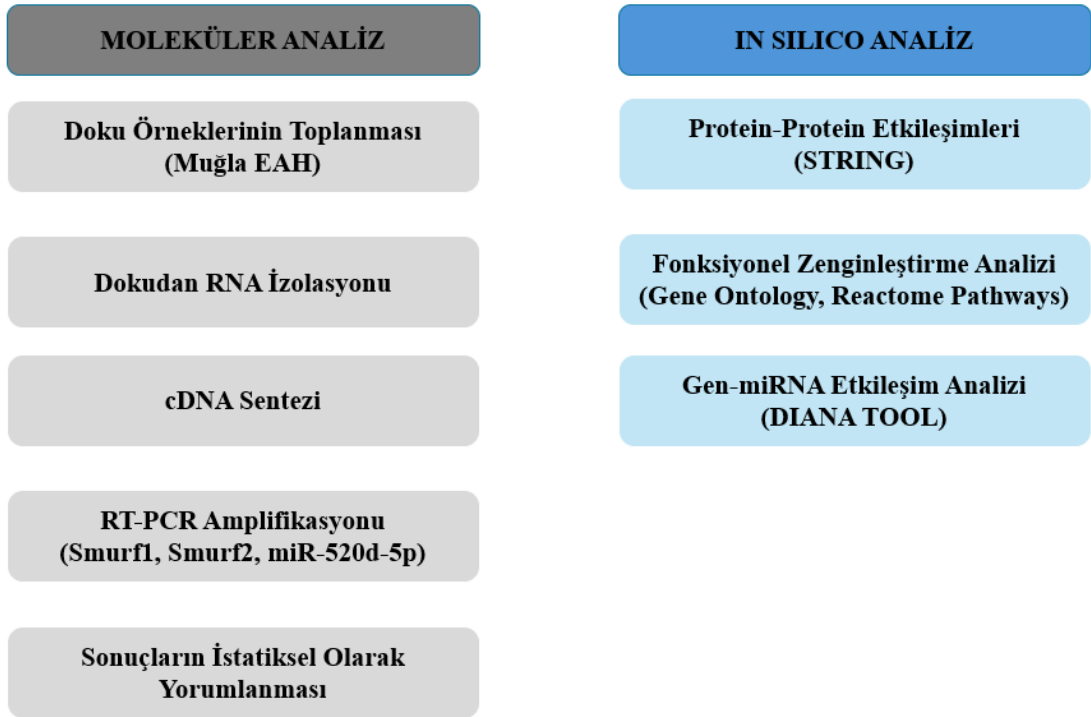
İn silico analiz, biyolojik sistemlerin ve süreçlerin bilgisayar destekli simülasyonları ve hesaplamalı modellemeleri yoluyla incelenmesini ifade eder. Bu yaklaşım, deneysel yöntemlerin (in vitro ve in vivo) tamamlayıcısı olarak, genetik varyasyonların etkilerini tahmin etme, protein yapılarını modelleme, ilaç-hedef etkileşimlerini analiz etme ve biyolojik ağları simüle etme gibi çeşitli biyoinformatik uygulamalarda kullanılır. İn silico yöntemler, deneysel araştırmalardan önce hipotezlerin test edilmesine, deney tasarımlarının optimize edilmesine ve zaman ile maliyet tasarrufu sağlanmasına olanak tanır (Bromberg ve Rost, 2008).

Çalışmamızda kronik tonsillitte, miR-520d-5p'nin SMURF1 ve SMURF2 genlerini hedeflediği, SMURF proteinlerinin ise TGF-beta sinyal yolağını düzenlediği moleküler ve in silico olarak analiz edilmiştir.

3. YÖNTEM

3.1. Araştırma Modeli

Bu çalışmada kronik tonsillit hastalığının moleküler mekanizmasının aydınlatılması amacıyla SMURF1, SMURF2 ve miR-520d-5p, seviye düzeyleri, gerçek zamanlı kantitatif polimeraz zincir reaksiyonu (RT-qPCR) kullanılarak değerlendirildi. Ekspresyon seviyesi tespiti için yaygın ve etkin bir yöntem olan RT-qPCR analiz yöntemi kullanıldı. Çalışmamız moleküler deneysel araştırma modellerinin uygulandığı hasta-kontrol çalışmasıdır.



Şekil 3.1. Materyal ve yöntem akış şeması

3.2. Araştırma Evren ve Örnekleme/Araştırma Materyali

Çalışmamızın örneklem grubunu Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi (MSKÜ) Kulak, Burun Boğaz Polikliniğine başvuran kronik rekürren tonsillit tanısı almış ve tonsiller hipertrofi tanısı almış bireylere ait tonsil dokuları örneklem grubunu oluşturmaktadır. 06.08.2024 tarihinde alınan etik kurul onayından sonra, doku örnekleri elde edilmeye başlamıştır.

İstatistiksel güç analizi için “G. Power-3.1.9.7” programı kullanılarak daha önce yapılmış bir çalışmadan (Mansson, Adner, ve Cardell, 2006). yararlanılarak etki büyüklüğü 0.3758940 olarak hesaplanmıştır. Orta etki büyüklüğünde ve 1 serbestlik derecesinde tip 1 hata payı %5 ve %80 güç ile minimum 59 kişinin çalışmaya dahil edilmesi gerektiği hesaplanmıştır. Yapılacak olan çalışmaya 35 hasta ve 35 kontrol olgusu dahil edilmiştir. Çalışmaya dahil edilen hasta ve kontrol grubundaki bireylerden yazılı onam formu alınmıştır.

3.3. Veri Toplama Araçları

3.3.1. Kullanılan Araç-Gereçler, Kimyasallar ve Sarf Malzemeleri

Kullanılan araç-gereçler

Buzdolabı (Bosch)
 Mikrosantrifüj (Elektro-mag M 4815 P)
 Vorteks (WiseMix-UM-10)
 Otoklav (Nuve OT 23B)
 Etüv (Memmert IN55)
 Termal Döngü Cihazı (Thermo Fisher)
 Gerçek Zamanlı PCR Cihazı (ABI CFX96 Real Time PCR Thermal Cycler)
 Homojenizatör (PRO Scientific Bio-Gen PRO200)
 Hassas Terazı (Uni Bloc TX432L)
 Distile Su Cihazı (Nuve ND12)
 Mikropipet Seti (Transferpette Brand)
 Steril Bisturi Ucu (Surgeon)

Kimyasallar ve sarf malzemeler

Kloroform (Tekkim, TK.090260.01000)
 Etil Alkol (Tekkim, TK.911015.01000)
 RNA Later (GeneAll, RiboSaver)
 Trizol (Hydra -1348-HY-200)
 İzopropil Alkol (TEKKİM, TK.090250.02501)
 cDNA Sentez Kiti (Hydra, 1348-HY-100)
 RealQ Plus 2x SYBR Green Mix (APMLIQON, 5000850-1250)
 96 Kuyucuklu 0.1 ml Pcr Plate (Hydra, 1348-HY-100)
 Real Time PCR Plate Kaplama Filmi (Thermo SCIENTIFIC)

SMURF1, SMURF2 ve miR-520d-5p Primer Sentezi (Sentabiolab)

0.2 ml PCR Tüpü (LABSELECT, MCT-001-150)

Mikrosantrifüj Tüpü 2 ml'lik (ISOLAB)

Mikrosantrifüj Tüpü 1.5 ml'lik (ISOLAB)

Pipet ucu 10 µl'lik (ISOLAB)

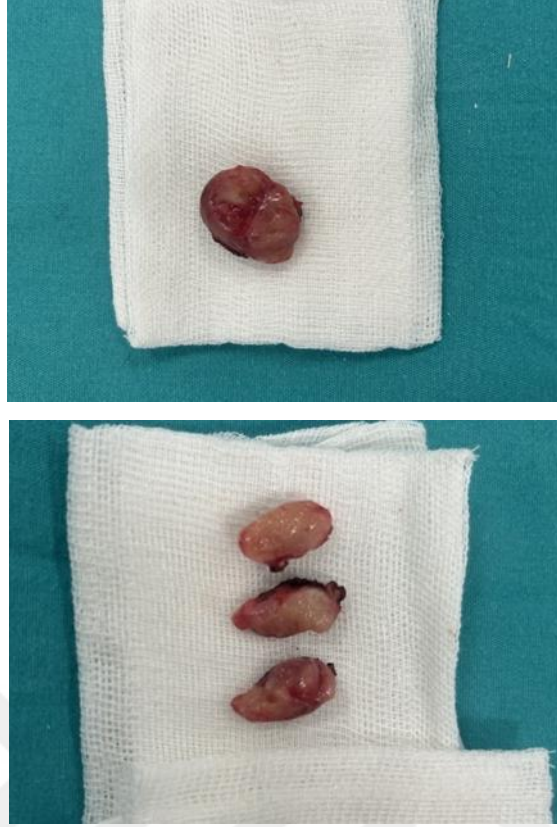
Pipet ucu 200 µl'lik (ISOLAB)

Pipet ucu 1000 µl'lik (ISOLAB)

3.4. Veri Toplama Süreci

3.4.1. Deney-Kontrol Gruplarının Oluşturulması

Çalışmamız, Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi Tıbbi Bilimler Etik Kurulu'nun 06.08.2024 tarihli ve 94 nolu kararı ile onaylanmıştır (Ek-1). Çalışmaya toplam 70 olgu dahil edilmiştir. Bu olguların cerrahi endikasyonları American Academy of Otolaryngology derneği (AAO-HNS) tarafından 2019'da yayınlanan rehberine göre planlanmış olup, kronik rekürren tonsillit (Son 1 yılda 7 kez akut tonsillit atağı geçiren hastalar veya son 2 yılda üstüste her yıl 5 kez akut tonsillit atağı geçiren hastalar veya son 3 yıl üstüste her yıl en az 3 tonsillit atağı geçiren hastalar) ve tonsiller hipertrofi (Uygun medikal tedaviye rağmen devam eden obstrüktif uyku apne sendromu bulgularının olması) nedeni ile cerrahi endikasyola ameliyata alınan hastalardan oluşmaktadır (Mitchell vd., 2019). Hasta grubuna kronik rekürren tonsillit hastalarından alınan 35 tonsil dokusu, kontrol grubuna ise tonsiller hipertrofisi nedeni ile ameliyat olan çocuklardan alınan 35 tonsil dokusu dahil edilerek örneklem grupları oluşturulmuştur. Alınan yaklaşık 5-6 cm boyutlarındaki tonsil dokuları ameliyat masasında 3 parçaya ayrılmıştır. Üst ve alt kısımları patolojik incelemeye gönderilmiştir. Hasta ve kontrol olgularının tonsillerinin orta kısmından elde edilen 0.5 x 0.5 cm boyutlarında doku incelemeye dahil edilmiştir. Örnekler, RNA later solüsyonuna konularak -80 °C de saklanarak, Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji AD laboratuvarına gönderilmiştir. Ekspresyon düzeyleri belirlemek için oda sıcaklığına getirilen dokulardan 50 mg'lık iki doku parçası hassas terazide tartılarak 2 ml'lik mikrosantrifüj tüplerine alınmıştır.



Resim 3.1. Hastadan alınan tonsil ve tonsil materyalinin ilk aşamada üç parçaya ayrılması

Çalışmaya dahil edilme ve edilmeme kriterleri aşağıda belirtilmiştir.

Dahil edilme kriterleri

- Hastanın ebeveynlerinden ve yaşı tutuyorsa (7 yaş ve üzeri ve okuma yazma bilen çocuklar) kendisinden aydınlatılmış onam formu alınan hastalar.
- Tonsil hipertrofisi veya rekürren tonsillit endikasyonu nedeniyle opere edilen hastalar.
- Başka bilinen aktif ve kronik enflamatuvar hastalığı olmayanlar.
- Son 3 ay içinde sistemik steroid tedavisi almamış olan hastalar.
- 2-18 yaş aralığında olan hastalar.

Dışlanma kriterleri

- Onam formunu imzalamamış olan hastalar.
- 2 yaşından küçük 18 yaşından büyük olan hastalar.
- Rekürren tonsillit veya tonsil hipertrofisi endikasyonları dışında bir endikasyon ile tonsillektomi olan hastalar.

- Kronik enflamatuar hastalığı olan hastalar.
- PFAPA tanısı ile opere olan hastalar.
- Malignitesi olan hastalar.
- Son 3 ay içinde sistemik steroid tedavi almış olan hastalar.

3.5. Deneysel Kurgu

3.5.1. Dokulardan RNA İzolasyonu

Hasta ve kontrol gruplarının tonsil dokularından RNA izolasyonu, Trizol RNA ve DNA İzolasyonu kullanılarak üreticinin protokol talimatlarına göre gerçekleştirildi.

1. 2 ml' lik eppendorf mikro santrifüj tüpünde ve -20 °C de muhafaza edilen doku oda ısısında çözüldü. Enjektör ucu ile parçalandı. 50-100 mg doku başına 1 ml trizol eklendi. (Bu aşamada Trizol $\frac{3}{4}$ oranında su ile dilüe edilerek kullanılır, Dilüsyon: 750 ml Trizol + 250 ml dH₂O) yine enjektör ucu ile iyice parçalandı ve vortekslendi.

2. Oda ısısında 15 dakika bekletildi, bekleme esnasında ara sıra vortekslendi.

3. Trizolün 1 ml' si başına 0,2 ml kloroform eklendi ve 15 saniye vortekslendi.

4. 13000 rpm' de 10 dakika +4 °C de santrifüjlendi.

5. Üstte oluşan sıvı faz başka bir tüpe alındı.

6. Sıvı fazın üzerine 1 ml trizol başına 0,5 ml isopropanol eklendi.

7. Oda ısısında 10 dakika bekletildi.

8. 13000 rpm' de 10 dakika + 4 °C de santrifüjlendi.

9. Süpernatant atıldı ve pelet 1 ml Trizol başına 1 ml %80 EtOH ile yıkandı ve vortekslendi.

10. 13000 rpm' de 10 dakika + 4 °C de santrifüjlendi.

11. Süpernatant atıldıktan sonra pelet 5-10 dakika arası oda ısısında kurutuldu ve 50 mikrolitre distile su içerisinde çözüldü.

3.5.2. Gerçek Zamanlı Kantitatif Polimeraz Zincir Reaksiyonu (RT-qPCR)

RT-qPCR, gen ekspresyon ürününü kantite etme amacıyla günümüzde oldukça yaygın kullanılan moleküler bir yöntemdir. Uygun sıcaklık değişim döngüleri sağlayan PCR cihazları ve hassas ölçüm aletlerinin birleştirilmesi sonucu ortaya çıkan bu yöntem, spesifik problemlerle veya floresan boyalarla hedef moleküllerin amplifikasyon seviyelerinin belirlenmesine olanak sağlar.

Doku örneklerinden elde edilen RNA'lar gen ekspresyonunun analizi için öncelikle komplementer DNA (cDNA) moleküllerine dönüştürüldü. Bu reaksiyon cDNA sentez kiti (Hydra, 1348-HY-100) kullanılarak gerçekleştirildi. Ters transkripsiyon işlemi için kullanılan reaktifler ve miktarları Tablo 3.1'de verilmiştir. Hazırlanan reaksiyon karışımından cDNA çevirisi, termal döngü cihazında uygun reaksiyon koşullarında gerçekleştirildi (Tablo 3.2).

Tablo 3.1. cDNA sentezi için kullanılan bileşenler ve hacimleri

Reaktif	Hacim
5x cDNA Buffer	2 µl
Enzim mix	0.5 µl
Kalıp RNA	3 µl
RNase free su	7.5 µl
Toplam reaksiyon hacmi	13 µl

Tablo 3.2. Komplementer DNA elde etme reaksiyon koşulları.

	Sıcaklık	Süre	Döngü Sayısı
1. Basamak	42 °C	60 dakika	1
2. Basamak	80 °C	10 dakika	1
4. Basamak	4 °C	∞	1

Reaksiyon sonrasında 90 mikrolitre dH₂O eklendi.

Hedef moleküller SMURF1, SMURF2 ve miR-520d-5p'nin ekspresyon analizi gerçek zamanlı PCR cihazı (Applied Biosystems StepOnePlus Real-Time PCR) ile gerçekleştirildi. Analiz için SYBR green metodu kullanıldı. SYBR green boyası çift sarmallı DNA'nın küçük oluşuna bağlanarak floresan ışımaya yapar (Dragan vd., 2012).

Kantitatif ekspresyon analizinde SYBR boyasından saptanan floresan ışımalar belirli bir eşik değere ulaşır. Bu andaki döngü sayısı eşik döngüsü (cycle of threshold) olarak adlandırılır ve "Ct" olarak gösterilir. Ekspansiyon fazda olan PCR ürünleri eşik döngüsünden sonra daha yoğun floresan ışımaya verir. Oluşan PCR ürünü ile açığa çıkan floresan ışımaya miktarı doğru orantılıdır. Bir süre sonra reaktiflerin tükenmesine bağlı

olarak belirli döngü sayısından sonra amplifikasyon durgun faz olarak adlandırılan plato fazına girer (Green ve Sambrook, 2018). Yapılan RT-qPCR çalışmalarında gen ekspresyonunun analizi için genler, uygun referans genler ile normalize edilir. Hücrelerdeki temel biyolojik süreçleri düzenleyen ve hücrenin normal işleyişini sürdürmesi için gerekli olan housekeeping genler RT-qPCR’da referans genler olarak kullanılırlar (Korkmaz ve Sidekli, 2020).

Çalışmada SMURF1 ve SMURF2 için referans gen olarak B-actin kullanılırken, miR-520d-5p için U6 kullanılmıştır (Zhi vd., 2017). Elde edilen veriler en az üç bağımsız deneyden elde edildi. Ters transkripsiyon reaksiyonundan elde edilen cDNA’lardan, SMURF, SMURF2 ve miR-520d-5p ekspresyon seviyelerini belirlemek için uygun primerler (Tablo 3.3.), RealQ Plus 2x SYBR Green Mix, (APMLIQON, 5000850-1250) kiti ile kullanıldı. Her ekspresyon analizi için özel bir plate düzeni hazırlandı ve uygun reaksiyonların gerçekleştirilmesi için gerekli olan reaktifler kullanıldı (Tablo 3.4). Daha sonra, uygun reaksiyon koşulları (Tablo 3.5) altında reaksiyonlar gerçekleştirildi. Plate düzeni Şekil 3.1.’de verildiği gibi her gen için ayrı olarak hazırlandı. Referans olarak kullanılan “0” örneği hazırlanırken tüm kontrol örneklerinden 2 µl RNA alınarak bir RNA havuzu elde edildi. Kontrol ve Kronik Tonsillit örnekleri arasındaki ekspresyon düzeyleri $\Delta\Delta CT$ değerleri kullanılarak belirlendi. Veri normalizasyonu $2^{-\Delta\Delta CT}$ değerinin hesaplanmasıyla sağlandı.

