



T.C.
SÜLEYMAN DEMİREL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

PARKİNSON HASTALIĞI İLE TOLL/IL-1 RESEPTÖR İLİŞKİLİ
PROTEİN (TIRAP) GEN POLİMORFİZMİ İLİŞKİSİNİN
ARAŞTIRILMASI

Merve KIR

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN

Prof. Dr. Nilüfer ŞAHİN CALAPOĞLU

Bu Tez Süleyman Demirel Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından 4777-YL1-16 proje numarası ile desteklenmiştir.

Tez. No:199

ISPARTA-2019

KABUL ve ONAY SAYFASI

Sağlık Bilimleri Enstitü Müdürlüğüne;

Süleyman Demirel Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü **Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programı** çerçevesinde yürütülmüş olan bu çalışma, aşağıdaki jüri tarafından **Yüksek Lisans** olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 06/12/2019

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Nilüfer ŞAHİN CALAPOĞLU

Süleyman Demirel Üniversitesi, Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji
Anabilim Dalı

Üye : Prof. Dr. Nilüfer ŞAHİN CALAPOĞLU

Süleyman Demirel Üniversitesi, Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji
Anabilim Dalı

Üye : Doç. Dr. Pınar ASLAN KOŞAR

Süleyman Demirel Üniversitesi, Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji
Anabilim Dalı

Üye : Dr. Öğr. Üyesi Mümin POLAT

MAKÜ, Sağlık Bilimleri Fakültesi Acil Yardım ve Afet Yönetimi
Anabilim Dalı

ONAY: Bu yüksek lisans tezi, Enstitü Yönetim Kurulu'nca belirlenen yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve kabul edilmiştir.

Doç. Dr. Nilgün GÜRBÜZ

Enstitü Müdürü

BEYAN

“Parkinson Hastalığı ile Toll/IL-1 Reseptör İlişkili Protein (TIRAP) Gen Polimorfizmi İlişkisinin Araştırılması” adlı Yüksek Lisans tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Lisansüstü Tez Önerisi ve Tez Yazma Yönergesi’ne uygun olarak hazırlanmıştır.

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmayla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

Tezi Hazırlayan

Merve KIR

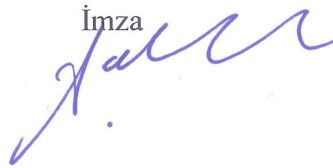
İmza



Danışman

Prof. Dr. Nilüfer ŞAHİN CALAPOĞLU

İmza



ÖNSÖZ ve TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim süresince bilgilerinden ve deneyimlerinden faydalandığım Anabilim dalı başkanımız Prof. Dr. Nurten ÖZÇELİK' e, tez danışmanım değerli hocam Prof. Dr. Nilüfer ŞAHİN CALAPOĞLU'na ve yetişmemde emekleri olan diğer kıymetli Öğretim Üyelerimize, laboratuvarında çalışırken karşılaştığım teknik sıkıntılarla ilgili yardımlarını esirgemeyen ve kendileriyle sohbet etmekten keyif aldığım Tıbbi Biyoloji ABD asistanlarına çok teşekkür ederim.

Tezimin her aşamasında sabırla ilgilenen ve birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum, sadece bir danışman hoca olmaktan öteye giden Prof. Dr. Nilüfer ŞAHİN CALAPOĞLU'na teşekkürü bir borç bilirim.

Tez çalışmamın istatistiklerinin yapımı ve yorumlanmasındaki verdiği desteklerden dolayı danışman hocama ve katkıları olan diğer hocalarıma ve asistan arkadaşlarıma teşekkürlerimi sunarım.

Kardeşlerimden ayırmadığım, desteğini her zaman yanımda hissettiğim, çalışmalarımda motivasyonumun kaybolmasına müsaade etmeyen canım arkadaşım Sultan ŞAHİN'e teşekkür ederim.

Küçük yaşlardan itibaren, ilk olarak anneciğim ve babacığım tarafından başlayan eğitim-öğretim hayatım ve şimdilerde akademik çalışmalarım süresince gösterdikleri sabır, destek ve fedakârlık için aileme sonsuz saygı ve sevgilerimi sunarım.

Dr. Merve KIR

Isparta-2019

ÖZET

Parkinson Hastalığı ile TIRAP 975C/T Gen Polimorfizmi İlişkisinin Araştırılması

Parkinson Hastalığı (PH) substantia nigra pars compacta'daki dopaminerjik nöronların progresif kaybı ile karakterizedir. PH'nın patolojik ayırt edici özelliği Lewy cisimcikleri olarak bilinen hücre içi inklüzyonlarda α -sinüklein birikintilerinin varlığıdır.

Hastalığın bulguları bradikinezi, tremor, rijidite, postüral instabilite, fleksiyon postürü ve donma fenomeni olarak tanımlanan motor semptomlardır. Hastalığın prodromal fazı, "premotor" veya "preklinik" dönem olarak adlandırılmaktadır. Bu dönemde görülen non-motor öncül bulgular ağrı, konstipasyon, koku kaybı, REM uyku davranış bozukluğu, depresyon ve anksiyete bozukluğu gibi duygudurum bozukluklarıdır.