Tablo 1.3. Ekspresyon analizinde kullanılan gene özgü primer sekansları

Gen/RNA	Primer sekansları
SMURF1	F: 5'-GTCCAGAAGCTGAAAGTCCTCAGA-3' R: 5'-CACGGAATTTACCATCAGCC-3'
SMURF2	F: 5'-GATCCAAAGTGGAATCAGCA-3' R: 5'-TGGCATTGGAAAGAAGACG-3'
miR-520d 5p	F: 5'-TGAGTCTACAAAGGGAAGCCC-3' R: 5'-TCTCAAACCGTAACCCACCA-3'
β -actin	F: 5'-CCTGGCACCCAGCACAAT-3' R: 5'-GGGCCGGACTCGTCATAC-3'
U6	F: 5'-CTCGCTTCGGCAGCACA-3' R: 5'-AACGCTTCACGAATTTGCGT-3'

Tablo 3.4. Ekspresyon analizi reaksiyon karışımı.

Reaktifler	1 Örnek İçin Kullanılan Miktar
RealQ Plus 2x SYBR Green Mix	5 µl
Primer	F: 0.25 µl R: 0.25 µl
dH ₂ O	2 µl
cDNA	10 µl
Toplam Hacim	17.5 µl

Tablo 3.5. Ekspresyon için uygun reaksiyon koşulları.

	Sıcaklık	Süre
1 Döngü	95 °C	15 dakika
45 Döngü	95 °C	20 saniye
	58 °C	1 dakika
	72 °C	30 saniye

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	0 Smurf1	T1 Smurf1	T2 Smurf1	T3 Smurf1	T4 Smurf1	T5 Smurf1	T6 Smurf1	T7 Smurf1	T8 Smurf1	T9 Smurf1	T10 Smurf1	T11 Smurf1
B	0 β-actin	T1 β-actin	T2 β-actin	T3 β-actin	T4 β-actin	T5 β-actin	T6 β-actin	T7 β-actin	T8 β-actin	T9 β-actin	T10 β-actin	T11 β-actin
C	T12 Smurf1	T13 Smurf1	T14 Smurf1	T15 Smurf1	T16 Smurf1	T17 Smurf1	T18 Smurf1	T19 Smurf1	T20 Smurf1	T21 Smurf1	T22 Smurf1	T23 Smurf1
D	T12 β-actin	T13 β-actin	T14 β-actin	T15 β-actin	T16 β-actin	T17 β-actin	T18 β-actin	T19 β-actin	T20 β-actin	T21 β-actin	T22 β-actin	T23 β-actin
E	T24 Smurf1	T25 Smurf1	T26 Smurf1	T27 Smurf1	T28 Smurf1	T29 Smurf1	T30 Smurf1	00 Smurf1	TK1 Smurf1	TK2 Smurf1	TK3 Smurf1	TK4 Smurf1
F	T24 β-actin	T25 β-actin	T26 β-actin	T27 β-actin	T28 β-actin	T29 β-actin	T30 β-actin	00 β-actin	TK1 β-actin	TK2 β-actin	TK3 β-actin	TK4 β-actin
G	TK5 Smurf1	TK6 Smurf1	TK7 Smurf1	TK8 Smurf1	TK9 Smurf1	TK10 Smurf1	TK11 Smurf1	TK12 Smurf1	TK13 Smurf1	TK14 Smurf1	TK15 Smurf1	TK16 Smurf1
H	TK5 β-actin	TK6 β-actin	TK7 β-actin	TK8 β-actin	TK9 β-actin	TK10 β-actin	TK11 β-actin	TK12 β-actin	TK13 β-actin	TK14 β-actin	TK15 β-actin	TK16 β-actin

T: Tonsil hasta, TK: Tonsil kontrol, 0: referans örneği *Her gen için deney düzeneğinin aynısı ayrı ayrı düzenlenmiştir

Şekil 3.2. Ekspresyon analizi yapılan genlerin her biri için düzenlenen örnek mikropłaka düzeni

3.5.3. In silico Analizler

Çalışma tasarımı ve bulgularımız in silico analiz metodları kullanılarak değerlendirilmiştir. Her analiz, varsayılan kesme değerleri ve parametreler dikkate alınarak yapılmıştır. Önerilen ağ içinde SMURF1 ve SMURF2 arasındaki olası etkileşimleri araştırmak için STRING veri tabanını (<https://string-db.org/>) kullandık ve orta güven puanı eşiği (0,400) dahil etme için alt sınır olarak kullanılmıştır (Szklarczyk vd., 2023). SMURF1 ve SMURF2'nin STRING tarafından bildirildiği gibi, tanımlanan ağlarla ilişkili yolların işlevsel zenginleşmeye sahip olduğu bulunmuştur.

miR-520d-5p ile STRING ağındaki proteinler arasındaki potansiyel etkileşimleri ve tonsillit ile ilgili yollar arasındaki olası etkileşimleri belirlemek için DIANA TOOL veri tabanı kullanılmıştır. Bu, proteinlerin ekspresyonunu veya aktivitesini düzenleyebilecek ve potansiyel olarak tekrarlayan tonsillit gelişimini etkileyebilecek miRNA-gen etkileşimleri tanımlanmıştır.

3.6. İstatistiksel Analiz

Elde edilen gen ekspresyon sonuçları SPSS 22 for Windows (SPSS, Chicago, Illinois, ABD) programı kullanılarak analiz edilmiştir. SMURF1, SMURF2 ve miR-520d-5p değişkenlerine ait verilerin normal dağılıma uygunluğu Shapiro-Wilk test istatistiği ile değerlendirilmiştir. Tanımlayıcı istatistikler minimum, maksimum, $ORT \pm SS$ (ortalama \pm standart sapma), medyan olarak verilmiştir. Sürekli değişkenler açısından gruplar arasındaki istatistiksel farklılık ise normallik varsayımının sağlanması halinde Independent Sample T Testi, sağlanmaması halinde Mann Whitney-U Testi ile belirlenmiştir. Kategorik değişkenler açısından gruplar arasındaki istatistiksel farklılık Pearson Ki-Kare Testi ile analiz edilmiştir. İstatistiksel analizlerde $p < 0.05$ ise sonuçlar anlamlı kabul edilmiştir.

3.7. Etik Onay

Çalışmamız, Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi Tıbbi Bilimler Etik Kurulu' nun 06.08.2024 tarihli ve 94 nolu kararı ile onaylanmıştır (Ek-1).

3.8. Araştırmanın Sınırlılıkları

Bu çalışmanın bazı sınırlılıkları bulunmaktadır. İlk olarak, çalışmaya dahil edilen örneklem sayısının sınırlı olması, elde edilen bulguların genellenebilirliğini azaltmaktadır. Daha geniş örneklem gruplarıyla yapılacak ileri düzey araştırmalar, miR-520d-5p, SMURF1 ve SMURF2 genlerinin kronik tonsillit patogenezindeki rollerini daha güçlü Şekilde ortaya koyacaktır. İkinci olarak, bu çalışmada gen düzeyinde elde edilen veriler in silico analizlerle desteklenmiş olsa da, bu bulguların protein düzeyindeki işlevsel karşılıkları deneysel olarak doğrulanmamıştır. Dolayısıyla, saptanan genetik düzenlemelerin biyolojik etkileri henüz net olarak ortaya konmamıştır.



4. BULGULAR

4.1. Demografik Veriler

Çalışmaya 35 tane rekürren tonsillit tanısı alan, 35 tane de tonsiller hipertrofi tanısı alan toplam 70 hasta dahil edildi. Rekürren tonsillit grubunun yaş ortalaması 7.4 ± 3.06 olarak saptanmıştır. Tonsil hipertrofisi grubunun yaş ortalaması 7.11 ± 3.70 olarak belirlenmiştir. Yapılan istatistiksel değerlendirmede gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmemiştir ($p=0.266$). Olgular cinsiyete göre sınıflandırıldığında 39 hasta erkek, 31 hasta kadın olarak izlenmiştir. Rekürren tonsillit grubunda 17 erkek ve 18 kadın hasta, tonsil hipertrofisi grubunda ise 22 erkek ve 13 kadın hasta mevcuttur. Bu iki grup arasında yapılan istatistiksel değerlendirmede gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir ($p=0.229$). Olguların yaş ve cinsiyete göre dağılımı ile ilişkili veriler Tablo 4.1’de sunulmuştur.

Tablo 2.1. Çalışma grubunun yaş ve cinsiyet dağılımı

Parametreler	Rekürren(R) n=35	Hipertrofi(H) n=35	p değeri
Yaş (Ort±SS)	7.40±3.70	7.11±3.70	0.266*
Cinsiyet n (%)			
Kadın	18 (51.40)	13(37.10)	
Erkek	17 (48.60)	22(62.90)	0.229**

* Independent Sample T, ** Pearson-Chi kare, Ort:Ortalama, SS:Standart sapma

Tonsil evreleri Brodsky evrelemesine göre yapıldı. Bu evreleme sistemlerine göre bulgular değerlendirildiğinde tonsil hipertrofisi grubunun tonsil büyüklüğünün, rekürren tonsillit grubunun tonsil büyüklüğüne göre istatistiksel olarak anlamlı derecede büyük olduğu saptanmıştır ($p<0.001$). Olguların sağ ve sol tonsilleri ayrı ayrı olarak da incelendiğinde, her iki grupta da her iki taraf için en sık grade 2 tonsillerin olduğu görülürken, hasta grubunda en sık grade 2, kontrol grubunda ise sıklıkla grade 3 ve grade 4 tonsil oranlarının yüksek olduğu izlenmiştir (Tablo 4.2). Örneklem grubuna ilişkin tüm demografik veriler Tablo 4.3’te verilmektedir.

Tablo 4.2. Çalışma grubunda sağ tonsil evrelemesi ve dağılımı

Tonsil Grade	Rekürren (R) n=35	Hipertrofi (H) n=35	p değeri
Sağ Tonsil Grade n(%)			
Grade 2	26 (74.3)	4 (11.40)	
Grade 3	7 (20)	17 (48.60)	<0.001**
Grade 4	2 (5.70)	14 (40)	
Sol Tonsil Grade n(%)			
Grade 2	25 (71.40)	3 (8.60)	
Grade 3	9 (25.70)	15 (42.90)	<0.001**
Grade 4	1 (2.90)	17 (48.60)	

** Pearson-Chi kare

Tablo 4.3. Çalışma grubunun komplikasyon ve alerji öyküsü dağılımı

Değişkenler	Rekürren (R) n=35	Hipertrofi (H) n=35	p değeri
Komplikasyon n(%)			
Yok	31 (88.60)	31 (88.60)	
Kanama	4 (11.40)	4 (11.40)	1.00**
Alerji Öyküsü n(%)			
Yok	31 (88.60)	25 (71.40)	
Var	4 (11.40)	10 (28.60)	0.073**

** Pearson-Chi kare

4.2. Gen Ekspresyonu Düzeylerinin Değerlendirilmesi

4.2.1. Gen Ekspresyonu Düzeylerinin Hasta ve Kontrol Gruplarında Karşılaştırılması

Tez çalışmasında SMURF1 ve SMURF2 genlerinin ve miR-520d-5p miRNA'sının ekspresyon düzeylerini değerlendirmek amacıyla rekürren tonsillit (hasta grubu) ve tonsil hipertrofisi (kontrol grubu) dokuları arasında karşılaştırma yapılarak p değerleri elde edilmiştir. Ekspresyon analizi sonucunda SMURF1, SMURF2 ve miR-520d-5p için elde edilen p değerleri sırasıyla, 0.032, 0.512 ve 0.038 olarak hesaplanmıştır. SMURF1 ve miR-520d-5p için hasta ve kontrol grupları arasındaki ekspresyon farkı

istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. SMURF2 için hasta ve kontrol grupları arasında ekspresyon farkı istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (Tablo 4.4).

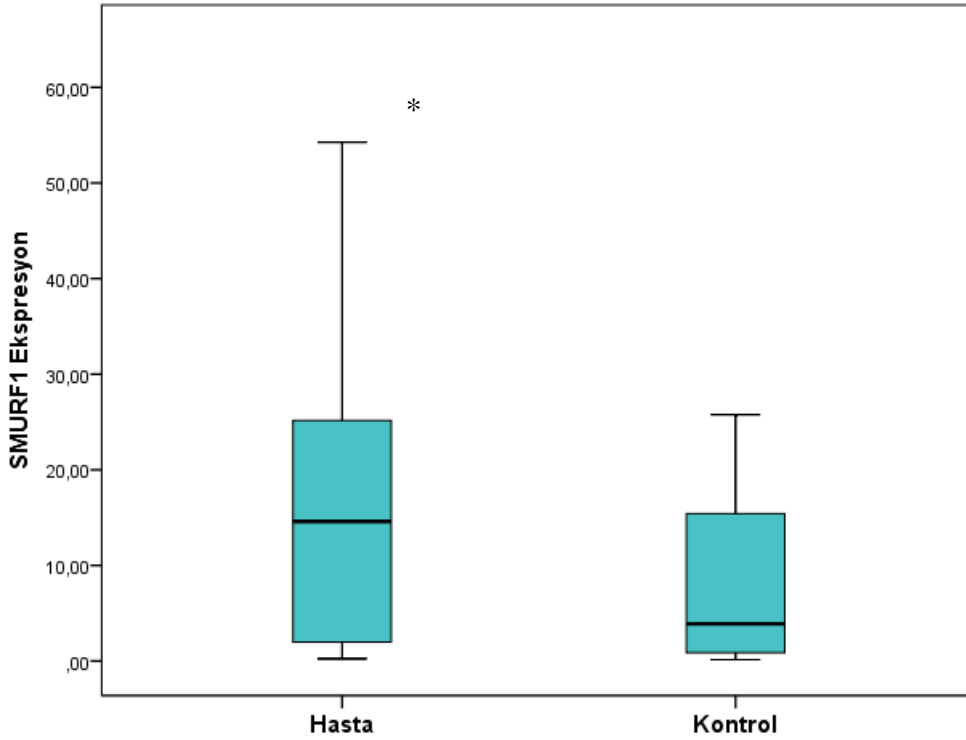
Tablo 4.4. Rekürren tonsil ve tonsil hipertrofisi olguların dokuları arasında ilgili genlerin ekspresyon, minimum, maksimum ve p değerleri

Gen/miRNA	Rekürren (R)		Hipertrofi (H)		p* değeri
	Ortalama \pm SS	Medyan (%25-%75)	Ortalama \pm SS	Medyan (%25-%75)	
SMURF1	20.91 \pm 24.20	14.59 (0.239-83.67)	8.11 \pm 8.53	3.89 (0.139-25.76)	0.032
SMURF2	3.05 \pm 4.54	1.44 (0.175-24.30)	2.39 \pm 2.57	1.20 (0.167-9.94)	0.512
miR-520d-5p	4.60 \pm 8.23	1.42 (0.024-33.58)	5.98 \pm 12.39	2.24 (0.606-58.77)	0.038

* Mann Whitney-U Testi, SS: Standart sapma, Min.:Minimum, Max.:Maksimum

4.2.2. Tonsil Dokularında SMURF1 Geni Ekspresyon Düzeylerinin Karşılaştırılması

Hasta ve kontrol gruplarında SMURF1 geninin ekspresyonuna bakıldığında $2^{-\Delta\Delta CT}$ değerinin hasta grubunda 20.91 \pm 24.20 ve kontrol grubunda 8.11 \pm 8.53 olduğu belirlenmiştir. Sonuçlara göre kontrol grubunda hasta grubuna kıyasla 2.57 kat azalma olduğu saptanmıştır (Şekil 4.1). Hasta ve kontrol grubu arasında SMURF1 geni için istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur (p= 0.032).

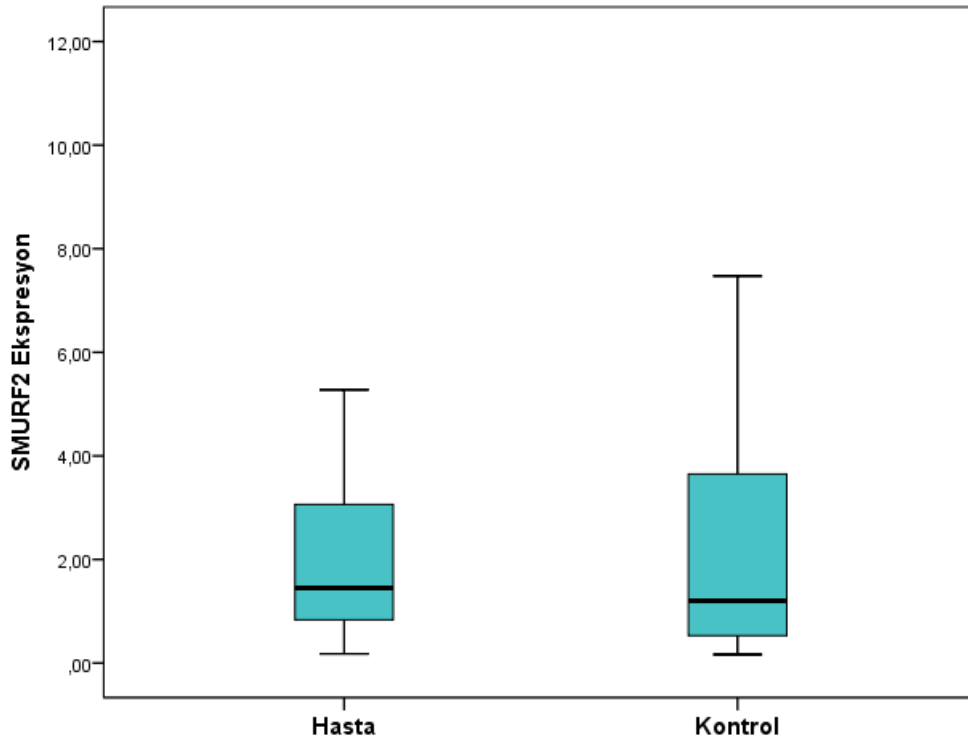


‘*’ ile gösterilen gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardır ($p < 0.05$).’

Şekil 4.1. Hasta ve kontrol grubu arasında SMURF1 geni için değişen ekspresyon seviyelerinin grafiksel gösterimi.

4.2.3. Tonsil Dokularında SMURF2 Gen Ekspresyon Düzeylerinin Karşılaştırılması

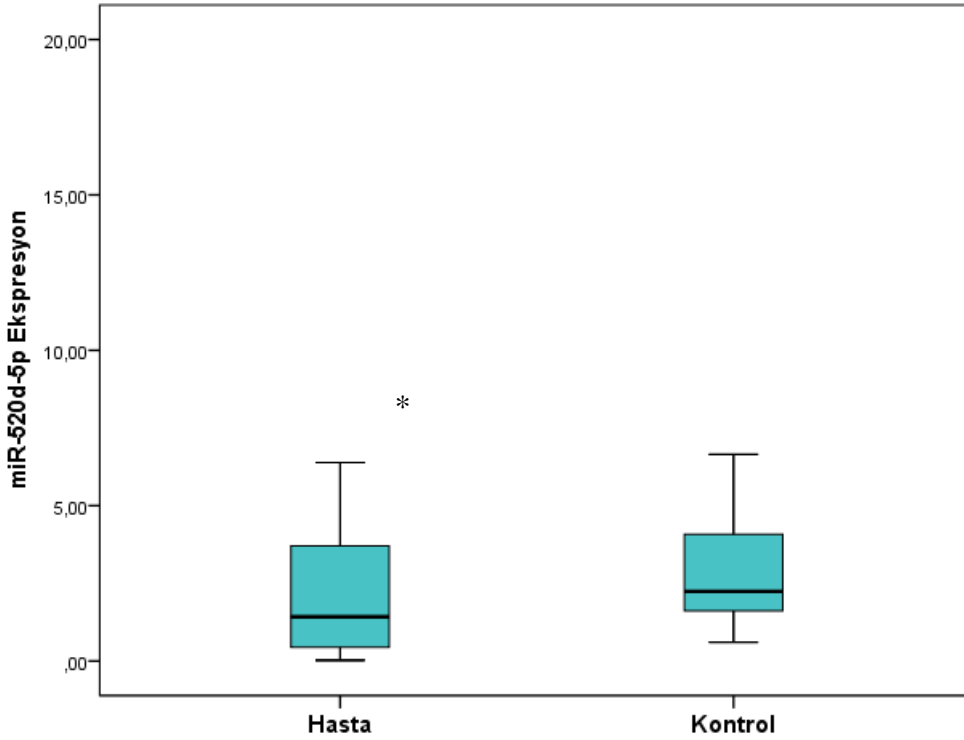
SMURF2 ekspresyon seviyesine bakıldığında $2^{-\Delta\Delta CT}$ değeri hasta grubunda 3.05 ± 4.54 ve kontrol grubunda 2.39 ± 2.57 olarak hesaplanmıştır. Buna kontrol grubunda hasta grubuna kıyasla 1.27 kat azalma belirlenmiştir (Şekil 4.2). Hasta ve kontrol grubu arasında SMURF2 geni ekspresyon seviyesi için istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır ($p = 0.512$).



Şekil 4.2. Hasta ve kontrol grubu arasında SMURF2 geni için değişen ekspresyon seviyelerinin grafiksel gösterimi

4.2.4. Tonsil Dokularında miR-520d-5p Ekspresyon Düzeylerinin Karşılaştırılması

miR-520d-5p ekspresyon seviyesine bakıldığında $2^{-\Delta\Delta CT}$ değerinin hasta grubunda 4.60 ± 8.23 kontrol grubunda 5.98 ± 12.39 olduğu belirlenmiştir. Buna göre hasta grubunda kontrol grubuna kıyasla 1.30 kat azalma olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.3). Hasta ve kontrol grubu arasında değişen ekspresyon seviyeleri istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p= 0.038$).



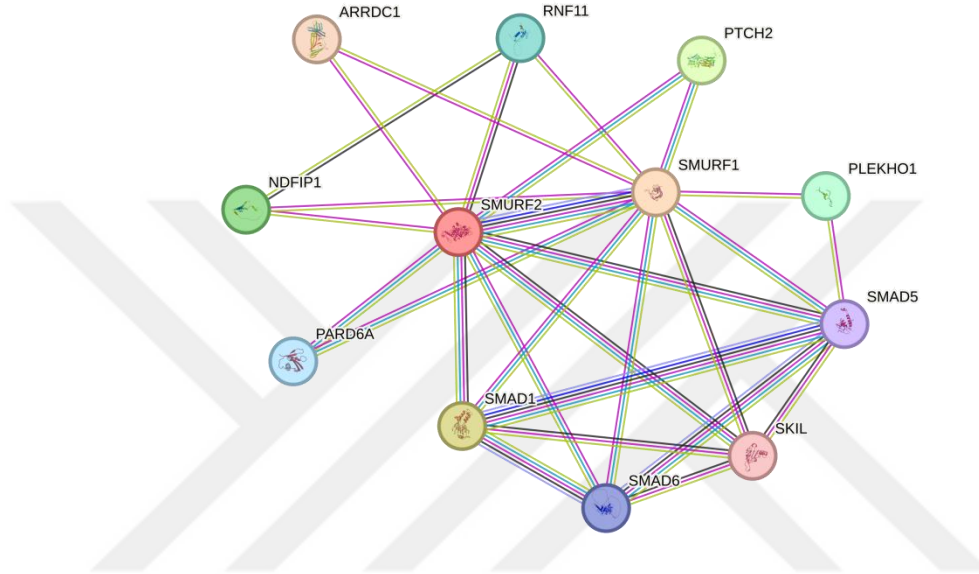
‘*’ ile gösterilen gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardır ($p < 0.05$).’

Şekil 4.3. Hasta ve kontrol grubu arasında miR-520d-5p için değişen ekspresyon seviyelerinin grafiksel gösterimi.

4.3. SMURF1 ve SMURF2 Genlerinin Etkileşimde Olduğu Genlerin Belirlenmesi, STRING ve KEGG Analizi Sonuçları

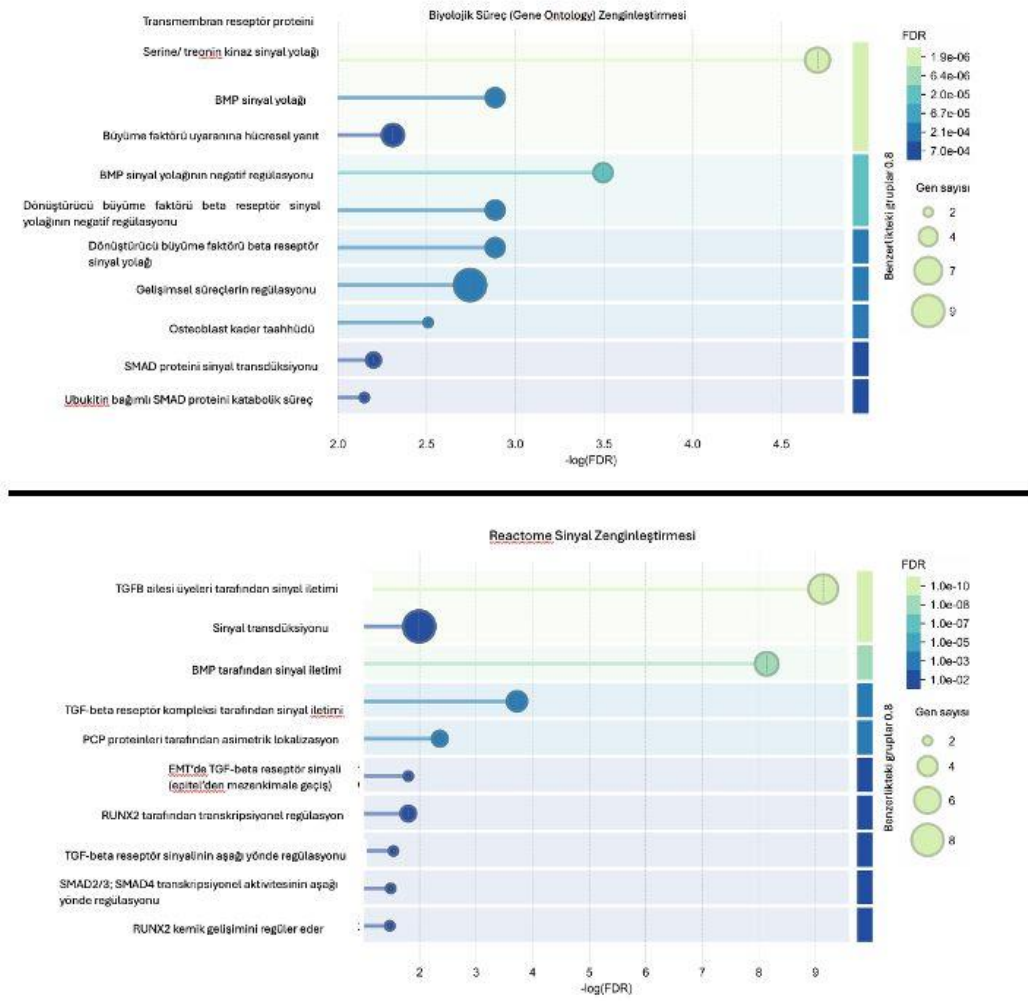
Protein-protein etkileşimleri (PPE'lar), hücrel metabolizmanın ilerlemesi ve düzenlenmesi ve hücreler arası sinyal iletimi gibi birçok biyolojik sürecin temel yapı taşlarını oluşturur. STRING veritabanı, deneysel veriler, hesaplamalı tahminler ve literatür madenciliği gibi farklı kaynaklardan gelen bilgileri birleştirerek proteinlerin işlevsel etkileşimlerini tahmin etmeyi amaçlamaktadır. Ayrıca STRING veri tabanı, tespit edilen etkileşim ağlarına bağlı hücrel süreçler ve sinyal yolları için işlevsel zenginleştirme analizi sunmaktadır (Szklarczyk vd., 2023). SMURF1 ve SMURF2 proteinlerinin etkileşim ağı ve gen ontoloji analizleri String veritabanı kullanılarak yapılmıştır. Protein-protein etkileşim ağına (Şekil 4.4) SMURF2 ve SMURF1'in SMAD1, SMAD5 ve SMAD6 gibi TGF- β sinyal yoluna ait önemli düzenleyici proteinlerle güçlü etkileşim içindedir. Ağda ayrıca SKIL, PARD6A, NDFIP1, ARDC1, PTCH2, RNF11 gibi SMURF proteinleriyle ilişkili çeşitli regülatör ve sinyal iletiminde görev alan proteinler de yer almaktadır. TGF- β sinyal yolunun negatif regülasyonuna

işaret etmektedir. Ayrıca, merkezde yer alan SMURF proteinleri, inflamatuvar sinyallerin sınırlandırılmasında ve immün homeostazın korunmasında potansiyel rol oynayabilecek düzenleyici proteinler olarak öne çıkmaktadır (Ebisawa vd., 2001; Szklarczyk vd., 2023). SMURF1 ve SMURF2 geninin etkileşimde olduğu proteinler STRING web tabanlı aracı kullanılarak literatüre uygun olarak belirlenmiştir (Szklarczyk vd., 2023). Sonuçlara göre SMURF1 ve SMURF2 geninin etkileşimde olduğu toplam 12 protein olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.5).



Şekil 4.4. STRING veritabanından elde edilen SMURF1 ve SMURF2 proteinlerine ait protein-protein etkileşim ağı

STRING veritabanı kullanılarak yapılan analizlerde, tonsil patogeneziyle bağlantılı olabilecek sinyal yolları, biyolojik süreçler ve seçilen proteinlerin hastalıklarla ilişkisi incelenmiştir. Biyolojik süreç analizlerinin sonuçları Şekil 4.5’de sunulmuştur. Bu analizlere göre, SMAD protein sinyal iletimi ve TGF- β reseptör sinyal yolunun pozitif düzenlenmesi tonsil dokusundaki immün yanıtların düzenlenmesinde TGF- β /SMAD ekseninin merkezi bir rol oynadığını ortaya koymaktadır. Ayrıca, (Şekil 4.5) da verilen Reactome yolak analizi sonuçlarında da tonsil ile ilişkili TGF- β protein ailesine ait sinyalizasyon ve BMP sinyali belirlenmiştir (Szklarczyk vd., 2025). Bu bulgularla rekürren Tonsillit patogenezinde TGF-beta sinyal yolağının etkisini desteklediği sonucuna varılmıştır.



Şekil 4.5. SMURF1 ve SMURF2 protein etkileşim ağının biyolojik süreç ve reactom yolak zenginleştirme analizi

miR-520d-5p miRNA'sının regüle ettiği sinyal yollarını DianamiRPath ile belirlenmiştir. Öne çıkan ilk 10 sinyal yolağı Tablo 4.5 de verilmiştir. TGFB-beta sinyal yolağı önemli ölçüde zenginleşen ilk sinyal yolağıydı ve miR-520d-5p'nin bu sinyal yolağında 16 geni hedeflediği gösterilmiştir (Şekil 4.6), (Tablo 4.5).

Tablo 4.5. miR-520d-5p için KEGG yolak zenginleştirme analizi sonuçları

#	KEGG Pathway (ID)	p-Değeri	Gen Sayısı
1	TGF-beta sinyal yolu (hsa04350)	1.48×10^{-12}	16
2	Wnt sinyal yolu (hsa04310)	3.16×10^{-12}	30
3	GnRH sinyal yolu (hsa04912)	2.40×10^{-11}	20
4	Kronik miyeloid lösemi (hsa05220)	9.31×10^{-9}	16
5	Uzun vadeli potansiyasyon (hsa04720)	8.81×10^{-7}	14
6	Endokrin ve diğer faktörlerle düzenlenen kalsiyum reabsorpsiyonu (hsa04961)	8.81×10^{-7}	10
7	MAPK sinyal yolu (hsa04010)	9.90×10^{-7}	35
8	Dorso-ventral eksen oluşumu (hsa04320)	7.41×10^{-6}	7
9	Gliom (hsa05214)	7.90×10^{-6}	13
10	Hepatit B (hsa05161)	9.35×10^{-6}	22

TGF-beta sinyal yolları, bağışıklık sisteminin dengesi, hücrelerin çoğalması ve farklılaşması gibi temel biyolojik süreçlerde önemli bir rol üstlenir; özellikle tonsil gibi lenfoid dokular bu iletişime oldukça hassastır (Garg vd., 2025). Protein etkileşim ağındaki SMURF2 ve SMAD5 proteini hedef genler arasında yer aldı. SMURF2, TGF-beta yolundaki etkin bileşenler arasında yer alan SMAD proteinlerini ubiquitin aracılığıyla parçalayıp negatif bir düzenleyici rol üstlenir. Bu çerçevede, miR-520d-5p'nin SMURF2'yi hedef alarak inhibe etmesi, TGF-beta sinyal yolunun etkinliğini artırabilir. Bu tür bir düzenleme, Tonsil dokusundaki bağışıklık tepkisinin dengelenmesi açısından önemlidir ve bağışıklık toleransının sağlanması veya iltihabi tepkilerin azaltılması gibi sonuçlar ortaya çıkarabilir. BMP sinyallemede rol oynayan bir R-SMAD olan SMAD5, TGF- β süper ailesinin etkilerini hücreye taşır. SMURF1 ve SMURF2, E3 ubiquitin ligazları olarak SMAD1/5 gibi proteinlerin parçalanmasını gerçekleştirir. Bu süreç boyunca inhibitör SMAD'lar (SMAD6/7), SMAD'larla etkileşimde bulunarak SMAD'ların ubiquitinlenmesini ve proteozomal yıkımını başlatmaktadır. Bu şekilde TGF- β ve BMP yolları olumsuz geri bildirimle kontrol altına alınmış olur. Tonsil dokusu, bağışıklık sistemiyle ilgili etkin bir lenfoid yapıdır. TGF- β /BMP yolları burada bağışıklık yanıtının regülasyonu ve iltihap kontrolü açısından kritik öneme sahiptir (Kavsak vd., 2000 ; Zhang vd., 2001).

5. TARTIŞMA

Tekrarlayan tonsil enfeksiyonları, çocuklarda sık rastlanan palatin tonsil rahatsızlıklarından biridir. Bu enfeksiyonların ortaya çıkışında bakteriler, virüsler ve enfeksiyöz olmayan inflamatuvar faktörler rol oynar. Çoğu hasta kendiliğinden iyileşse de, semptomların rahatsız edici olması nedeniyle sıklıkla antibiyotik tedavisi uygulanmaktadır (Ashworth vd., 2004). Enfeksiyon, antibiyotik tedavisini takiben kısa sürede tekrarlayabilir, bu da çoğu zaman yeni bir tedavi sürecini zorunlu kılar (Munck, Jørgensen ve Klug, 2018). Birçok hasta nispeten kısa süreli boğaz enfeksiyonları yaşarken, bazıları kronik veya tekrarlayan akut ataklar nedeniyle önemli ölçüde etkilenir. Bu durum, sık boğaz ağrısı, ateş nöbetleri, tekrarlayan apseler, iştah azalması, ağız kokusu, uyku kalitesinde düşüş, günlük işlevlerde zorlanma ve okul ya da işe devamsızlık gibi çeşitli sorunlara yol açar. Özellikle çocuklarda bu durum ebeveynler için de endişe vericidir. Antibiyotik kullanımının olası yan etkilerinden kaçınmak ve çocuklarda Tonsil iltihabıyla ilişkili olabilecek akut romatizmal ateş, Lemierre sendromu, böbrek yetmezliği ve parafarengeal abse gibi komplikasyonları önlemek amacıyla, çocuk eğer son 1 yıl içinde 7 kez, son 2 yılın her birinde 5'er kez veya son 3 yılın her birinde en az 3 kez tonsillit geçiriyorsa, tonsillektomi ameliyatı önerilmektedir. Çocuklarda tonsillektomi operasyonunun en sık nedeni tekrarlayan tonsillittir (Howel vd., 2002). Palatin tonsillerin tekrarlayan boğaz enfeksiyonlarına yol açmada önemli bir rol oynadığı düşünülmekle birlikte, bu durumun tek sorumlusu olmayabilirler. Bu nedenle, tonsillektomi operasyonu, ilerleyen dönemlerde ortaya çıkabilecek boğaz enfeksiyonlarını önleyebilir veya bu enfeksiyonların sıklığını ve şiddetini azaltabilir. Sonuç olarak, bu işlem hastaların günlük yaşam aktivitelerini ve yaşam kalitesini önemli ölçüde iyileştirebilir (Burton vd., 2014). Adenotonsiller hastalıklar, çocukların büyüme döneminde karşılaştığı en yaygın sorunlar arasındadır.