Doğal immün sistem elemanlarından Toll like reseptörler (TLR), mikrobiyal antijenlerle veya hasarlı hücrel elemanlarla uyarılınca hem inflamatuvar reaksiyonları indükler hem de edinsel bağışıklığı aktive eder.

Bu çalışmada, TLR sinyal yolağında yer alan bir adaptör protein olan Toll/IL-1 reseptör ilişkili protein (TIRAP) gen bölgesi üzerindeki 975C/T polimorfik bölge araştırılmıştır. PH ve kontrol grubu arasında anlamlı bir fark bulunamamıştır.

TLR sinyal yolağının sebep olduğu nörotoksik ve nörokoruyucu mekanizmaların araştırılması nörodejeneratif hastalıkların patogenezindeki rollerini anlamak için çok önemli olabilir ve terapötik uygulamalar için yeni bir ufuk açabilir.

Anahtar Kelimeler: Parkinson Hastalığı, Toll Like Reseptör (TLR), Nöroinflamasyon

ABSTRACT

Investigation of the Association Between Parkinson Disease and TIRAP 975C/T Gene Polymorphism

Parkinson Disease (PD) is characterized by the progressive loss of dopaminergic neurons in the substantia nigra pars compacta. The pathological hallmark of PD is the presence of deposits of aggregated α -synuclein in intracellular inclusions known as Lewy bodies.

Symptoms of the disease are motor symptoms defined as bradykinesia, tremor, rigidity, postural instability, flexion posture and freezing phenomenon. The prodromal phase of the disease is called 'premotor' or 'preclinical' period. Non-motor premise findings seen during this period are pain, constipation, loss of odor, REM sleep behavior disorder, mood disorders such as depression and anxiety disorder.

When Toll like receptors (TLR) which is element of native immune system induced by microbial antigens or damaged cellular elements, they both induce inflammatory reactions and activate adaptive immune system.

In this study, the polymorphic 975C/T region on the Toll / IL-1 receptor-associated protein (TIRAP) gene region, which is an adapter protein in the TLR signaling pathway, was investigated. There was no significant difference between PH and control group.

Investigation of the neurotoxic and neuroprotective mechanisms caused by the TLR signaling pathway may be very important to understand the role of in pathogenesis of neurodegenerative diseases and may open a new horizon for therapeutic applications.

Keywords: Parkinson Disease, Toll Like Receptor (TLR), Neuroinflammation

İÇİNDEKİLER

BEYAN	i
ÖNSÖZ ve TEŞEKKÜR	ii
ÖZET	iii
ABSTRACT	iv
İÇİNDEKİLER	v
TABLolar DİZİNİ	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ	vii
RESİMLER DİZİNİ	viii
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	ix
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. Parkinson Hastalığı ve Patolojisi	2
2.2. Doğal İmmünite ve Toll Like Reseptörler	4
2.2.1. Toll Like Reseptörlerin Yapısı ve TLR Ailesi Üyeleri.....	5
2.2.2. Toll Like Reseptör Sinyal Yoluğı	7
3. GEREÇ ve YÖNTEM	9
3.1. Kandan DNA İzolasyonu	9
3.2. PCR Protokolü	11
3.3. RFLP Analizi	12
4. BULGULAR	15
4.1. TIRAP 975C/T Genotip ve Allel Frekansları	16
4.2. TIRAP 975C/T Polimorfizminin Hastalık ile İlişkisi	18
5. TARTIŞMA	21
6. SONUÇ ve ÖNERİLER	27
KAYNAKLAR	28
ÖZGEÇMİŞ	33

TABLolar DİZİNİ

Tablo 2.1. TLR'ler, ligandları ve lokalizasyonları	6
Tablo 2.2. İnsan TLR genlerinin kromozom üzerindeki lokasyonu.....	6
Tablo 3.1. PCR Master Mix (1X).....	11
Tablo 4.1. Çalışmada kullanılan örneklerin genotip dağılımı	16
Tablo 4.2. TIRAP 975C/T polimorfizminin vaka ve kontrol gruplarında genotip frekansları, allel frekansları ve Hardy-Weinberg dengesi testi.....	17
Tablo 4.3. TIRAP 975C/T polimorfizminin Parkinson ile ilişkisi için Odds Rations (ORs) (T risk alleli)	18
Tablo 4.4. TIRAP 975C/T polimorfizminin Parkinson ile ilişkisi için Odds Rations (ORs) (C risk alleli)	18
Tablo 4.5. Armitage's trend test sonucunda total OR=1,508 P=0,7582 olarak bulunmuştur.....	19