OSA, çocuklarda sıklıkla adenotonsiller hipertrofidan kaynaklanır. Küçük çocuklarda OSA'nın uzun vadeli etkileri arasında gelişimsel gecikme, yüz gelişiminde anormallikler, büyüme geriliği, nörolojik hasarlar ve kor pulmonale dahil olmak üzere kardiyopulmoner problemler bulunmaktadır (Leach vd., 1992). Tekrarlayan tonsillit, çocuklarda tonsillektomi operasyonunun en sık rastlanan nedenidir (Howel vd., 2002). Çocuklarda tekrarlayan tonsillit, boğaz ağrısı, kulak ağrısı, ateş, ağız kokusu, iştah kaybı

ve halsizlik gibi bir dizi probleme neden olabilir. Bu durum, çocukların sık sık sağlık kuruluşlarına başvurmasına ve antibiyotik kullanmasına yol açar. Kronik rahatsızlığı olan ve sık sık hastalanan çocuklar, okul çağında olduklarında okuldan sık sık uzak kalabilirler ve bu durum ebeveynlerde de huzursuzluğa neden olur (Howel vd., 2002).

Araştırmalar, tekrarlayan tonsillit nedeniyle ameliyat olan çocukların ve ailelerinin yaşam kalitesinin takipte arttığını ortaya koymaktadır (Senska vd., 2010). Bu hastalıkları tedavi ederken ilaçlar ve gözlem yardımcı olsa da, bazı hastalar ameliyatla tamamen iyileşebilir. Bu yüzden adenotonsillektomi, dünyada çocuklara en çok yapılan ameliyatlardan biridir. Ama bu kadar çok yapılması, bazı sorunları da ortaya çıkarabilir. Araştırmalar, bu ameliyatın sorun çıkarma ihtimalinin çocuğun yaşına, yüz ve kafa yapısındaki farklılıklara, genetik hastalıklara ve başka uzun süreli hastalıklarına göre değiştiğini göstermektedir (Allareddy vd., 2016). Adenotonsillektomi ameliyatı sonrası komplikasyonları en aza indirmek için, yeni rehberler, cerrahi endikasyonları tam karşılamayan durumlarda gözlemi zorunlu kılmaktadır (Mitchell vd., 2019). Bununla birlikte, gözlem sürecindeki çocuklarda tonsillektomi endikasyonu gelişebilmektedir. Gözlem periyodunda, terapötik açıdan kayda değer bir ilerleme gözlenmemektedir. Tonsillektomi için optimal yaş aralığı 3 yaş ve üzeri olarak belirtilmektedir. Üç yaşın altındaki pediatrik hastalarda postoperatif komplikasyonların insidansının artması, bu popülasyonda cerrahi riskin nispeten yüksek olmasına ya da küçük çocuklarda komplikasyonların daha ciddi seyretmesine atfedilebilir (Tom vd., 1992; Werle vd., 2003). 3 yaşından küçük çocuklara genellikle adenotonsillektomi yapılmasının sebebi, büyüme nedeniyle tıkanma sorunları yaşamalarıdır. Ama bu yaştaki çocuklarda tonsillektomi ameliyatı yapıldığında, kanama, susuz kalma ve nefes alamama gibi sorunların çıkma riski daha yüksektir (Werle vd., 2003).

Çalışmamızda tonsillektomi uygulanan olguların yaş ortalamaları incelendiğinde; rekürren tonsillit tanısıyla opere edilen hastalarda ortalama yaş 7.40, tonsil hipertrofisi nedeniyle cerrahi uygulanan hastalarda ise 7.11 olarak belirlenmiştir. Genel yaş ortalaması ise 7.25 olarak hesaplanmıştır. Literatürde yer alan benzer çalışmalarda bildirilen yaş ortalamaları ile elde ettiğimiz verilerin büyük ölçüde örtüştüğü görülmüştür (Šumilo vd., 2019). Üst solunum yolu tıkanıklığının küçük çocuklarda daha sık görülmesi, bu yaş grubundaki havayolu çapının daha dar olması ve farinks kesit alanına oranla tonsil ve adenoid dokuların görece daha büyük hacme sahip olmasıyla

ilişkilendirilebilir (Han vd., 2023). Çalışmamızda tonsil hipertrofisi nedeni ile opere edilen 35 hastanın 23'ü 2-7 yaş grubundaydı. Çalışmamızda tonsil hipertrofisi nedeniyle opere edilen hastaların yaş ortalamaları literatür ile uyumlu olarak rekürren tonsillit nedeniyle opere edilen hastaların yaş ortalamasından düşük tespit edilmiş olup, yaş farkı istatistiksel olarak anlamlı değildi. ($p=0.266$)

Literatürde 215 çocuk üzerinde yapılan ve obstrüktif semptomların değerlendirildiği bir çalışmada, erkek çocukların hasta grubunun %64'ünü oluşturduğu rapor edilmiştir (Côté vd., 2015). Benzer bulguların yer aldığı çeşitli literatür kaynaklarında da, erkek çocukların üst solunum yolu obstrüksiyonu nedeniyle tonsillektomi geçirme olasılığının daha yüksek olduğu bildirilmiştir. Bazı araştırmalar, bu farklılığın erkek ve kadın bireyler arasında hava yolu tıkanıklığı prevalansında görülen değişimle ilişkili olduğunu ve bu durumun ergenlik dönemindeki hormonal değişimlerle bağlantılı olabileceğini öne sürmektedir (Lumeng ve Chervin, 2008). Genel cinsiyet dağılımına bakıldığında ise çalışmamıza toplamda 39 erkek ve 31 kadın hasta dahil edildi. Rekürren tonsillit grubunda 18 kadın ve 17 erkek hasta, tonsil hipertrofisi grubunda 22 erkek ve 13 kadın hasta mevcuttu. Rekürren tonsillit ve hipertrofi grupları arasında erkek ve kadın hastaların dağılımları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık ise saptanmadı. ($p=0.229$) Cinsiyet dağılımı da literatür ile uyumlu olarak gözlemlendi (Doganer vd., 2015).

Tonsil hacmindeki artış, obstrüktif uyku apnesi sendromunun şiddetiyle ilişkili olabilmektedir. Klinik değerlendirmelerde sıklıkla kullanılan Brodsky sınıflandırma sistemi, birçok çalışmada tonsil hacmiyle anlamlı düzeyde korelasyon gösterdiği için tonsil hipertrofisinin derecelendirilmesinde güvenilir bir yöntem olarak kabul edilmektedir (Lu, Zhang ve Xiao, 2018; Reis vd., 2013). Tonsil büyüklüğü haricinde obezitenin de uykuda solunum problemlerine sebep olabileceği düşünüldüğünde çalışmamıza dahil edilen hastaların tamamı normal veya hafif kilolu olduğundan kilo faktörünün çalışmamız üzerine etkisinin olmadığını düşünmekteyiz. Bu bağlamda, bizim çalışmamızda Brodsky evrelemesine göre tonsil büyüklük evreleri değerlendirildiğinde; 35 hastadan oluşan rekürren tonsillit grubunda 26 hastanın sağ tonsil boyutu grade 2. 25 hastanın sol tonsil boyutu grade 2 olarak değerlendirilmiştir. Aynı şekilde rekürren tonsillit grubunda sağ tonsili grade 3 (7 hasta) ve grade 4 (2 hasta) olarak değerlendirilen toplam 9 hasta, sol tonsili grade 3 (9 hasta) ve grade 4 (1 hasta) olarak değerlendirilen

toplam 10 hasta olduğu gözlenmiştir. 35 hastanın dahil edildiği tonsil hipertrofisi grubunda ise sağ tonsile bakıldığında toplam 31 hastanın sağ tonsil boyutu grade 3 (17 hasta) ve grade 4 (14 hasta) olarak değerlendirilmiştir. Tonsil hipertrofisi grubunda sol tonsiller incelendiğinde ise toplam 32 hastada grade 3(15 hasta) ve grade 4 (17 hasta) tonsil izlenmiştir. Bu veriler özetlendiğinde tonsil hipertrofisi grubunda tonsil boyutları ağırlıklı olarak grade 3 ve grade 4 olarak izlenirken, rekürren tonsillit grubunun büyük oranda grade 2 tonsillerden oluştuğu izlendi. Rekürren tonsillit ve tonsil hipertrofisi grupları arasında oluşan bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu. ($p<0.001$) Bu gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olması literatürdeki çalışmalar ile uyumlu olarak değerlendirildi (Reis vd., 2013).

Üst solunum yolu enfeksiyonlarının gelişiminde etkili olan predispozan faktörlerden biri de üst solunum yolu alerjileridir. Gözlemlenen semptomlar yalnızca alerjik mekanizmalarla ilişkili olabileceği gibi, alerjiye bağlı mukozal ödem ve tıkanıklık sonucu sekonder olarak gelişen enfeksiyonlarla da ilişkili olabilir (Scadding, 1990).Bizim çalışmamızda hastalara alerji testleri yapılmamış olmasına rağmen, tüm hastalarda alerji öyküleri ayrıntılı olarak sorgulandı. Rekürren tonsillit grubundan 4 hastada, tonsil hipertrofisi grubundan ise 10 hastada; alerjik şikayetlenmelerin veya geçmiş dönemde bu şikayetlere yönelik burun spreyi ya da alerji şurubu kullanım öyküsünün olduğu saptandı. Gruplar birbirleri ile karşılaştırıldığında ise istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı. ($p=0.073$)

Tonsiller; B ve T lenfositleri, makrofajlar ve dendritik hücreler gibi bağışıklık hücrelerini barındırır ve bu hücreler aracılığıyla hem humoral hem de hücrel bağışıklık yanıtlarının başlatılmasında rol alır (Brandtzaeg, 2003). Tonsillerin yüzeyinde bulunan derin kriptalar, dış ortamdan gelen antijenleri yakalayıp immün hücrelerle temasını kolaylaştırır (Perry vd., 2025).Bu yapı sayesinde özellikle sekretuar IgA başta olmak üzere immünoglobulin üretimi desteklenir ve sistemik yanıttan önce lokal immünite aktive edilir (Brandtzaeg, 2003). Yaşla bağışıklık azalsa da, tonsiller çocuklukta enfeksiyonlara karşı etkindir. (Anderson ve Paterek, 2023). Bu nedenle tonsil dokusunda meydana gelen yapısal veya moleküler değişikliklerin, özellikle kronik inflamatuvar hastalıkların patogenezinde etkili olabileceği düşünülmektedir (Nave, Gebert ve Pabst, 2001). TGF- β , bağışıklık sisteminin homeostazını ve toleransını sağlayan kritik bir sitokindir (Li vd., 2006). TGF- β , özellikle CD4⁺ T hücreleri üzerinde etkili olarak, bu

hücrelerin proliferasyonunu ve aktivasyonunu inhibe eder (Li ve Flavell, 2008). Ayrıca, TGF- β , FOXP3 ekspresyonunu indükleyerek naif T hücrelerinin düzenleyici T hücrelerine (Treg) farklılaşmasını teşvik eder (Chen vd., 2003). Bu Treg hücreleri, otoimmün yanıtları baskılayarak immün toleransın sürdürülmesinde hayati bir rol oynar (Li ve Flavell, 2008). TGF- β sinyal yollarındaki bozulmalar, inflamatuvar hastalıkların gelişimine katkıda bulunabilir (Li vd., 2006). Ayrıca, TGF- β 'nın tonsillerde bulunan B hücrelerinin IgA sınıf geçişini indüklemesi, mukozal bağışıklığın korunmasında önemli bir faktör olarak değerlendirilmektedir (Brandtzaeg, 2003). TGF- β , immün sistemde anti-inflamatuvar etkiler gösteren temel bir sitokin olup, mukozal immün yanıtların dengelenmesinde önemli rol oynar (Larson vd., 2020). Tonsil dokusunda TGF- β 'nın ekspresyonu, özellikle düzenleyici T hücrelerinin (Treg) aktivasyonunda görev alarak lokal inflamasyonun kontrol altında tutulmasına katkı sağlar (Konkel ve Chen, 2011). Kronik tonsillitli bireylerde yapılan bazı çalışmalarda, TGF- β düzeylerinin tonsil dokusunda azaldığı ve bunun mukozal immün toleransın bozulmasına yol açtığı bildirilmiştir (Mikola vd., 2018). Buna ek olarak, TGF- β 'nın B hücrelerinde IgA sınıf geçişini uyararak, mukozal yüzeydeki antikor yanıtını desteklediği ve patojenlere karşı koruma sağladığı bilinmektedir (Brandtzaeg, 2003). Bu bulgular, TGF- β 'nın kronik tonsillit patogenezinde önemli bir immün düzenleyici olduğunu göstermektedir (Konkel ve Chen, 2011).

SMURF1 ve TGF- β sinyal yolu arasındaki ilişki, hücrelerel sinyal iletiminin düzenlenmesinde önemli bir rol oynar. SMURF1, HECT tipi bir E3 ubiquitin ligazıdır ve TGF- β sinyal yolunun negatif düzenleyicisi olarak işlev görür (Fu vd., 2020). TGF- β sinyali, hücre yüzeyindeki TGF- β tip I ve tip II reseptörlerinin aktivasyonu ile başlar. Bu aktivasyon, SMAD proteinlerinin fosforilasyonu ve nükleusa taşınmasıyla sonuçlanır, bu da hedef genlerin transkripsiyonunu düzenler. Ancak, bu sinyal yolunun aşırı aktivasyonu, fibrozis ve kanser gibi patolojik durumlara yol açabilir (Li vd., 2020). SMURF1, SMAD7 ile etkileşime girerek TGF- β tip I reseptörünü (T β RI) hedef alır ve ubiquitinasyon yoluyla proteazomal yıkımını sağlar. Bu mekanizma, TGF- β sinyalinin negatif geri besleme yoluyla düzenlenmesini sağlar. SMURF1'in bu işlevi, TGF- β sinyal yolunun aşırı aktivasyonunu önleyerek hücrelerel homeostazın korunmasına yardımcı olur (Ebisawa vd., 2001). Ayrıca, SMURF1'in SMAD1, SMAD4, SMAD5 ve SMAD7 gibi diğer SMAD proteinlerini de ubiquitinasyon yoluyla yıkıma uğrattığı gösterilmiştir. Bu, SMURF1'in TGF- β /BMP sinyal yollarının çeşitli düzeylerinde düzenleyici bir rol

oynadığını gösterir (Cao ve Zhang, 2013). SMURF1'in TGF- β sinyal yolunun negatif düzenleyicisi olarak önemli bir rol oynadığını ve bu etkileşimin hücrel sinyal iletiminin hassas bir şekilde kontrol edilmesinde kritik olduğunu göstermektedir (Ning vd., 2019). SMURF1, TGF- β sinyal yolunun negatif düzenleyicisi olarak işlev gören bir E3 ubiquitin ligazıdır. SMURF1, inhibitör SMAD7 ile etkileşime girerek TGF- β tip I reseptörünü (T β RI) hedef alır ve ubiquitinasyon yoluyla proteazomal yıkımını sağlar. Bu mekanizma, TGF- β sinyalinin negatif geri besleme yoluyla düzenlenmesini sağlar. 2020 yılında yayımlanan bir çalışmada, VprBP adlı bir protein, SMAD7 ve SMURF1 ile etkileşime girerek T β RI'nin yıkımını teşvik ettiği gösterilmiştir. Bu etkileşim, TGF- β /SMAD sinyal yolunun baskılanmasına ve hücrel yanıtların modülasyonuna katkıda bulunur. Ayrıca, VprBP'nin SMURF1'i stabilize ederek onun ubiquitinasyonunu engellediği ve böylece SMURF1'in T β RI yıkımındaki etkinliğini artırdığı belirlenmiştir. Bu bulgular, SMURF1'in TGF- β sinyal yolunun hassas bir şekilde düzenlenmesinde önemli bir rol oynadığını göstermektedir (Li vd., 2020). Bizim çalışmamızda da rekürren tonsillit ve tonsiller hipertrofi grupları karşılaştırıldığında, sık Tonsil enfeksiyonu şikayeti olan hastalardan oluşan rekürren Tonsillit grubunda SMURF1 geninin ekspresyon düzeyi, tonsiller hipertrofi grubuna kıyasla 2.57 kat yüksek saptanmıştır. Hasta ve kontrol grubu arasında SMURF1 geni açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmuştur ($p=0.032$).