ŞEKİLLER DİZİNİ

- Şekil 3.1. TIRAP rs8177374 (975C/T) gen dizisi ve enzim kesim bölgeleri 13
- Şekil 3.2. Mismatch primer varlığında allel C ise: *Hpy* 188I tarafından kesilir. 14
- Şekil 3.3. Mismatch primer varlığında allel T ise: *Hpy* 188I tarafından kesim olmaz. 14



RESİMLER DİZİNİ

Resim 2.1. Toll like reseptör sinyal yolları.....	7
Resim 2.2. MyD88-bağı ve MyD88-bağımsız sinyal yollarının oluşturdukları cevaplar	8
Resim 4.1. Parkinson Hasta Grubu RFLP elektroforez jel görüntüleri	15
Resim 4.2. Kontrol Grubu RFLP elektroforez jel görüntüleri.....	16



SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

DAMP	: Damage Associated Molecular Pattern
DNA	: Deoksiribonükleik Asit
dNTP	: Deoksinukleotit Trifosfat
EDTA	: Etilendiamin Tetraasetik Asit
HWE	: Hardy-Weinberg equilibrium
IFN	: İnterferon
IL	: İnterlökin
IRAK	: IL-1 reseptör ilişkili kinaz
IRF	: IFN Regülatör Faktör
KBB	: Kan Beyin Bariyeri
LPS	: Lipopolisakkarit
LRR	: Leucine Rich Repeats
MAF	: Minör Allel Frekansı
MAPK	: Mitogen Activated Protein Kinase
MyD88	: Miyeloid Differensiyasyon Faktör 88
MSS	: Merkezi Sinir Sistemi
NF-κB	: Nukleer Faktör Kappa B
NSAİ	: Non-Steroidal Anti-İnflamatuar
OR	: Odds Ratıons
PAMPs	: Pathogen Associated Molecular Patterns
PCR	: Polymerase Chain Reaction
PH	: Parkinson Hastalığı
PRR	: Pattern Recognition Receptor
RFLP	: Restriction Fragment Length Polymorphism

RNA	: Ribonükleik Asit
TIR	: Toll/İnterlökin-1 Reseptör
TIRAP	: TIR İlişkili Protein
TLR	: Toll Like Reseptör
TNF	: Tümör Nekrosis Faktör
TRAF	: TNF reseptör ilişkili kinaz
TRAM	: TRIF Related Adaptor Molecule
TRIF	: TIR domain içeren adaptör



1. GİRİŞ

Parkinson hastalığı (PH), beyin sapında özellikle bazal ganglionlarda substantia nigra pars kompakta olmak üzere, diğer beyin sapı dopaminerjik nöronların kaybı ile karakterize olan nörodejeneratif bir hastalıktır ve tüm parkinsonizm olgularının %80'ini oluşturur. Başlıca klinik belirtileri istirahat tremoru, bradikinezi, rijidite ve postüral refleks bozukluğudur (1).

Nöroinflamasyonun temelde nörodejeneratif süreç olabileceği ve bağışıklık sisteminin kilit rol oynadığı varsayılmaktadır (2).

Yapılan çalışmalarda proinflamatuvar immün aktivite ve onu tetikleyen koşulların, bağırsakta ve beyindeki α -sinüklein düzeylerini arttırdığı gösterilmiştir. Böylece, α -sinüklein'in aşırı ekspresyonu agregasyonuna sebep olup, aşırı sentezlenen ve bunun sonucunda agregate olan α -sinüklein, immün hücrelerden kaynaklanan proinflamatuvar yanıtları uyararak, agregate α -sinüklein'in diğer dokulara yayılmasını ve birikmesini sağlayabilecek bir kısır döngüyü başlatır (3).

Toll like reseptörler (TLR); pek çok hücre tipinin endozomlarında ve yüzeylerinde eksprese ettiği pattern tanıma reseptör ailesidir. Endotoksin ve viral RNA gibi mikrobiyal yapıları tanıyarak inflamatuvar ve antiviral genlerin ekspresyonuna sebep olan sinyalleri iletmektedir (4).

TLR'lerin nöronal dejenerasyona katılımının olduğunu destekleyen bazı kanıtlar şu şekildedir: sinir sisteminin ilgili hücreleri TLR'leri eksprese eder sonrasında TLR'ler α -sinüklein ile aktive edilir ve aktivasyonları; nöronal kayıptan önce gelen bir inflamatuvar yanıtı indükler, ayrıca TLR'lerin katılımının engellenmesi ile PH'nın ilerlemesi geciktirilir (5).

Bu tez çalışmasında, TLR sinyal yolağında yer alan bir adaptör protein olan Toll/IL-1 reseptör ilişkili protein (TIRAP) gen bölgesi üzerindeki polimorfik allelin PH hastalarında ve kontrol grubunda karşılaştırmalı olarak ilişkisi araştırılmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Parkinson Hastalığı ve Patolojisi

Parkinson Hastalığı, ilk olarak James Parkinson tarafından 1817'de tanımlanmıştır (6). PH, parkinsonizmin en sık ve yaygın görülen nedeni olup, istirahat tremoru, rijidite, bradikinezi ve postural refleks kaybı ile karakterize bir sendromdur (1).

Non-motor semptomlar olarak nöropsikiyatrik bozukluklar, uyku bozukluğu, duyu değişiklikleri, yaygın gastrointestinal disfonksiyon Parkinson hastalarının %80'inden fazlasında rapor edilmiştir (7).

Etyolojisi tam olarak bilinmemekle birlikte çevresel ve genetik faktörlerin hastalığın ortaya çıkmasında etkili oldukları düşünülmektedir (8).

Histopatolojik olarak, nöron içerisinde Lewy body diye adlandırılan intraselüler eozinofilik inklüzyon cisimcikleri birikir. Bunlar intraselüler çözünemeyen yanlış katlanmış α -sinuklein agregatlarıdır ve sadece beyinde değil; omurilikte, periferel sinir sisteminde, sempatik ganglionlarda, enterik sinir sisteminde, adrenal medulla, vagus siniri ve siyatik sinirde de bulunabilir (9-11).

PH'da merkezi sinir sistemi (MSS) patolojisi, 10. kranial sinir vagusun dorsal motor çekirdeğinde başlar. Vagusun dorsal motor çekirdeğinden; sinükleinopati, inflamasyon ve nöronal işlev bozukluğu, diğer beyin bölgelerine yayılır ve nihayetinde inflamasyona hassas olan dopaminerjik nöronların olduğu substantia nigra'ya ulaşır ve dejenerasyon başlar (3).

Nöroprotektif tedavinin sağlanabilmesi için PH patogenezinin sebep olan ana mekanizmaların anlaşılabilmesi şarttır. PH patogenezinin sorumlu temel mekanizma tek değildir. Bunlar; hücre stresle reaktif oksijen radikallerinin üretimi, mitokondrial disfonksiyon, endoplazmik retikulumda anormal protein katlantıları, anormal sitoplazmik protein inklüzyonları, nöroinflamasyon, hücre ölümü ve trofik faktör kaybı olarak sıralanabilir (12).

PH hastalarının basal ganglionlarında ve beyin omurilik sıvısında IL-1 β , IL-6 ve TNF- α gibi proinflamatuvar sitokinler bulunmuştur (13, 14). PH'da mikroglial aktivitenin mekanizması tam olarak aydınlatılamamış olmakla birlikte, büyük olasılıkla proinflamatuvar sitokinler ve toksik α -sinüklein beyinde mikroglia aktivasyonuna sebep olabilir (15). Son zamanlarda yapılan in vitro çalışmalar α -sinükleinin farklı konformasyonlarının mikroglial aktivasyonu tetiklediğini ve daha çok kimyasal mediyatörün salınımına sebep olduğunu göstermiştir (16-19).

Non-steroidal anti-inflamatuar (NSAİ) ajanlar genelde ağrı ve inflamasyonun tedavisinde kullanılırken, hayvan çalışmalarında ve in vitro çalışmalarda NSAİ ajanların dopaminerjik nöronların dejenerasyonunu da önleyebildiğini göstermiştir (20). Ayrıca epidemiyolojik çalışmalarda bazı NSAİ ilaçların ve statinlerin PH gelişme riskini önemli derecede azalttığı kanıtlanmıştır (12).

Bu ajanlardan biri, yüksek lipofilik özellikli ikinci jenerasyon tetrasiklinlerden olan minosiklinin antimikrobiyal özelliklerinin yanı sıra anti inflamatuvar oldukları da belirlenmiştir. Kan-beyin bariyerini (KBB) kolayca geçebilen minosiklin birçok deneysel serebral hastalık modelinde mikroglial aktivasyonu azalttığı gösterilmiştir (21).

1960 larda, PH'nin motor semptomlarından striatumdaki bir nörotransmitter olan dopaminin varlığının sorumlu olduğu keşfedilmiştir (22, 23). Sonrasında dopamini yerine koymayı amaçlayan tedavi yöntemleri geliştirilmiştir. Böylece bradikinezi, rijidite, istirahat tremoru gibi ana patolojik semptomlar iyileştirilmeye çalışıldı. PH'nin asıl sebebinin substantia nigra'da dopaminerjik nöronların dejenerasyonu olduğu gösterilmesinden sonra Levodopa tanımlandı ve bazı komplikasyonlara neden olmasına rağmen PH'nin standart tedavisi haline gelmiştir (24-26).

Bugünlerde ise özellikle orta beynin dopaminerjik nöronlarını korumaya yönelik 'nöroprotektif' terapiler üzerine çalışılmaktadır. Preklinik hayvan çalışmalarında, çeşitli anti parkinsoniyen terapötiklerin hastalığın morbiditesine yönelik nöroprotektif terapiyi sağlamada umut verici olduğu gösterilmiş olmasına rağmen insanlarda başarılı bir çalışma mevcut değildir (27-29).