SMURF2, HECT tipi bir E3 ubiquitin ligazıdır ve TGF- β sinyal yolunun negatif düzenleyicisi olarak işlev görür. SMURF2, inhibitör SMAD7 ile etkileşime girerek TGF- β tip I reseptörünü (T β RI) ve R-SMAD proteinlerini ubiquitinasyon yoluyla proteazomal yıkıma uğratar. Bu mekanizma, TGF- β sinyalinin negatif geri besleme yoluyla düzenlenmesini sağlar ve hücrel homeostazın korunmasına katkıda bulunur. Ayrıca, SMURF2'nin post-translasyonel modifikasyonları (örneğin, ubiquitinasyon, SUMOylasyon, fosforilasyon) onun E3 ligaz aktivitesini ve TGF- β sinyal yolundaki rolünü etkiler. Bu modifikasyonlar, SMURF2'nin hedef proteinleri tanıma ve ubiquitinasyon yeteneğini düzenleyerek, TGF- β sinyal yolunun hassas kontrolünü sağlar (Bai ve Ying, 2020). SMURF2'nin TGF- β sinyal yolundaki bu düzenleyici rolü, fibrozis, kanser ve bağ dokusu hastalıkları gibi çeşitli patolojik durumlarla ilişkilendirilmiştir. Bu nedenle, SMURF2'nin fonksiyonunun anlaşılması, bu hastalıkların tedavisinde yeni hedeflerin belirlenmesine yardımcı olabilir (He vd., 2017). TGF- β sinyallemesinin düzenlenmesine ek olarak SMURF2'nin diğer biyolojik işlevleri de bildirilmiştir. Ortaya

çıkan kanıtlar, SMURF2'nin genomik stabiliteye, hücre polaritesine, doku homeostazına ve tümör oluşumuna katkıda bulunduğunu göstermiştir (Koganti, Cohen ve Blank, 2018). SMURF2 hem tümör promotörü hem de baskılayıcı olarak etki eder. SMURF2'nin nakavt edilmesi farelerde tümör oluşumuna yol açar (Ramkumar vd., 2012). Giderek artan sayıda çalışma, SMURF2 aktivitesi ve ekspresyonunun ubiquitilasyon, fosforilasyon, metilasyon, dahil olmak üzere bir dizi translyasyon sonrası modifikasyon (PTM) tarafından düzenlendiğini göstermiştir (Xu, Liu ve Derynck, 2012). Ubiquitilasyon, hayvan organizmaları arasında oldukça korunmuştur ve protein stabilitesinin düzenlenmesi için temeldir. Bir E3 ligazı olarak SMURF2, TGF- β sinyallemesini zayıflatmak için T β RI'yi ve SMAD2/3'ü poliübikitinleştirebilir (Zhang vd., 2013). SMURF2 hedefleme düzenleyicilerinin ve shRNA'ların hücre büyümesi üzerindeki etkilerini incelendi ve SMURF2'nin kendi kendini yok eden otoubikitinasyonu yoluyla hedef alınabileceğini gösterdi (Manikoth Ayyathan vd., 2021). Benzer şekilde, SMURF2 ayrıca tümör nekroz faktörü reseptörüyle ilişkili faktör 4 (TRAF4), Tribbles homolog 3 (TRB3) (Hua vd., 2011) ve tetratrikopeptid tekrar alanı 3 (TTC3) (Kim vd., 2019) gibi diğer E3 ligazları yoluyla ubiquitilasyon yoluyla negatif düzenlemeye tabi tutulur. Yakın zamanda yapılan bir çalışma, SMURF2'nin hem substrat hem de TRAF4'ün SMURF2 C2 ve WW alanlarıyla etkileşimleri yoluyla doğrudan hedefi olduğunu ortaya koymuştur. HEK-293T hücrelerinde vahşi tip TRAF4'ün aşırı ekspresyonunun SMURF2'nin poliübikitinasyonunu önemli ölçüde artırdığı, TRAF4 delesyonunun ise SMURF2'yi stabilize ettiği, dolayısıyla TRAF4'ün SMURF2'nin poliübikitinasyonuna ve degradasyonuna katkıda bulunduğunu gözlemlendi (Zhang vd., 2013). SMURF2 bozunumuyla ilgili başka bir raporda, F-box ve LRR alanı içeren protein 15'in (FBXL15) SMURF2'yi hedef aldığı ve bunun ubiquitilasyonuna ve bozunmasına yol açtığı bulundu (Cui vd., 2011). Deubiquitinasyon enzimleri, ubiquitinasyon sürecinin tersine çevrilmesinde işlev görür. Örneğin, ubiquitin-spesifik proteaz 15 (USP15), SMURF2'yi doğrudan deubiquitinasyona uğratabilir ve böylece SMURF2 katalitik aktivitesinin kaybına neden olabilir (Iyengar vd., 2015). Giderek artan kanıtlar, SMURF2'nin ubiquitinasyonu ve degradasyonunun fibrozis ve kanser gibi bazı hastalıkların gelişimini desteklediğini göstermektedir. HepG2 hücrelerinde yapılan yakın tarihli bir çalışma, TRB3'ün SMURF2 ubiquitinasyonunun artırılması yoluyla kanser hücresi göçünü ve invazyonunu desteklediğini göstermiştir (Hua vd., 2011). Bağışıklık sistemi bağlamında, SMURF2'nin TGF- β sinyal yolunu düzenlemesi, inflamatuvar yanıtların kontrolü ve immün toleransın sağlanmasında kritik bir rol oynar. Örneğin, SMURF2'nin aşırı

ekspresyonu, TGF- β sinyalinin baskılanmasına ve dolayısıyla inflamatuvar yanıtların artmasına yol açabilir. Bu durum, otoimmün hastalıklar gibi bağışıklık sistemi bozukluklarının gelişimine katkıda bulunabilir (Bai ve Ying, 2020). Bizim çalışmamızda rekürren tonsillit ve tonsiller hipertofi grupları karşılaştırıldığında, sık Tonsil enfeksiyonu şikayeti olan hastalardan oluşan rekürren Tonsillit grubunda SMURF2 geninin ekspresyon düzeyi, tonsiller hipertofi grubuna kıyasla 1.27 kat yüksek saptanmıştır. Hasta ve kontrol grubu arasında SMURF2 geni ekspresyon seviyesi açısından bakıldığında ise istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır ($p=0.512$).

miRNA'lar, transkripsiyon sonrası düzeyde gen ifadesini düzenlemede önemli bir rol oynayan küçük, kodlamayan RNA molekülleridir. Son çalışmalar, hem doğuştan hem de adaptif bağışıklık tepkilerinde önemli rol oynadıklarını vurgulamıştır (Raisch, Michaud ve Nguyen, 2013). TGF-beta, bağışıklık toleransının indüklenmesi, inflamasyonun baskılanması ve fibrozisin düzenlenmesi gibi çok sayıda immünolojik ve hücresel süreçte kritik bir sitokindir (Nolte ve Margadant, 2020). SMURF proteinleri, TGF-beta reseptörlerinin ubiquitinlenmesinde ve dolayısıyla TGF-beta sinyalinin aşağı akış regülasyonunda anahtar rol oynayan E3 ubiquitin ligazlardır (Zhang vd., 2001). miR-520d-5p, literatürde çeşitli hücresel süreçlerde rol oynadığı bilinen bir mikroRNA'dır. Özellikle, inflamasyon, apoptoz ve hücre proliferasyonu gibi temel biyolojik mekanizmaları etkileyebileceği gösterilmiştir. Doğal bağışıklık hücrelerinde çok sayıda miRNA'nın ekspresyonunun arttığı, özellikle miR-155, miR-146 ve miR-21'in yaygın şekilde ifade edildiği pek çok çalışmayla gösterilmiştir. Bununla birlikte, TLR sinyalleme sonrasında bazı miRNA'ların düzeylerinde azalma olduğu da güçlü bulgularla ortaya konmuştur. miRNA'lar, bağışıklık yanıtının zamanlamasına göre erken veya geç yanıt veren moleküller olarak değerlendirilmektedir. Örneğin, miR-155 genellikle stimülasyonu takiben ilk birkaç saat içerisinde belirgin şekilde yükselirken; miR-21 gibi bazı miRNA'lar daha geç fazlarda ifade edilmektedir. Güncel literatürde, TLR'ye duyarlı miRNA'ların ekspresyon dinamiklerinin düzenlenmesi önemli bir araştırma alanı haline gelmiş olup, bu süreçte miRNA üretimini negatif yönde etkileyen sinyal mekanizmaları da tanımlanmaktadır (McCoy vd., 2010). miRNA'lar bağışıklık tepkisinin hayati düzenleyicileridir ve vücudun enfeksiyonlara karşı savunma mekanizmalarını etkilerler. Transkripsiyon sonrası seviyede mRNA'yı hedefleyerek hareket ederler ve böylece doğuştan gelen bağışıklık yollarındaki gen ifadesini kontrol

ederler. Bu sıkı düzenleme, konakçıya zararlı olabilecek aşırı iltihabı önlemek için gereklidir (Gareev vd., 2023).

miRNA'lar hücre gelişimi, farklılaşma ve homeostaz dahil olmak üzere çeşitli biyolojik süreçlerde, özellikle bağışıklık sistemi içinde karmaşık düzenleyici ağlar oluştururlar. Dinamik ifade kalıpları sergileme ve çok çeşitli genleri hedefleme yetenekleri, doğuştan gelen bağışıklık tepkisi dahil olmak üzere birçok süreci düzenlemelerine olanak tanır (Yao vd., 2025).

miRNA'lar çeşitli bağışıklık hücresi tiplerinin hayatta kalması ve işlevi için önemlidir. Hematopoietik progenitor hücrelerin lenfoid veya miyeloid soylara farklılaşmasını düzenlerler ve bu da bağışıklık hücresi gelişimi ve işlevinde önemli bir rol oynadığını gösterir. Örneğin, miR-29 ailesi T hücrelerinin, B hücrelerinin, doğal öldürücü hücrelerin ve makrofajların farklılaşmasında rol oynar (Yao vd., 2025). Birçok miRNA, çeşitli inflamatuvar ve enfeksiyöz hastalıklarda ya yukarı düzenlenir ya da aşağı düzenlenir. Virüslere, bakterilere ve mantarlara karşı konak savunma mekanizmalarını düzenlemede önemli bir rol oynarlar. Belirli miRNA'ların düzensizliği, otoimmünite, bağışıklık toleransı sorunları, hiperinflamatuvar fenotipler ve hatta kanser ilerlemesi gibi durumlara yol açabilir (Chandan, Gupta, ve Sarwat, 2020). miRNA'ların doğuştan gelen bağışıklık tepkilerini düzenleme yeteneği, bunların çeşitli inflamatuvar ve enfeksiyöz durumların teşhisi, önlenmesi ve tedavisi için yeni stratejiler olarak potansiyel taşıdığını düşündürmektedir (Chandan, Gupta, ve Sarwat, 2020).

miR-155, Bağışıklık sisteminin hem doğuştan gelen hem de adaptif kollarında kritik bir düzenleyici olarak tanımlanmıştır. miR-155, T ve B hücrelerinin aktivasyonu, diferansiyasyonu ve sitokin üretimi gibi süreçlerde rol oynar. Örneğin, miR-155 eksikliği olan farelerde antiviral antikor üretimi ve T helper hücre aktivasyonunda azalma gözlemlenmiştir (Alves vd., 2019). miR-146a/b, NF- κ B sinyal yolunun negatif düzenleyicileri olarak işlev görürler. Bu miRNA'lar, pro-inflamatuvar sitokinlerin üretimini azaltarak inflamasyonu kontrol altında tutarlar. Örneğin, insan gingival fibroblastlarında miR-146a ve miR-146b'nin NF- κ B sinyali aracılığıyla ekspresyonunun arttığı ve bu sayede inflamatuvar yanıtların düzenlendiği gösterilmiştir (Xie vd., 2014). miR-21, T hücrelerinin farklılaşmasında ve yaşlanma sürecinde önemli bir rol oynar. miR-21'in artan ekspresyonu, hafıza T hücrelerinin oluşumunu engelleyerek inflamatuvar

efektör T hücrelerinin gelişimini teşvik eder. Bu durum, yaşlı bireylerde aşı yanıtlarının zayıflamasına katkıda bulunabilir (Kim vd., 2018). miR-181a, T hücrelerinin duyarlılığını ve seçiciliğini artırarak adaptif bağışıklık yanıtlarını modüle eder. Ayrıca, NK hücrelerin gelişiminde ve yaşlanma sürecinde önemli rol oynar (Lu vd., 2021). miR-125b, Makrofaj aktivasyonunu ve inflamatuvar yanıtları düzenler. Ayrıca, düzenleyici T hücrelerinin (Treg) fonksiyonlarını modüle ederek tümör mikroçevresinde immün yanıtları etkiler (Jiang vd., 2022) miR-34a, T hücre aktivasyonu ve farklılaşmasında önemli bir düzenleyicidir. p53 aracılığıyla ekspresyonu kontrol edilir ve çeşitli bağışıklık hücrelerinde fonksiyonları etkiler (Taheri vd., 2020). miR-122, Karaciğerde yüksek oranda eksprese edilir ve antiviral bağışıklık yanıtlarında rol oynar. Hepatit C virüsü enfeksiyonunda interferon yanıtlarını modüle eder (Forster, Tate ve Hertzog, 2015). miR-29 ailesi T ve B hücrelerinin gelişimi ve fonksiyonunda rol oynar. Th1 hücre yanıtlarını baskılayarak otoimmün hastalıkların patogenezinde etkili olabilir (Mon vd., 2021).

Bizim çalışmamızda da miR-520d-5p miRNA'sının ekspresyon düzeyleri; rekürren tonsillit ve tonsil hipertrofisi gruplarındaki tonsil dokularında analiz edilip karşılaştırıldığında, hasta ve kontrol grupları arasında gözlenen ekspresyon farkı istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p=0.038$).

6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

6.1. Sonuçlar

Çalışmamızda, SMURF1, SMURF2 ve miR-520d-5p düzeylerinin TGF- β ile olan ilişkisinin inflamasyon ile yakından ilişkili olması dolayısıyla tonsil hipertrofisi ve kronik Tonsillit nedeniyle opere edilen hastalardan alınan tonsil dokuları incelenip; bu moleküllerin, gen ekspresyon düzeylerinin analizleri yapılarak kronik tonsillit gelişimi üzerine etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır. SMURF1, SMURF2 ve miR-520d-5p düzeylerinin tonsillit patogenezi ile olan etkisi literatürde ilk kez araştırılmıştır.

Çalışmamızda rekürren tonsillit ve tonsiller hipertrofi grupları karşılaştırıldığında, sık tonsil enfeksiyonu şikayeti olan hastalardan oluşan rekürren tonsillit grubunda SMURF1 geninin ekspresyon düzeyinin, tonsiller hipertrofi grubuna kıyasla 2.57 kat yüksek olduğu saptanmıştır. Aynı şekilde, çalışmamızda SMURF2 gen ekspresyon düzeyinin; sık tonsil enfeksiyonu şikayeti olan hastalardan oluşan rekürren tonsillit grubunda, tonsil hipertrofisi grubuna göre 1.27 kat yüksek saptanmış ama istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır. Bu sonuçlar TGF- β reseptör yolağının önemli bileşenlerinden olan SMURF1'in rekürren tonsillit patogenezi, inflamatuvar reseptör yollarına aracılık ettiğini göstermektedir.

Çalışmamızda, rekürren tonsillit grubunda, miR-520d-5p ekspresyon düzeylerinin tonsil hipertrofisi grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı şekilde 1.30 kat daha düşük olduğu tespit edilmiştir. miRNA'ların pro-inflamatuvar yanıtları negatif yönde düzenleme kapasitesi göz önüne alındığında, elde edilen bu bulgular, miR-520d-5p'nin azalan ekspresyonunun rekürren tonsillit patogeneziyle ilişkili olabileceğine işaret etmektedir.

SMURF1 ve SMURF2 ile etkileşimde olan genlerin belirlenmesi ve bu genlerin STRING ve yolak analizleri rekürren tonsillitte hedef olabilecek birçok hedef gen, biyolojik süreç ve sinyal yolağı belirlenmiştir. SMURF1 ve SMURF2'nin SMAD1, SMAD5 ve SMAD6 gibi TGF- β sinyal yoluna ait önemli düzenleyici proteinlerle güçlü etkileşim içinde olması tonsillit için hedef olabilecek genler olarak önerilmiştir.

Ekspresyon düzeyi araştırılan miR-520d-5p'nin analiz sonucu TGF- β sinyal yolağının tonsillit patogenezi için öne çıkan sinyal yolağı olduğu tespit edilmiştir.

Elde ettiğimiz veriler ışığında TGF- β sinyal yolağında etkili olan genlerden SMURF1 ve düzenleyicisi olan mir-520d-5p nin tonsillit patogeneziinde etkili olabileceği tespit edilmiştir. İn silico analizi sonucunda elde ettiğimiz verilere göre TGF- β sinyal yolağında olası farklı genlerin de (SKIL, PARD6A, NDFIP1, ARRDC1, PTCH2, RNF11) etkili olabileceği ve tonsillit patogeneziini aydınlatmak adına moleküler analizlerinin yapılmasının uygun olabileceği sonucuna ulaşılmıştır.

6.2. Öneriler

Bu çalışma, tonsil patolojilerine yönelik gelecekteki araştırmalar için önemli bir temel oluşturmaktadır. İlerleyen çalışmalarda, rekürren tonsillit ile ilişkisini ortaya koyduğumuz SMURF1'i hedefleyen diğeri miRNA'ların belirlenmesi, hastalığın moleküler etiyojisinin daha derinlemesine anlaşılmasına katkı sağlayabilir. Benzer şekilde, miR-520d-5p'nin farklı hedef genlerinin saptanması, bu miRNA'nın rekürren tonsillit üzerindeki etkilerini daha kapsamlı bir şekilde aydınlatılabilir. Ayrıca, TGF- β ' yı hedef alan diğeri miRNA'ların araştırılması ve rekürren tonsillit ile olası bağlantılarının değerlendirilmesi de önem arz etmektedir. Nihayetinde, bu genleri ve miRNA'ları düzenleyen moleküler mekanizmaların ve epigenetik regülasyon analizlerinin incelenmesi, potansiyel yeni biyobelirteçlerin keşfi açısından büyük önem taşıyacaktır.

KAYNAKLAR

- Abu Bakar M, McKimm J, Haque SZ, Majumder MAA ve Haque M. (2018). Chronic tonsillitis and biofilms: a brief overview of treatment modalities. *Journal of inflammation research*, 329-337. DOI.org/10.2147/JIR.S162486
- Acioglu E, Yigit Ö, Alkan Z, Server EA, Uzun H ve Gelisgen R. (2010). The role of matrix metalloproteinases in recurrent tonsillitis. *International journal of pediatric otorhinolaryngology*, 74(5), 535-539. DOI: 10.1016/j.ijporl.2010.02.016
- Adams NM ve Sun JC. (2018). Spatial and temporal coordination of antiviral responses by group 1 ILCs. *Immunological reviews*, 286(1), 23-36. DOI.org/10.1111/imr.12710
- Alasil SM, Omar R, Ismail S, Yusof MY, Dhabaan GN ve Abdulla MA. (2013). Evidence of bacterial biofilms among infected and hypertrophied tonsils in correlation with the microbiology, histopathology, and clinical symptoms of tonsillar diseases. *International journal of otolaryngology*, 2013(1), 408238. DOI.org/10.1155/2013/408238
- Allareddy V, Martinez-Schlurmann N, Rampa S, Nalliah RP, Lidsky KB. ... Rotta AT (2016). Predictors of complications of tonsillectomy with or without adenoidectomy in hospitalized children and adolescents in the United States, 2001-2010: a population-based study. *Clinical pediatrics*, 55(7), 593-602. DOI.org/10.1177/0009922815616885
- Anderson J, ve Paterek E. (2023). Tonsillitis. In StatPearls [Internet]. *StatPearls Publishing*. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/books/NBK544342/>
- Andreas N, Geißler K, Priese J, Guntinas-Lichius O ve Kamradt T. (2023). Age-related changes of the innate immune system of the palatine tonsil in a healthy cohort. *Frontiers in Immunology*, 14, 1183212. DOI.org/10.3389/fimmu.2023.1183212
- Asano Y, Ihn H, Yamane K, Kubo, M, ve Tamaki K. (2004). Impaired Smad7-Smurf-mediated negative regulation of TGF- β signaling in scleroderma fibroblasts. *The Journal of Clinical Investigation*, 113(2), 253-264. DOI.org/10.1172/JCI16269
- Ashworth M, Cox K, Latinovic R, Charlton J, Gulliford M ve Rowlands G (2004). Why has antibiotic prescribing for respiratory illness declined in primary care? A longitudinal study using the General Practice Research Database. *Journal of Public Health*, 26(3), 268-274. DOI.org/10.1093/pubmed/fdh160
- Aydogan M, Toprak D, Hatun Ş, Yüksel A ve Gokalp, A. S. (2007). The effect of recurrent tonsillitis and adenotonsillectomy on growth in childhood. *International journal of pediatric otorhinolaryngology*, 71(11), 1737-1742. DOI.org/10.1016/j.ijporl.2007.07.012

- Bach DH, Park HJ ve Lee SK. (2018). The dual role of bone morphogenetic proteins in cancer. *Molecular Therapy-Oncolytics*, 8, 1-13. DOI.org/10.1016/j.omto.2017.10.002
- Bager P, Corn G, Wohlfahrt J, Boyd HA, Feenstra, B ve Melbye M. (2018). Familial aggregation of tonsillectomy in early childhood and adolescence. *Clinical Epidemiology*, 97-105. DOI.org/10.2147/CLEP.S148575
- Bai Y ve Ying Y. (2020). The post-translational modifications of Smurf2 in TGF- β signaling. *Frontiers in molecular biosciences*, 7, 128. DOI.org/10.3389/fmolb.2020.00128
- Bartel DP. (2018). Metazoan micrnas. *Cell*, 173(1), 20-51. DOI: 10.1016/j.cell.2018.03.006
- Berger A, Meinel DM, Schaffer A, Ziegler R, Pitteroff J, Konrad,R ve Sing A. (2016). *A case of pharyngeal diphtheria in Germany*, June 2015. *Infection*, 44, 673-675. DOI.org/10.1007/s15010-016-0882-2
- Bernatik O, Paclikova P, Sri Ganji R, ve Bryja V. (2020). Activity of Smurf2 ubiquitin ligase is regulated by the Wnt pathway protein dishevelled. *Cells*, 9(5), 1147. DOI.org/10.3390/cells9051147
- Bickel M. (1993). The role of interleukin-8 in inflammation and mechanisms of regulation. *Journal of periodontology*, 64(5 Suppl), 456-460. PMID: 8315568
- Bofill-De Ros X ve Vang Ørom UA. (2024). Recent progress in miRNA biogenesis and decay. *RNA biology*, 21(1), 36-43. DOI: 10.1080/15476286.2023.2288741
- Borroni AP, Emanuelli A, Shah PA, Ilić N, Apel-Sarid L, Paolini B. ... Blank M. (2018). Smurf2 regulates stability and the autophagic-lysosomal turnover of lamin A and its disease-associated form progerin. *Aging cell*, 17(2), e12732. DOI: 10.1111/accel.12732
- Boyaka PN, Wright PF, Marinaro M, Kiyono H, Johnson JE, Gonzales RA. ... McGhee JR. (2000). Human nasopharyngeal-associated lymphoreticular tissues: functional analysis of subepithelial and intraepithelial B and T cells from adenoids and tonsils. *The American journal of pathology*, 157(6), 2023-2035. DOI.org/10.1111/accel.12732
- Brandtzaeg P. (2003). Role of secretory antibodies in the defence against infections. *International Journal of Medical Microbiology*, 293(Suppl. 37), 3-15. DOI: 10.1078/1438-4221-00241
- Bromberg Y ve Rost B. (2008). Comprehensive in silico mutagenesis highlights functionally important residues in proteins. *Bioinformatics*, 24(16), i207-i212. DOI: 10.1093/bioinformatics/btn268

- Buhagiar AF ve Kleaveland B. (2024). To kill a microRNA: emerging concepts in target-directed microRNA degradation. *Nucleic Acids Research*, 52(4), 1558-1574. DOI: 10.1093/nar/gkae003
- Burton MJ, Glasziou PP, Chong LY ve Venekamp RP. (2014). Tonsillectomy or adenotonsillectomy versus non-surgical treatment for chronic/recurrent acute tonsillitis. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, (11). DOI.org/10.1002/14651858.CD001802.pub3
- Caja L, Dituri F, Mancarella S, Caballero-Diaz D, Moustakas A, Giannelli G ve Fabregat I. (2018). TGF- β and the Tissue Microenvironment: Relevance in Fibrosis and Cancer. *International journal of molecular sciences*, 19(5), 1294. DOI.org/10.3390/ijms19051294
- Cao Y ve Zhang L. (2013). A Smurf1 tale: function and regulation of an ubiquitin ligase in multiple cellular networks. *Cellular and molecular life sciences*, 70, 2305-2317. DOI.org/10.1007/s00018-012-1170-7
- Cartmell T, Luheshi GN ve Rothwell NJ. (1999). Brain sites of action of endogenous interleukin-1 in the febrile response to localized inflammation in the rat. *The Journal of Physiology*, 518(2), 585-594. DOI.org/10.1111/j.1469-7793.1999.0585p.x
- Chandan K, Gupta M ve Sarwat M. (2020). Role of host and pathogen-derived microRNAs in immune regulation during infectious and inflammatory diseases. *Frontiers in immunology*, 10, 3081. DOI.org/10.3389/fimmu.2019.03081
- Chen W, Jin W, Hardegen N, Lei KJ, Li L, Marinos N. ... Wahl SM. (2003). Conversion of peripheral CD4⁺CD25⁻ naive T cells to CD4⁺CD25⁺ regulatory T cells by TGF- β induction of transcription factor Foxp3. *The Journal of Experimental Medicine*, 198(12), 1875-1886. DOI.org/10.1084/jem.20030152
- Corr SC, Gahan CC ve Hill C. (2008). M-cells: origin, morphology and role in mucosal immunity and microbial pathogenesis. *FEMS Immunology & Medical Microbiology*, 52(1), 2-12. DOI.org/10.1111/j.1574-695X.2007.00359.x
- Côté V, Ruiz AG, Perkins J, Sillau S, ve Friedman NR. (2015). Characteristics of children under 2 years of age undergoing tonsillectomy for upper airway obstruction. *International journal of pediatric otorhinolaryngology*, 79(6), 903-908. DOI.org/10.1016/j.ijporl.2015.04.003
- Croy BA, Ashkar AA, Foster RA, DiSanto JP, Magram J, Carson D. ... Guimond MJ. (1997). Histological studies of gene-ablated mice support important functional roles for natural killer cells in the uterus during pregnancy. *Journal of reproductive immunology*, 35(2), 111-133. DOI.org/10.1016/S0165-0378(97)00054-5

- Cui Y, He S, Xing C, Lu K, Wang J, Xing G. ... Zhang L. (2011). SCFFBXL15 regulates BMP signalling by directing the degradation of HECT-type ubiquitin ligase Smurf1. *The EMBO journal*, 30(13), 2675-2689. DOI.org/10.1038/emboj.2011.155
- Dewald O, Zymek P, Winkelmann K, Koerting A, Ren G, Abou-Khamis T. ... Frangogiannis NG. (2005). CCL2/Monocyte Chemoattractant Protein-1 regulates inflammatory responses critical to healing myocardial infarcts. *Circulation research*, 96(8), 881-889. DOI.org/10.1161/01.RES.0000163017.13772.3a
- Dhamoon MS, Cheung YK, Moon YP, Wright CB, Willey JZ, Sacco RL. ve Elkind MS. (2017). Association between serum tumor necrosis factor receptor 1 and trajectories of functional status: the Northern Manhattan study. *American journal of epidemiology*, 186(1), 11-20. DOI.org/10.1093/aje/kwx035
- Doganer YC, Rohrer JE, Aydogan U, Thurston MJ ve Saglam K. (2015). Tonsillectomy, adenoidectomy and adenotonsillectomy rates in school-aged children: relative contributions of socio-demographic and clinical features. *International Journal of Pediatric Otorhinolaryngology*, 79(7), 969-974. DOI.org/10.1016/j.ijporl.2015.03.005
- Donnadieu E, Reisinger KB, Scharf S, Michel Y, Bein J, Hansen S. ... Hansmann ML. (2020). Landscape of T follicular helper cell dynamics in human germinal centers. *The Journal of Immunology*, 205(5), 1248-1255. DOI.org/10.4049/jimmunol.1901475
- Dragan AI, Pavlovic R, McGivney JB, Casas-Finet JR, Bishop ES, Strouse RJ. (2012). SYBR Green I: fluorescence properties and interaction with DNA. *Journal of fluorescence*, 22(4), 1189-1199. DOI: 10.1007/s10895-012-1059-8
- Ebisawa T, Fukuchi M, Murakami G, Chiba T, Tanaka K, Imamura T ve Miyazono K. (2001). Smurf1 interacts with transforming growth factor- β type I receptor through Smad7 and induces receptor degradation. *Journal of Biological Chemistry*, 276(16), 12477-12480. DOI.org/10.1074/jbc.C100008200
- Forster SC, Tate MD ve Hertzog PJ. (2015). MicroRNA as type I interferon-regulated transcripts and modulators of the innate immune response. *Frontiers in immunology*, 6, 334. DOI.org/10.3389/fimmu.2015.00334
- Fossum CC, Chintakuntlawar AV, Price DL ve Garcia JJ. (2017). Characterization of the oropharynx: anatomy, histology, immunology, squamous cell carcinoma and surgical resection. *Histopathology*, 70(7), 1021-1029. DOI.org/10.1111/his.13140
- Franco LH, Nair VR, Scharn CR, Xavier RJ, Torrealba JR, Shiloh MU ve Levine B. (2017). The ubiquitin ligase Smurf1 functions in selective autophagy of Mycobacterium tuberculosis and anti-tuberculous host defense. *Cell host & microbe*, 21(1), 59-72. DOI.org/10.1016/j.chom.2016.11.002

- Fu L, Cui CP, Zhang X ve Zhang L. (2020, December). The functions and regulation of Smurfs in cancers. *In Seminars in cancer biology* (Vol. 67, pp. 102-116). Academic Press. DOI.org/10.1016/j.semcancer.2019.12.023
- Fukunaga E, Inoue Y, Komiya S, Horiguchi K, Goto K, Saitoh M. ... Imamura T. (2008). Smurf2 induces ubiquitin-dependent degradation of Smurf1 to prevent migration of breast cancer cells. *Journal of Biological Chemistry*, 283(51), 35660-35667. DOI: 10.1074/jbc.M710496200”
- Gareev I, Ramirez MDJE, Goncharov E, Ivliev D, Shumadalova A, Ilyasova T ve Wang C. (2023). MiRNAs and lncRNAs in the regulation of innate immune signaling. *Non-coding RNA Research*, 8(4), 534-541. DOI.org/10.1016/j.ncrna.2023.07.002
- Garg P, Pareek S, Kulkarni P, Horne D, Salgia R ve Singhal SS. (2024). Exploring the potential of tgff β As A diagnostic marker and therapeutic target against cancer. *Biochemical Pharmacology*, 116646. DOI.org/10.1016/j.bcp.2024.116646
- Geiger T, Andus T, Klapproth J, Hirano T, Kishimoto T ve Heinrich P. C. (1988). Induction of rat acute-phase proteins by interleukin 6 in vivo. *European journal of immunology*, 18(5), 717-721. DOI.org/10.1002/eji.1830180510
- Georgalas CC, Tolley NS ve Narula A. (2014). Tonsillitis. *BMJ clinical evidence*, 2014. <http://clinicalevidence.bmj.com/x/systematic-review/0503/overview>
- Goncalves-Alves E, Saferding V, Schliehe C, Benson R, Kurowska-Stolarska M, Brunner JS. ... Blüml S. (2019). MicroRNA-155 controls T helper cell activation during viral infection. *Frontiers in Immunology*, 10, 1367. DOI.org/10.3389/fimmu.2019.01367
- González-Andrade B, Santos-Lartigue R, Flores-Treviño S, Ramirez-Ochoa NS, Bocanegra-Ibarias P, Huerta-Torres FJ. ... Garza-González E. (2017). The carriage of interleukin-1B-31* C allele plus *Staphylococcus aureus* and *Haemophilus influenzae* increases the risk of recurrent tonsillitis in a Mexican population. *PLoS One*, 12(5), e0178115. DOI.org/10.1371/journal.pone.0178115
- Gonzalo-Gil E ve Galindo-Izquierdo M. (2014). Role of transforming growth factor-beta (TGF) beta in the physiopathology of rheumatoid arthritis. *Reumatología Clínica* (English Edition), 10(3), 174-179. DOI.org/10.1016/j.reumae.2014.01.006
- Green MR ve Sambrook J (2018). Analysis and Normalization of Real-Time Polymerase Chain Reaction (PCR) Experimental Data. *Cold Spring Harbor Protocols*, 2018(10), 769–777. DOI: 10.1101/PDB.TOP095000
- Grönroos E, Hellman U, Heldin CH ve Ericsson J. (2002). Control of Smad7 stability by competition between acetylation and ubiquitination. *Molecular cell*, 10(3), 483-493. DOI: 10.1016/s1097-2765(02)00639-1

- Guo X ve Wang XF. (2009). Signaling cross-talk between TGF- β /BMP and other pathways. *Cell research*, 19(1), 71-88. DOI: 10.1038/cr.2008.302
- Gysin C. (2013). Indications of pediatric tonsillectomy. *ORL*, 75(3), 193-202. DOI.org/10.1159/000342329
- Haapasalo K, Vuopio J, Syrjänen J, Suvilehto J, Massinen S, Karppe M. ... Jokiranta TS. (2012). Acquisition of complement factor H is important for pathogenesis of *Streptococcus pyogenes* infections: evidence from bacterial in vitro survival and human genetic association. *The Journal of Immunology*, 188(1), 426-435. DOI.org/10.4049/jimmunol.1102545
- Hagel JP, Bennett K, Buffa F, Klenerman P, Willberg CB ve Powell K. (2021). Defining T cell subsets in human tonsils using ChipCytometry. *The Journal of Immunology*, 206(12), 3073-3082. DOI.org/10.4049/jimmunol.2100063
- Han CJ, Bergman M, Harley RJ ve Harley EH. (2023). The pediatric indications for tonsillectomy and adenotonsillectomy: Race/ethnicity, age, and gender. *Laryngoscope Investigative Otolaryngology*, 8(2), 577-583. DOI.org/10.1002/lio2.1017
- Harrison DG, Guzik TJ, Lob HE, Madhur MS, Marvar PJ, Thabet SR. ... Weyand C. M. (2011). Inflammation, immunity, and hypertension. *Hypertension*, 57(2), 132-140. DOI.org/10.1161/HYPERTENSIONAHA.110.163576
- He S, Cao Y, Xie P, Dong G ve Zhang L. (2017). The Nedd8 non-covalent binding region in the Smurf HECT domain is critical to its ubiquitin ligase function. *Scientific Reports*, 7(1), 41364. DOI 10.1038/srep41364
- Herzon FS. (1995). Peritonsillar abscess: incidence, current management practices, and a proposal for treatment guidelines. *The Laryngoscope*, 105(S3), 1-17. DOI.org/10.1288/00005537-199508002-00001
- Hibio N, Hino K, Shimizu E, Nagata Y ve Ui-Tei K. (2012). Stability of miRNA 5' terminal and seed regions is correlated with experimentally observed miRNA-mediated silencing efficacy. *Scientific reports*, 2(1), 996. DOI.org/10.1038/srep00996
- Howel D, Webster S, Hayes J, Barton A ve Donaldson L. (2002). The impact of recurrent throat infection on children and their families. *Family practice*, 19(3), 242-246. DOI.org/10.1093/fampra/19.3.242
- Hua F, Mu R, Liu J, Xue J, Wang Z, Lin H. ... Hu Z. (2011). TRB3 interacts with SMAD3 promoting tumor cell migration and invasion. *Journal of cell science*, 124(19), 3235-3246. DOI.org/10.1242/jcs.082875

- Humphreys DT, Westman BJ, Martin DI ve Preiss T. (2005). MicroRNAs control translation initiation by inhibiting eukaryotic initiation factor 4E/cap and poly (A) tail function. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 102(47), 16961-16966. DOI: 10.1073/pnas.0506482102
- Hynes C ve Kakumani PK. (2024). Regulatory role of RNA-binding proteins in microRNA biogenesis. *Frontiers in Molecular Biosciences*, 11, 1374843. DOI: 10.3389/fmolb.2024.1374843
- Imamura T, Oshima Y ve Hikita A. (2013). Regulation of TGF- β family signalling by ubiquitination and deubiquitination. *The journal of biochemistry*, 154(6), 481-489. DOI.org/10.1093/jb/mvt097
- Ishihara Y, Miura Y, Miura N ve Miura K. (2019). A novel anti-cancer effect of atelocollagen-conjugated miR-520d-5p on pancreatic cancer cells in vitro and in a mouse xenograft model. *Integrative Molecular Medicine* DOI 10.15761/IMM.1000364
- Iyengar PV, Jaynes P, Rodon L, Lama D, Law KP, Lim YP. ... Eichhorn, P. J. A. (2015). USP15 regulates SMURF2 kinetics through C-lobe mediated deubiquitination. *Scientific reports*, 5(1), 14733. DOI.org/10.1038/srep14733
- Jadia S, Chauhan AN, Hazari RS, Maurya AK ve Biswas R. (2010). An unusual cause of recurrent tonsillitis. *Case Reports*, 2010, bcr1220092561. DOI.org/10.1136/bcr.12.2009.2561
- Jegatheeswaran S, Mathews JA ve Crome SQ. (2021). Searching for the elusive regulatory innate lymphoid cell. *The Journal of Immunology*, 207(8), 1949-1957. DOI.org/10.4049/jimmunol.2100661
- Jiang M, Yang Y, Niu L, Li P, Chen Y, Liao P. ... Chen, X. (2022). MiR-125b-5p modulates the function of regulatory T cells in tumor microenvironment by targeting TNFR2. *Journal for Immunotherapy of Cancer*, 10(11), e005241. DOI: 10.1136/jitc-2022-005241
- Jiao J, Wang Y, Sun X ve Jiang X. (2018). Midazolam induces A549 cell apoptosis in vitro via the miR-520d-5p/STAT3 pathway. *International Journal of Clinical and Experimental Pathology*, 11(3), 1365. <http://ijcep.com/ISSN:1936-2625/IJCEP0072430>
- Jiao Y, Huntington ND, Belz GT ve Seillet C. (2016). Type 1 innate lymphoid cell biology: lessons learnt from natural killer cells. *Frontiers in immunology*, 7, 426. DOI.org/10.3389/fimmu.2016.00426
- Kaneki H, Guo R, Chen D, Yao Z, Schwarz EM, Zhang YE. ... Xing L. (2006). Tumor necrosis factor promotes Runx2 degradation through up-regulation of Smurf1 and Smurf2 in osteoblasts. *Journal of Biological Chemistry*, 281(7), 4326-4333. DOI.org/10.1074/jbc.M509430200