Son zamanlarda beyin ve gastrointestinal sistem arasında güçlü bir bağlantının olduğunu düşündüren kanıtlar ortaya çıkmıştır. Beyin-barsak aksı bozulduğunda; irritable barsak sendromu, karaciğer hastalıkları, kronik karın ağrısı sendromu, depresyon, anksiyete, otizm, demans ve Parkinson hastalığı gibi birçok bozukluğun patogeneziyle ilişkili olduğu gösterilmiştir (30, 31).

2.2. Doğal İmmünite ve Toll Like Reseptörler

İmmün sistem; enfeksiyonlara karşı ilk koruyucu engeli oluşturan doğal (innate) immünite, sonrasında spesifik ve etkin savunma sağlayan edinsel (adaptive) immüniteden oluşmaktadır. Doğal immünite; doğuştan gelen ve konağın kendine ait olan veya olmayan antijenik yapıları tanıyabilen savunma sistemidir. Edinsel immün sistem sadece omurgalı canlılarda mevcutken doğal immün sistem bitki ve hayvanlarda da bulunur (32).

Doğal bağışıklık, enfeksiyöz etkenlere karşı edinsel immün yanıtı kuvvetlendirir. Ayrıca ölü dokuların ortadan kaldırılması ve onarım sürecinin başlamasında da kritik rol oynar. Doğal bağışıklık sistemi; konak hücrede bulunmayan, çeşitli mikroorganizma sınıflarında ortak olarak paylaşılan yapıları tanır. Bu yapılar patojenlerin yaşamını sürdürmesi için gerekli ve enfektivitesini oluşturan bölgelerdir (33).

Doğal immünite reseptörleri germline’da kodlanır ve somatik rekombinasyonla üretilmezler. Edinsel bağışıklığın aksine doğal bağışıklıkta reseptörler klonal farklılaşma göstermezler. Bu sebeple doğal bağışıklığın birçok hücresi aynı mikroorganizmayı tanımaktadır (33).

Doğal immün sistem, hücresel elemanlar olarak polimorfonükleer lökosit, monosit, makrofaj, eozinofil, mast hücre ve bazofillerden, çözünür faktörler olarak da sitokinler, akut faz reaktanları ve kompleman sisteminden oluşur (34).

Doğal bağışıklığı uyaran mikrobiyal moleküllere; patojen ve aynı tip mikroorganizmalar tarafından paylaşılması nedeni ile ‘pathogen associated molecules patterns (PAMPs)’ denir. Bu molekülleri tanıma özelliğine sahip doğal bağışıklığın reseptörlerine ise ‘pattern recognition receptors (PRR)’ adı verilir (35).

Bu reseptörler; endositik, sekrete edilen ve sinyal ileten olmak üzere üç gruba ayrılırlar. Sinyal ileten reseptör grubunu Toll like reseptör (TLR) ailesi oluşturmaktadır (36).

Toll like reseptör; ilk kez 1991 yılında *Drosophila melanogaster* ismiyle bilinen meyve sineğinde keşfedilen ve embriyonal gelişim basamaklarında rol aldığı bilinen bir reseptör olarak tanımlanmıştır. Daha sonra mutant olan sineklerde fungal infeksiyonlara yatkınlık olduğu fark edilerek, immün sistem yanıtında önemli fonksiyonu olduğu ortaya konulan reseptöre ‘Toll geni’ne olan benzerliğinden dolayı ‘Toll’ adı verilmiştir. 1997 yılında insan homoloğu tariflenmiş ve doğal immün sistemin parçası olduğu anlaşılmıştır. Günümüzde insanlarda Interlökin-1 reseptör (IL-1R)’ün homoloğu olan bu moleküllere ‘‘Toll-like reseptörler’’ denilmektedir (32, 37).

2.2.1. Toll Like Reseptörlerin Yapısı ve TLR Ailesi Üyeleri

Toll like reseptör ailesinin bütün üyeleri transmembran proteinleridir. TLR’lerin karakteristik olarak ekstraselüler kısmı geniş (550-980 aminoasit) olup birden çok ligand bağlayıcı alana sahiptir. Ekstraselüler alanlarında lösinden zengin tekrarlara (leucine rich repeats, LRR) sahiptirler. LRR’ler, 20-29 aminoasitlik kısa protein modülleridirler. Aynı zamanda bu ekstraselüler alan, sistinden zengin küçük alanları da içerir.

TLR’lerin intraselüler bölgeleri yaklaşık 200 aminoasitten oluşan toll/interlökin-1 reseptör (TIR) domaininden oluşur. TLR, ekstraselüler bölgelerinden PAMP ile bağlandığında, intraselüler TIR domaini aracılığı ile bir dizi sinyal iletim yolağı aktive olur. Bunun sonucu olarak antimikrobiyal protein ve inflamatuvar sitokinler sentezlenmektedir. Ayrıca dendritik hücrelerin maturasyonu ve antijen sunum kapasitesindeki artış neticesinde, doğal immün sistem edinsel immün sistemi yönlendirmektedir (32, 38).