- Kavsak P, Rasmussen RK, Causing CG, Bonni S, Zhu H, Thomsen GH ve Wrana JL. (2000). Smad7 binds to Smurf2 to form an E3 ubiquitin ligase that targets the TGF β receptor for degradation. *Molecular cell*, 6(6), 1365-1375. DOI: 10.1016/S1097-2765(00)00134-9
- Kim C, Hu B, Jadhav RR, Jin J, Zhang H, Cavanagh MM. ... Goronzy JJ. (2018). Activation of miR-21-regulated pathways in immune aging selects against signatures characteristic of memory T cells. *Cell reports*, 25(8), 2148-2162. DOI: 10.1016/j.celrep.2018.10.074
- Kim JH, Ham S, Lee Y, Suh GY ve Lee YS. (2019). TTC3 contributes to TGF- β 1-induced epithelial–mesenchymal transition and myofibroblast differentiation, potentially through SMURF2 ubiquitylation and degradation. *Cell Death ve Disease*, 10(2), 92. DOI.org/10.1038/s41419-019-1308-8
- Kim ME ve Lee JS. (2025). Advances in the Regulation of Inflammatory Mediators in Nitric Oxide Synthase: Implications for Disease Modulation and Therapeutic Approaches. *International Journal of Molecular Sciences*, 26(3), 1204. DOI.org/10.3390/ijms26031204
- Koganti P, Levy-Cohen G ve Blank M. (2018). Smurfs in protein homeostasis, signaling, and cancer. *Frontiers in oncology*, 8, 295. PMID: 30116722
- Konkel JE ve Chen W. (2011). Balancing acts: the role of TGF- β in the mucosal immune system. *Trends in molecular medicine*, 17(11), 668-676. DOI: 10.1016/j.molmed.2011.07.002
- Korkmaz Aġaoġlu Ö ve Sidekli Ö (2020). Kantitatif RT-PCR (RT-qPCR) Çalışmalarında Uygun Housekeeping Genlerin (HKGs) Seçimi ve Validasyonu. *Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 17(1), 76-83. DOI: 10.32707/ercivet.655015 DOI.org/10.32707/ercivet.655015
- Kuper CF, Koornstra PJ, Hameleers DM, Biewenga J, Spit BJ, Duijvestijn AM. ... Sminia T. (1992). The role of nasopharyngeal lymphoid tissue. *Immunology today*, 13(6), 219-224. DOI: 10.1016/0167-5699(92)90158-4
- Kurisaki A, Kose S, Yoneda Y, Heldin CH, ve Moustakas A. (2001). Transforming growth factor- β induces nuclear import of Smad3 in an importin- β 1 and Ran-dependent manner. *Molecular biology of the cell*, 12(4), 1079-1091. DOI.org/10.1091/mbc.12.4.1079
- Kwon A, Lee HL, Woo KM, Ryoo HM ve Baek JH. (2013). SMURF1 plays a role in EGF-induced breast cancer cell migration and invasion. *Molecules and cells*, 36(6), 548-555. DOI.org/10.1007/s10059-013-0233-4
- Larson C, Oronsky B, Carter CA, Oronsky A, Knox SJ, Sher D ve Reid TR. (2020). TGF-beta: a master immune regulator. *Expert opinion on therapeutic targets*, 24(5), 427-438. DOI.org/10.1080/14728222.2020.1744568

- Leach J, Olson J, Hermann J ve Manning S. (1992). Polysomnographic and clinical findings in children with obstructive sleep apnea. *Archives of Otolaryngology–Head & Neck Surgery*, 118(7), 741-744. DOI: 10.1001/archotol.1992.01880070071013
- Lee IS ve Van Dyken SJ. (2023). Both Horatio and Polonius: Innate Lymphoid Cells in Tissue Homeostasis and Repair. *ImmunoHorizons*, 7(11), 729-736. DOI.org/10.4049/immunohorizons.2300053
- Lee RC, Feinbaum RL ve Ambros V. (1993). The *C. elegans* heterochronic gene *lin-4* encodes small RNAs with antisense complementarity to *lin-14*. *Cell*, 75(5), 843-854. DOI: 10.1016/0092-8674(93)90529-Y
- Li MO ve Flavell RA. (2008). TGF- β : a master of all T cell trades. *Cell*, 134(3), 392-404. DOI: 10.1016/j.cell.2008.07.025
- Li MO, Wan YY, Sanjabi S, Robertson AK ve Flavell R. A. (2006). Transforming growth factor- β regulation of immune responses. *Annual Review of Immunology*, 24, 99-146. DOI.org/10.1146/annurev.immunol.24.021605.090737
- Li Y, Cui C, Xie F, Kiełbasa S, Mei H, van Dinther M. ... Ten Dijke P. (2020). VprBP mitigates TGF- β and Activin signaling by promoting Smurf1-mediated type I receptor degradation. *Journal of Molecular Cell Biology*, 12(2), 138-151. DOI.org/10.1093/jmcb/mjz057
- Liadaki K, Petinaki E, Skoulakis C, Tsirevelou P, Klapsa D, Germenis AE ve Speletas M. (2011). Toll-like receptor 4 gene (TLR4), but not TLR2, polymorphisms modify the risk of tonsillar disease due to *Streptococcus pyogenes* and *Haemophilus influenzae*. *Clinical and Vaccine Immunology*, 18(2), 217-222. DOI.org/10.1128/CVI.00460-10
- Lin X, Liang M ve Feng XH. (2000). Smurf2 is a ubiquitin E3 ligase mediating proteasome-dependent degradation of Smad2 in transforming growth factor- β signaling* 210. *Journal of Biological Chemistry*, 275(47), 36818-36822. DOI: 10.1074/jbc.C000580200
- Liu B, Li J ve Cairns MJ. (2014). Identifying miRNAs, targets and functions. *Briefings in bioinformatics*, 15(1), 1-19. DOI.org/10.1093/bib/bbs075
- Liu IM, Schilling SH, Knouse KA, Choy L, Derynck R ve Wang XF. (2009). TGF β -stimulated Smad1/5 phosphorylation requires the ALK5 L45 loop and mediates the pro-migratory TGF β switch. *The EMBO journal*, 28(2), 88-98. DOI.org/10.1038/emboj.2008.266
- Loh YHE, Yi SV ve Strelman JT. (2011). Evolution of microRNAs and the diversification of species. *Genome biology and evolution*, 3, 55-65. DOI.org/10.1093/gbe/evq085
- Londin E, Loher P, Telonis AG, Quann K, Clark P, Jing Y. ... Rigoutsos I. (2015). Analysis of 13 cell types reveals evidence for the expression of numerous novel primate-and tissue-

specific microRNAs. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 112(10), E1106-E1115. DOI.org/10.1073/pnas.1420955112

López-Casillas F, Wrana JL ve Massagué J. (1993). Betaglycan presents ligand to the TGF β signaling receptor. *Cell*, 73(7), 1435-1444. DOI: 10.1016/0092-8674(93)90368-Z

Lu J, Li S, Li X, Zhao W, Duan X, Gu X. ... Fang M. (2021). Declined miR-181a-5p expression is associated with impaired natural killer cell development and function with aging. *Aging Cell*, 20(5), e13353. DOI.org/10.1111/ace1.13353

Lu J, Zhou Z, Sun B, Han B, Fu Q, Han Y. ... Chen A. (2020). MiR-520d-5p modulates chondrogenesis and chondrocyte metabolism through targeting HDAC1. *Aging (Albany NY)*, 12(18), 18545. DOI: 10.18632/aging.103831

Lu K, Li P, Zhang M, Xing G, Li X, Zhou W. ... He F. (2011). Pivotal Role of the C2 Domain of the Smurf1 Ubiquitin Ligase in Substrate Selection* \blacklozenge . *Journal of Biological Chemistry*, 286(19), 16861-16870. DOI.org/10.1074/jbc.M110.211979

Lu X, Zhang J ve Xiao S. (2018). Correlation between Brodsky tonsil scale and tonsil volume in adult patients. *BioMed research international*, 2018(1), 6434872. DOI.org/10.1155/2018/6434872

Lumeng JC ve Chervin RD. (2008). Epidemiology of pediatric obstructive sleep apnea. *Proceedings of the American Thoracic Society*, 5(2), 242-252. DOI: 10.1513/pats.200708-135MG

Ma Z, Wang J, Hu L ve Wang S. (2023). Function of innate lymphoid cells in periodontal tissue homeostasis: A narrative review. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(7), 6099. DOI.org/10.3390/ijms24076099

Maltby S, Plank M, Tay HL, Collison A ve Foster PS. (2016). Targeting microRNA function in respiratory diseases: mini-review. *Frontiers in physiology*, 7, 21. DOI.org/10.3389/fphys.2016.00021

Manikoth Ayyathan D, Levy-Cohen G, Shubely M, Boutros-Suleiman S, Lepechkin-Zilbermintz V, Shokhen M. ... Blank M. (2021). Development and characterisation of SMURF2-targeting modifiers. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 36(1), 401-409. DOI.org/10.1080/14756366.2020.1871337

Mansson A, Adner M ve Cardell LO. (2006). Toll-like receptors in cellular subsets of human tonsil T cells: altered expression during recurrent tonsillitis. *Respiratory research*, 7(1), 1-10. DOI.org/10.1186/1465-9921-7-36

Marcus CL, Brooks LJ, Ward SD, Draper KA, Gozal D, Halbower AC. ... Spruyt K. (2012). Diagnosis and management of childhood obstructive sleep apnea syndrome. *Pediatrics*, 130(3), e714-e755. DOI.org/10.1542/peds.2012-1672

- McCoy CE, Sheedy FJ, Qualls JE, Doyle SL, Quinn SR, Murray PJ ve O'Neill LA. (2010). IL-10 inhibits miR-155 induction by toll-like receptors. *Journal of Biological Chemistry*, 285(27), 20492-20498. DOI.org/10.1074/jbc.M110.102111
- McEver RP. (2015). Selectins: initiators of leucocyte adhesion and signalling at the vascular wall. *Cardiovascular research*, 107(3), 331-339. DOI.org/10.1093/cvr/cvv154
- McLean S, ve Di Guglielmo GM. (2010). TGF β (transforming growth factor β) receptor type III directs clathrin-mediated endocytosis of TGF β receptor types I and II. *Biochemical Journal*, 429(1), 137-145. DOI.org/10.1042/BJ20091598
- Meegalla N ve Downs BW. (2023). Anatomy, head and neck, palatine tonsil (faucial tonsils). *StatPearls Publishing*. PMID: 30855880
- Mikola E, Elenius V, Saarinen M, Palomares O, Waris M, Turunen R. ... Jartti T. (2018). Tonsillar cytokine expression between patients with tonsillar hypertrophy and recurrent tonsillitis. *Clinical and translational allergy*, 8, 1-8. DOI.org/10.1186/s13601-018-0205-z
- mirBase: the microRNAdatabase. Erişim Adresi:
<https://www.mirbase.org/mature/MIMAT0002855> Erişim Tarihi: 03.02.2025
- Mitchell RB, Archer SM, Ishman SL, Rosenfeld RM, Coles S, Finestone SA. ... Nnacheta LC. (2019). Clinical practice guideline: tonsillectomy in children (update). *Otolaryngology–Head and Neck Surgery*, 160(1_suppl), S1-S42. DOI.org/10.1177/0194599818801757
- Miura N, Ishihara Y, Miura Y, Kimoto M ve Miura K. (2019). miR-520d-5p can reduce the mutations in hepatoma cancer cells and iPSCs-derivatives. *BMC cancer*, 19, 1-12. DOI.org/10.1186/s12885-019-5786-y
- Mocellin S, Rossi CR, Pilati P ve Nitti D. (2005). Tumor necrosis factor, cancer and anticancer therapy. *Cytokine ve growth factor reviews*, 16(1), 35-53. DOI.org/10.1016/j.cytogfr.2004.11.001
- Mon KJY, Zhu H, Daly CW, Vu LT, Smith NL, Patel R. ... Grimson A. (2021). MicroRNA-29 specifies age-related differences in the CD8+ T cell immune response. *Cell Reports*, 37(6). DOI: 10.1016/j.celrep.2021.109969
- Moreau JM, Velegraki M, Bolyard C, Rosenblum MD ve Li Z. (2022). Transforming growth factor- β 1 in regulatory T cell biology. *Science immunology*, 7(69), eabi4613. DOI.org/10.1126/sciimmunol.abi4613
- Moreno-Moya JM, Vilella F ve Simón C. (2014). MicroRNA: key gene expression regulators. *Fertility and sterility*, 101(6), 1516-1523. DOI.org/10.1016/j.fertnstert.2013.10.042

- Munck H, Jørgensen AW ve Klug TE. (2018). Antibiotics for recurrent acute pharyngo-tonsillitis: systematic review. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*, 37(7), 1221-1230. DOI: 10.1007/s10096-018-3245-3
- Murakami G, Watabe T, Takaoka K, Miyazono K ve Imamura T. (2003). Cooperative inhibition of bone morphogenetic protein signaling by Smurf1 and inhibitory Smads. *Molecular biology of the cell*, 14(7), 2809-2817. DOI: 10.1091/mbc.e02-07-0441
- Murakami K, Mathew R, Huang J, Farahani R, Peng H, Olson SC ve Etlinger JD. (2010). Smurf1 ubiquitin ligase causes downregulation of BMP receptors and is induced in monocrotaline and hypoxia models of pulmonary arterial hypertension. *Experimental biology and medicine*, 235(7), 805-813. DOI: 10.1258/ebm.2010.009383
- Nakao A, Afrakhte M, Morn A, Nakayama T, Christian JL, Heuchel R. ... Dijke PT. (1997). Identification of Smad7, a TGF β -inducible antagonist of TGF- β signalling. *Nature*, 389(6651), 631-635. DOI: 10.1038/39369
- Narimatsu M, Bose R, Pye M, Zhang L, Miller B, Ching P. ... Wrana JL. (2009). Regulation of planar cell polarity by Smurf ubiquitin ligases. *Cell*, 137(2), 295-307. DOI: 10.1016/j.cell.2009.02.025
- Nave H, Gebert A ve Pabst R. (2001). Morphology and immunology of the human palatine tonsil. *Anatomy and embryology*, 204(5), 367-373. DOI: 10.1007/s004290100210
- Niedzielski A, Chmielik LP, Mielnik-Niedzielska G, Kasprzyk A ve Bogusławska J. (2023). Adenoid hypertrophy in children: a narrative review of pathogenesis and clinical relevance. *BMJ paediatrics open*, 7(1), e001710. DOI: 10.1136/bmjpo-2022-001710
- Ning J, Zhao Y, Ye Y ve Yu J. (2019). Opposing roles and potential antagonistic mechanism between TGF- β and BMP pathways: Implications for cancer progression. *EBioMedicine*, 41, 702-710. DOI: 10.1016/j.ebiom.2019.02.033
- Nolte M ve Margadant C. (2020). Controlling immunity and inflammation through integrin-dependent regulation of TGF- β . *Trends in cell biology*, 30(1), 49-59. DOI: 10.1016/j.tcb.2019.10.002
- O'Brien J, Hayder H, Zayed Y ve Peng C. (2018). Overview of microRNA biogenesis, mechanisms of actions, and circulation. *Frontiers in endocrinology*, 9, 402. DOI: 10.3389/fendo.2018.00402
- Olofsson K, Hellström S ve Hammarström ML. (1998). The surface epithelium of recurrent infected palatine tonsils is rich in $\gamma\delta$ T cells. *Clinical & Experimental Immunology*, 111(1), 36-47. DOI: 10.1046/j.1365-2249.1998.00446.x

- Pan Y, Li R, Meng JL, Mao HT, Zhang Y ve Zhang J. (2014). Smurf2 negatively modulates RIG-I-dependent antiviral response by targeting VISA/MAVS for ubiquitination and degradation. *The Journal of Immunology*, 192(10), 4758-4764. DOI: 10.4049/jimmunol.1302632
- Panda SK ve Colonna M. (2019). Innate lymphoid cells in mucosal immunity. *Frontiers in immunology*, 10, 861. DOI: 10.3389/fimmu.2019.00861
- Passali D, Damiani V, Passali GC, Passali FM, Boccazzi A ve Bellussi L. (2004). Structural and immunological characteristics of chronically inflamed adenotonsillar tissue in childhood. *Clinical and Vaccine Immunology*, 11(6), 1154-1157. DOI: 10.1128/CDLI.11.6.1154-1157.2004
- Pérez-Figueroa E, Álvarez-Carrasco P, Ortega E ve Maldonado-Bernal C. (2021). Neutrophils: many ways to die. *Frontiers in immunology*, 12, 631821. DOI: 10.3389/fimmu.2021.631821
- Perry M. (1994). The specialised structure of crypt epithelium in the human palatine tonsil and its functional significance. *Journal of anatomy*, 185(Pt 1), 111. <https://ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1166820>
- Perry SS, Brice DC, Sakr AA, Kandeil A, DeBeauchamp J, Ghonim M. ... Okda FA. (2025). Modulation of cytokeratin and cytokine/chemokine expression following influenza virus infection of differentiated human tonsillar epithelial cells. *Journal of Virology*, e01460-24. DOI: 10.1128/jvi.01460-24
- Raisch J, Darfeuille-Michaud A ve Nguyen HTT. (2013). Role of microRNAs in the immune system, inflammation and cancer. *World journal of gastroenterology: WJG*, 19(20), 2985. DOI: 10.3748/wjg.v19.i20.2985
- Ramkumar C, Kong Y, Cui H, Hao S, Jones SN, Gerstein RM ve Zhang H. (2012). Smurf2 regulates the senescence response and suppresses tumorigenesis in mice. *Cancer research*, 72(11), 2714-2719. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-11-3773
- Reis LGV, Almeida ÉCDS, Silva JCD, Pereira GDA, Barbosa VDF ve Etchebehere RM. (2013). Tonsillar hyperplasia and recurrent tonsillitis: clinical-histological correlation. *Brazilian Journal of otorhinolaryngology*, 79, 603-608. DOI: 10.5935/1808-8694.20130108
- Rizzi A, Di Gioacchino M, Gammeri L, Inchingolo R, Chini R, Santilli F. ... Gangemi S. (2023). The emerging role of innate lymphoid cells (ILCs) and alarmins in celiac disease: an update on pathophysiological insights, potential use as disease biomarkers, and therapeutic implications. *Cells*, 12(14), 1910. DOI: 10.3390/cells12141910
- Samara P, Athanasopoulos M ve Athanasopoulos I. (2023). Unveiling the enigmatic adenoids and tonsils: exploring immunology, physiology, microbiome dynamics, and the

transformative power of surgery. *Microorganisms*, 11(7), 1624. DOI: 10.3390/microorganisms11071624