Şimdiye kadar TLR ailesinde 13 üye saptanmıştır (Tablo 1). Bunlardan TLR1-TLR9 arası ve TLR11’in ligandları belirlenmiş; TLR10, TLR12 ve TLR13’ün ligandları ise henüz bilinmemektedir (37).

Tablo 2.1. TLR'ler, ligandları ve lokalizasyonları

Reseptör	Ligand	Adaptör	Lokalizasyon
TLR-1	triçil lipoproteinler	MyD88/MAL	hücre yüzeyi
TLR-2	lipoproteinler; gram pozitif peptidoglikan; lipoteikoik asitler; mantar; viral glikoproteinler	MyD88/MAL	hücre yüzeyi
TLR-3	çift zincirli RNA	TRIF	hücre kompartımanı
TLR-4	lipopolisakkarid; viral glikoproteinler	MyD88/MAL/TRIF/TRAM	hücre yüzeyi
TLR-5	Flagellin	MyD88	hücre yüzeyi
TLR-6	diçil lipoproteinler	MyD88/MAL	hücre yüzeyi
TLR-7	küçük sentetik birlesimler; çift zincirli RNA	MyD88	hücre kompartımanı
TLR-8	küçük sentetik birlesimler; tek zincirli RNA	MyD88	hücre kompartımanı
TLR-9	metillenmemis CpG DNA	MyD88	hücre kompartımanı
TLR-10	?	?	hücre yüzeyi
TLR-11	profilin	MyD88	hücre yüzeyi
TLR-12	?	?	?
TLR-13	?	?	?

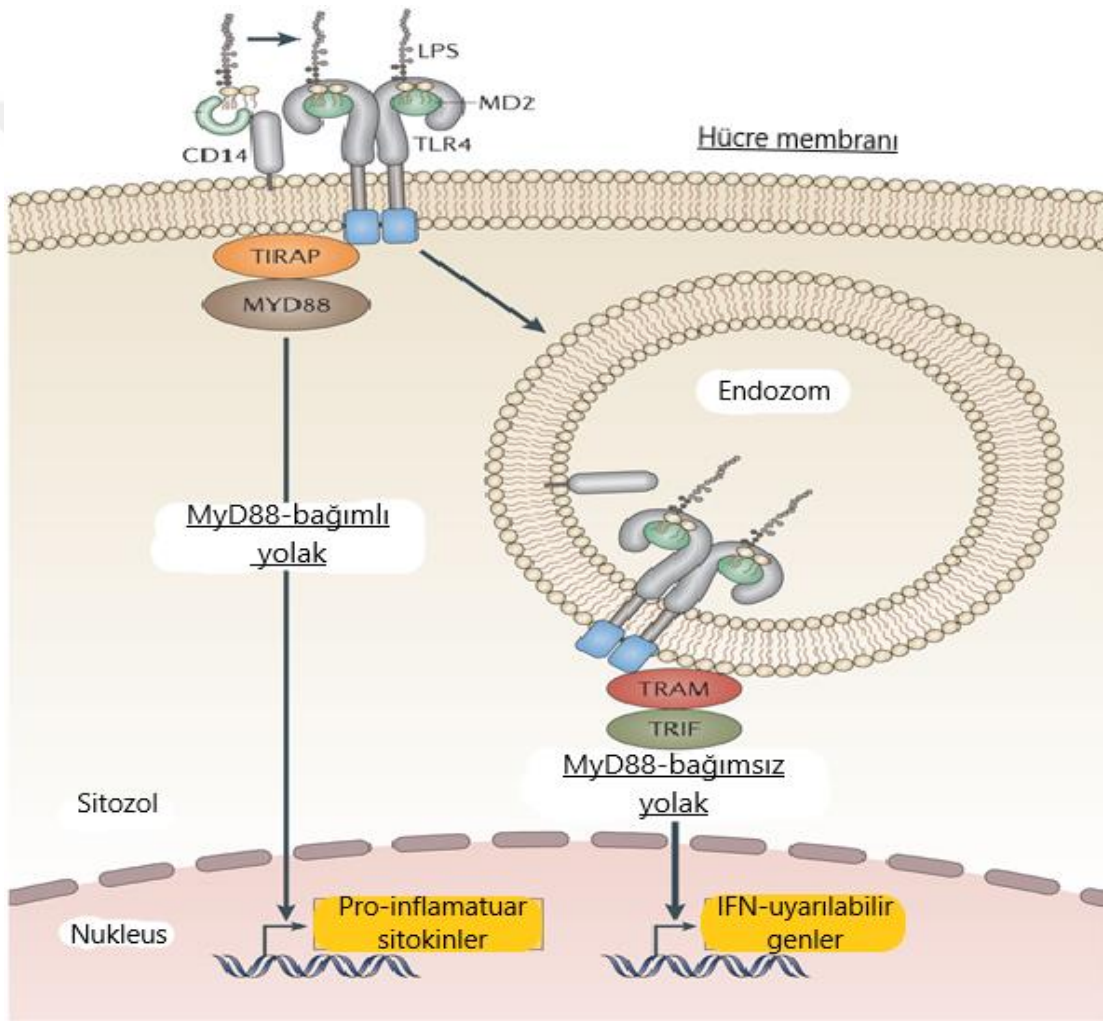
İnsan TLR genlerinin, kromozom 4p14 (TLR-1), 4q32 (TLR-2), 4q35 (TLR-3), 9q32-33 (TLR-4), 1q33.3 (TLR-5), 4p16.1 (TLR-6), Xp22.3 (TLR-7), Xp22 (TLR-8) ve 3p21.3 (TLR-9) üzerinde olduğu gösterilmiştir (39) (Tablo 2).

Tablo 2.2. İnsan TLR genlerinin kromozom üzerindeki lokasyonu

TLR	Kromozom
TLR-1	4p14
TLR-2	4q32
TLR-3	4q35
TLR-4	9q32-33
TLR-5	1q33.3
TLR-6	4p16
TLR-7	Xp22.3
TLR-8	Xp22
TLR-9	3p21.3

2.2.2. Toll Like Reseptör Sinyal Yolağı

Toll like reseptör sinyal yolağı; myeloid differensiyasyon faktör 88'e (MyD88) bağımlı sinyal yolu ve MyD88 bağımsız sinyal yolu olmak üzere iki yol tanımlanmıştır. Bu sinyal yollarında başlıca dört adaptör molekül rol oynar: MyD88, TIR bölgesi IFN- β indükleyen adaptör proteini (TRIF), TRIF ile ilişkili adaptör molekül (TRAM) ve TIR ilişkili protein (TIRAP) (Resim 1). TIRAP geni, kromozom 11q24.2 'de lokalize olup, 5 ekzonlu 14.2 kb lık ve 221 aminoasitlik protein kodlar (40).

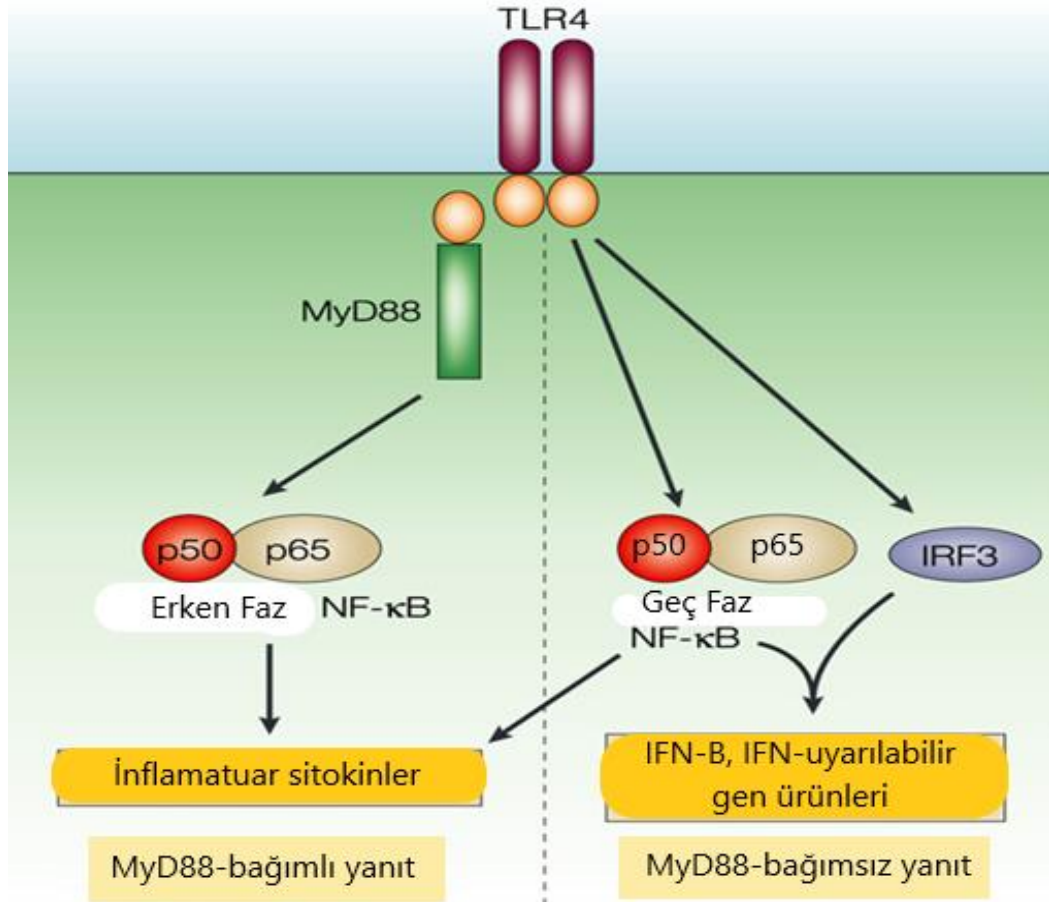


Resim 2.1. Toll like reseptör sinyal yolakları (Nature Reviews-Microbiology)