Sarmiento Varón L, De Rosa J, Rodriguez R, Fernández PM, Billordo LA, Baz P. ... Arana EI. (2021). Role of tonsillar chronic inflammation and commensal bacteria in the pathogenesis of pediatric OSA. *Frontiers in immunology*, 12, 648064. DOI: 10.3389/fimmu.2021.648064

Scadding GK. (1990). Immunology of the tonsil: a review. *Journal of the Royal Society of Medicine*, 83(2), 104-107. DOI: 10.1177/014107689008300216

Senska G, Ellermann S, Ernst S, Lax H ve Dost P. (2010). Recurrent tonsillitis in adults: quality of life after tonsillectomy. *Deutsches Ärzteblatt International*, 107(36), 622. DOI: 10.3238/arztebl.2010.0622

Shin JH, Jeon JB, Jeon MC, Park S ve Kim H. (2023). Expression of periostin in aeroallergen-sensitized children with adenotonsillar hypertrophy. *International Journal of Pediatric Otorhinolaryngology*, 173, 111712. DOI: 10.1016/j.ijporl.2023.111712

Sidell D ve L Shapiro N. (2012). Acute tonsillitis. *Infectious Disorders-Drug Targets (Formerly Current Drug Targets-Infectious Disorders)*, 12(4), 271-276. DOI: 10.2174/187152612801319230

Souza-Costa LP, Andrade-Chaves JT, Andrade JM, Costa VV ve Franco LH. (2023). Uncovering new insights into the role of the ubiquitin ligase Smurf1 on the regulation of innate immune signaling and resistance to infection. *Frontiers in Immunology*, 14, 1185741. DOI: 10.3389/fimmu.2023.1185741

Spender LC, O'Brien DI, Simpson D, Dutt D, Gregory CD, Allday MJ. ... Inman GJ. (2009). TGF- β induces apoptosis in human B cells by transcriptional regulation of BIK and BCL-XL. *Cell Death & Differentiation*, 16(4), 593-602. DOI: 10.1038/cdd.2008.183

Standring S, Ellis H, Healy J, Johnson D, Williams A, Collins P ve Wigley C. (2005). Gray's anatomy: the anatomical basis of clinical practice. *American journal of neuroradiology*, 26(10), 2703. <https://ajnr.org/26/10/2703>

Šumilo D, Nichols L, Ryan R ve Marshall T. (2019). Incidence of indications for tonsillectomy and frequency of evidence-based surgery: a 12-year retrospective cohort study of primary care electronic records. *British Journal of General Practice*, 69(678), e33-e41. DOI: 10.3399/bjgp18X699833

Sun X, Xie Z, Ma Y, Pan X, Wang J, Chen Z, ve Shi P. (2018). TGF- β inhibits osteogenesis by upregulating the expression of ubiquitin ligase SMURF1 via MAPK-ERK signaling. *Journal of cellular physiology*, 233(1), 596-606. DOI: 10.1002/jcp.25920

- Szklarczyk D, Kirsch R, Koutrouli M, Nastou K, Mehryary F, Hachilif R. ... Von Mering C. (2023). The STRING database in 2023: protein–protein association networks and functional enrichment analyses for any sequenced genome of interest. *Nucleic acids research*, 51(D1), D638-D646. DOI: 10.1093/nar/gkac1000
- Szklarczyk D, Nastou K, Koutrouli M, Kirsch R, Mehryary F, Hachilif R. ... von Mering C. (2025). The STRING database in 2025: protein networks with directionality of regulation. *Nucleic Acids Research*, 53(D1), D730-D737. DOI: 10.1093/nar/gkae1113
- Taheri F, Ebrahimi SO, Shareef S ve Reisi S. (2020). Regulatory and immunomodulatory role of miR-34a in T cell immunity. *Life sciences*, 262, 118209. DOI: 10.1016/j.lfs.2020.118209
- Takahara M, Kishibe K, Nozawa H ve Harabuchi Y. (2005). Increase of activated T-cells and up-regulation of Smad7 without elevation of TGF-beta expression in tonsils from patients with pustulosis palmaris et plantaris. *Clinical Immunology*, 115(2), 192-199. DOI: 10.1016/j.clim.2005.01.001
- Takechi H, Oda T, Hotta O, Yamamoto K, Oshima N, Matsunobu T. ... Kumagai, H. (2013). Clinical and immunological implications of increase in CD208+ dendritic cells in tonsils of patients with immunoglobulin A nephropathy. *Nephrology Dialysis Transplantation*, 28(12), 3004-3013. DOI: 10.1093/ndt/gft399
- Tang C, Guo M, Shi Z, Wang Z, Luo C, Chen S. ... Sun F. (2021). miRNA-dependent poly (A) length control in uncoupling transcription and translation of haploid male germ cells. *bioRxiv*, 2021-03. DOI: 10.1242/dev.199573
- Tang LY, Yamashita M, Coussens NP, Tang, Y, Wang X, Li C. ... Zhang YE. (2011). Ablation of Smurf2 reveals an inhibition in TGF- β signalling through multiple mono-ubiquitination of Smad3. *The EMBO journal*, 30(23), 4777-4789. DOI: 10.1038/emboj.2011.393
- Tie Y, Tang F, Peng D, Zhang Y ve Shi H. (2022). TGF-beta signal transduction: biology, function and therapy for diseases. *Molecular biomedicine*, 3(1), 45. DOI: 10.1186/s43556-022-00109-9
- Todorović MM ve Zvrko EZ. (2013). Immunoregulatory cytokines and chronic tonsillitis. *Bosnian journal of basic medical sciences*, 13(4), 230. DOI: 10.17305/bjbms.2013.2330
- Tom LW, Dedio RM, Cohen DE, Wetmore RE, Handler SD ve Potsic WP. (1992). Is outpatient tonsillectomy appropriate for young children?. *The laryngoscope*, 102(3), 277-280. DOI: 10.1288/00005537-199203000-00009
- Tsukerman P, Yamin R, Seidel E, Khawaled S, Schmiedel D, Bar-Mag T ve Mandelboim O. (2014). MiR-520d-5p directly targets TWIST1 and downregulates the metastamiR miR-10b. *Oncotarget*, 5(23), 12141. DOI: 10.18632/oncotarget.2559

- Valeri M ve Raffatellu M. (2016). Cytokines IL-17 and IL-22 in the host response to infection. *Pathogens and disease*, 74(9), ftw111. DOI: 10.1093/femspd/ftw111
- Van den Akker EH, Schilder AGM, Kemps YJM, Van Balen FAM, Hordijk GJ ve Hoes AW. (2003). Current indications for (adeno) tonsillectomy in children: a survey in The Netherlands. *International journal of pediatric otorhinolaryngology*, 67(6), 603-607. DOI: 10.1016/s0165-5876(03)00063-6
- Viciani E, Montagnani F, Tavarini S, Tordini G, Maccari S, Morandi M. ... Manetti AG. (2016). Paediatric obstructive sleep apnoea syndrome (OSAS) is associated with tonsil colonisation by *Streptococcus pyogenes*. *Scientific Reports*, 6(1), 20609. DOI: 10.1038/srep20609
- von Burg N, Chappaz S, Baerenwaldt A, Horvath E, Bose Dasgupta S, Ashok D. ... Finke D. (2014). Activated group 3 innate lymphoid cells promote T-cell-mediated immune responses. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 111(35), 12835-12840. DOI: 10.1073/pnas.1406908111
- Wallrapp A, Riesenfeld SJ, Burkett PR ve Kuchroo VK. (2018). Type 2 innate lymphoid cells in the induction and resolution of tissue inflammation. *Immunological reviews*, 286(1), 53-73. DOI: 10.1111/imr.12702
- Wang C, Ji B, Cheng B, Chen J ve Bai BO. (2014). Neuroprotection of microRNA in neurological disorders. *Biomedical Reports*, 2(5), 611-619. DOI: 10.3892/br.2014.297
- Wang Q, Du J, Jie C, Ouyang H, Luo R ve Li W. (2017). Bacteriology and antibiotic sensitivity of tonsillar diseases in Chinese children. *European Archives of Oto-Rhino-Laryngology*, 274, 3153-3159. DOI: 10.1007/s00405-017-4603-y
- Weizman OE, Adams NM, Schuster IS, Krishna C, Pritykin Y, Lau C. ... O'Sullivan TE. (2017). ILC1 confer early host protection at initial sites of viral infection. *Cell*, 171(4), 795-808. DOI: 10.1016/j.cell.2017.09.052
- Werle AH, Nicklaus PJ, Kirse DJ ve Bruegger DE. (2003). A retrospective study of tonsillectomy in the under 2-year-old child: indications, perioperative management, and complications. *International journal of pediatric otorhinolaryngology*, 67(5), 453-460. DOI: 10.1016/s0165-5876(02)00387-7
- Wu X, Khatun A, Kasmani MY, Chen Y, Zheng S, Atkinson S. ... Cui W. (2022). Group 3 innate lymphoid cells require BATF to regulate gut homeostasis in mice. *Journal of Experimental Medicine*, 219(11), e20211861. DOI: 10.1084/jem.20211861
- Wu X, Pan B, Chu C, Zhang Y, Ma J, Xing Y. ... Puyi S. (2025). CXCL16/CXCR6/TGF- β Feedback Loop Between M-MDSCs and Treg Inhibits Anti-Bacterial Immunity During Biofilm Infection. *Advanced Science*, 12(7), 2409537. DOI: 10.1002/advs.202409537

- Xie YF, Shu R, Jiang SY, Song ZC, Guo QM, Dong JC ve Lin ZK. (2014). miRNA-146 negatively regulates the production of pro-inflammatory cytokines via NF- κ B signalling in human gingival fibroblasts. *Journal of Inflammation*, 11, 1-9. DOI: 10.1186/s12950-014-0038-z
- Xu P, Liu J ve Derynck R. (2012). Post-translational regulation of TGF- β receptor and Smad signaling. *FEBS letters*, 586(14), 1871-1884. DOI: 10.1016/j.febslet.2012.05.010
- Yagi R, Zhong C, Northrup DL, Yu F, Bouladoux N, Spencer S. ... Zhu J. (2014). The transcription factor GATA3 is critical for the development of all IL-7R α -expressing innate lymphoid cells. *Immunity*, 40(3), 378-388. DOI: 10.1016/j.immuni.2014.01.012
- Yan L, Yu J, Tan F, Ye GT, Shen ZY, Liu H. ... Li GX. (2015). SP1-mediated microRNA-520d-5p suppresses tumor growth and metastasis in colorectal cancer by targeting CTHRC1. *American journal of cancer research*, 5(4), 1447. <https://europepmc.org/article/MED/26101709>
- Yang H, Yu N, Xu J, Ding X, Deng W, Wu G. ... Zhuang T. (2018). SMURF1 facilitates estrogen receptor α signaling in breast cancer cells. *Journal of experimental & clinical cancer research*, 37, 1-12. DOI: 10.1186/s13046-018-0672-z
- Yao XC, Wu JJ, Yuan ST ve Yuan FL. (2025). Recent insights and perspectives into the role of the miRNA 29 family in innate immunity. *International Journal of Molecular Medicine*, 55(3), 1-12. DOI: 10.3892/ijmm.2025.5494
- Yi R, Qin Y, Macara IG ve Cullen BR. (2003). Exportin-5 mediates the nuclear export of pre-microRNAs and short hairpin RNAs. *Genes & development*, 17(24), 3011-3016. DOI: 10.1101/gad.1158803
- Zhang H, Tsui CK, Garcia G, Joe LK, Wu H, Maruichi A. ... Dillin A. (2024). The extracellular matrix integrates mitochondrial homeostasis. *Cell*, 187(16), 4289-4304. DOI: 10.1016/j.cell.2024.05.057
- Zhang L, Liu F, Fu Y, Chen X ve Zhang D. (2020). MiR-520d-5p functions as a tumor-suppressor gene in cervical cancer through targeting PTK2. *Life Sciences*, 254, 117558. DOI: 10.1016/j.lfs.2020.117558
- Zhang L, Zhou F, de Vinuesa AG, de Kruijf EM, Mesker WE, Hui L. ... Ten Dijke P. (2013). TRAF4 promotes TGF- β receptor signaling and drives breast cancer metastasis. *Molecular cell*, 51(5), 559-572. DOI: 10.1016/j.molcel.2013.07.014
- Zhang Y, Chang C, Gehling DJ, Hemmati-Brivanlou A ve Derynck R. (2001). Regulation of Smad degradation and activity by Smurf2, an E3 ubiquitin ligase. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 98(3), 974-979. DOI: 10.1073/pnas.98.3.974

- Zhang Y, Wang HR ve Wrana JL. (2004). Smurf1: a link between cell polarity and ubiquitination. *Cell Cycle*, 3(4), 389-390. DOI: 10.4161/cc.3.4.772
- Zheng J, Shi Z, Yang P, Zhao Y, Tang W, Ye S. ... Sun H. (2022). ERK-Smurf1-RhoA signaling is critical for TGF β -drived EMT and tumor metastasis. *Life science alliance*, 5(10). DOI: 10.26508/lsa.202101330
- Zhi T, Jiang K, Xu X, Yu T, Wu W, Nie E. ... Liu N. (2017). MicroRNA-520d-5p inhibits human glioma cell proliferation and induces cell cycle arrest by directly targeting PTTG1. *American journal of translational research*, 9(11), 4872. PMID: 29218086
- Zhu H, Kavsak P, Abdollah S, Wrana JL ve Thomsen GH. (1999). A SMAD ubiquitin ligase targets the BMP pathway and affects embryonic pattern formation. *Nature*, 400(6745), 687-693. DOI: 10.1038/23293



EKLER

Ek 1: ETİK KURUL ONAYI

MUĞLA SITKI KOÇMAN ÜNİVERSİTESİ TIBBİ BİLİMLER ETİK KURUL KARARI

Protokol No : 240115

Karar No : 94

Araştırma Yürütücüsü	Yüksek Lisans Öğrencisi MURAT CENİK
Kurumu / Birimi	MUĞLA SITKI KOÇMAN ÜNİVERSİTESİ / TIBBİ BİYOLOJİ
Araştırmanın Başlığı	Kronik Tonsillitte Mir520d-5P, Smurf1 Ve Smurf2 Genlerinin Moleküler Ve İn Silico Analizi
Başvuru Formunun Etik Kurula Geldiği Tarih	04.05.2024
Başvuru Formunun Etik Kurulda İncelendiği Tarih	İlk İnceleme Tarihi : 27.05.2024 1. Düzeltme Tarihi : 05.06.2024
Karar Tarihi	06.08.2024

KARAR : UYGUNDUR

AÇIKLAMA : Beyan edilen veri formlarının dışına çıkılmaması şartıyla araştırmanın uygulanabilirliği konusunda bilimsel araştırmalar etiği açısından bir sakınca yoktur.

Prof.Dr. Ümmühani ÖZEL TÜRKCÜ
Başkan

Prof. Dr. Müesser ÖZCAN

Prof.Dr. ÖZGÜR TANRIVERDİ

Prof.Dr. ÜMİT ÜNÜVAR GÖÇEOĞLU

Doç. Dr. MELİKE KORKMAZ TOKER

Doç.Dr. Ozan GÖKDOĞAN

Uzman Doktor ELİF AYLIN YÜCE
YÖRÜK

Muğla Sıkı Koçman Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Etik
Kurulları Yönergesinin Madde-8B-b bendine göre
değerlendirmede yer almamıştır.

Av. Gökçe ALTIN

Enstitü Sekreteri Nilgün BULUT

Ek 2: KURUM İZİN ONAYI

12.09.2024

**MUĞLA SITKI KOÇMAN ÜNİVERSİTESİ SAĞLIK BİLİMLERİ
ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜNE**

Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı yüksek lisans öğrencisi Murat CENİK' in 'Kronik Tonsillitte mİR-520d-5p, Smurf1 ve Smurf2 Genlerinin Moleküler ve in silico Analizi' isimli planlanan tez çalışmasının laboratuvar aşamalarının Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalına ait laboratuvarlarda yürütülmesinde bir sakınca olmadığını bilginize sunar ve gereğini arz ederim.

Prof. Dr. Tuba EDGÜNLÜ
Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Başkanı

Ek 3: ÖZ GEÇMİŞ

- Adı Soyadı : Murat CENİK
- Yabancı Dili : İngilizce
- Eğitim Durumu (Kurum ve Yıl) : Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Moleküler Biyoloji ve Genetik, 2022
- Lise : İbn-İ Sina Mesleki Ve Teknik Anadolu Lisesi
- Lisans : Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Moleküler Biyoloji ve Genetik, 2017-2022
- Yüksek Lisans : Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi Tıbbi Biyoloji, 2022-
- Çalıştığı Kurum / Kurumlar ve Yıl : Muğla Eğitim ve Araştırma Hastanesi/ 2022
- Yayımları (SCI ve diğer) : Coşkun, A., Pektaş, S., Özdemir, Ç., Demirtaş, A., Cenik, M., Edgünlü T. 2024 Investigating the Role of IL-17A gene rs2275913 Variant in Rosacea: In Silico Analysis Suggests Further Studies, Cilt: 11 Sayı: 3, 139 - 144, 18.12.2024 (**TRDizin**).
- Demirtaş, A., Cenik, M., Edgünlü, T. 2025 miR-1343-3p-İlgili Genlerin Kansere İlgili Düzenleyici Ağının Silico Analizi. Türkiye Klinikleri; 2025. s.20-6. (**TRDizin**).
- Diğer Konular :