MyD88 bağımlı sinyal yolunda; MyD88 majör rol oynayıp bu molekül TLR'nin sitoplazmik kuyruğuyla birleşir ve uç bölgesi IRAK-1 (IL-1R ilişkili kinaz) ile homofilik etkileşimde bulunarak bu molekülü reseptöre bağlar. Ligandın bağlanması ile uyarılan TLR'nin TIR bölgesi MyD88 ile birleşir. Bu birleşmeyle

uyarılan IL-1R ilişkili kinaz 4 (IRAK 4) ve tümör nekrozis faktör reseptör ilişkili faktör 6 (TRAF 6) aracılığıyla Nüklear faktör-kappa B (NF- κ B), mitojenle ilişkili protein kinazı (MAPK) aktive eder ve proinflatuar ürünlerin genlerini indükleyerek inflamatuvar cevaba neden olur (41-43).

MyD88 bağımsız/TRIF bağımlı sinyal yol, IFN- β 'yı indüklemek için TLR3 ve TLR4 aracılı sinyal yollarını kullanır. Yapılan çalışmalarda üçüncü bir TIR domain içeren adaptör (TRIF) bulunmuştur. Bu adaptör, TLR3 ve TLR4 ile etkileşimde bulunarak IRF3 (IFN regülatör faktör 3)'ü aktive eder ve IFN- β 'nin ekspresyonunu gerçekleştirir. (36, 44) Ayrıca TLR 7, 8 ve 9'un TRAF3 ve IRF7 üzerinden tip 1 interferon cevabı geliştirdiği gösterilmiştir. MyD88 ve TIRAP proinflatuar sitokinlerin (TNF-alfa, IL-1, IL-6, IL-8, IL-10), TRIF ve TRAM ise interferonların yapımından sorumludur (45) (Resim 2).



Resim 2.2. MyD88-bağımlı ve MyD88-bağımsız sinyal yollarının oluşturdukları cevaplar (Nature Reviews-Immunology)

3. GEREÇ ve YÖNTEM

Bu çalışma; Süleyman Demirel Üniversitesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Moleküler Biyoloji Laboratuvarında gerçekleştirilmiştir. Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurul Başkanlığı'ndan 15/07/2015 tarih ve 166 sayılı kararı ile etik kurul izni alınmıştır.

Çalışma için kullanılan Parkinson Hastalığı kan örnekleri Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Uygulama Hastanesi Nöroloji Anabilim Dalı polikliniğine başvuran Parkinson Hastalığı tanılı olup başka bir nörolojik hastalığı olmayan hastalardan ve kontrol grubu kan örnekleri ise diğer polikliniklere başvuran bilinen herhangi bir nörolojik ve inflamatuvar hastalığı olmayan hastalardan toplanmıştır.

39 adet Parkinson hastası ile 40 adet kontrol grubunun EDTA'lı tüplere (hemogram tüpü) alınan kan örneklerinden sırayla DNA izolasyonu, hedef dizinin çoğaltılması için polimeraz zincir reaksiyonu (Polymerase Chain Reaction-PCR) ve polimorfizmin araştırılması için restriksiyon parça uzunluğu polimorfizmi (Restriction Fragment Length Polymorphism-RFLP) analizi yapılmıştır.

3.1. Kandan DNA İzolasyonu

Jena Bioscience DNA İzolasyon Kiti kullanılarak aşağıdaki prosedür uygulandı.

- 1) 200 µl kan ile 1ml Blood Lysis Buffer eppendorf tüp içinde karıştırılır.
- 2) 10 dk buzda inkübe edilir.
- 3) İnkübasyon sırasında 2-3 kez vortekslenir.
- 4) 10.000 g de 10 dk santrifüj edilir.
- 5) Süpernatant tamamen uzaklaştırılır.
- 6) Pelet üzerine 300 µl Lysis Buffer ve 2 µl RNaz A eklenir.
- 7) 30-60 sn vortekslenir.
- 8) 8 µl Proteinaz K eklenir ve pipetlenir.
- 9) 10 dk 60°C'de inkübe edilir ve 5 dk dinlendirilir.

- 10) 300 µl Binding Buffer eklenir ve vortekslenir.
- 11) Tüp 5 dk buzda bekletilir.
- 12) 10.000 g'de 5 dk santrifüj edilir.
- 13) 2 ml'lik toplama tüpünün içine spin column yerleştirilir.
- 14) Spin column'un içine 100 µl Activation Buffer eklenir.
- 15) 10.000 g'de 30 sn santrifüj edilir ve hızlıca diğer basamağa geçilir.
- 16) Süzülen uzaklaştırılır.
- 17) Süpernatant spin column'un içine pipetlenir.
- 18) 10.000 g'de 1 dk santrifüj edilir.
- 19) Süzülen uzaklaştırılır.
- 20) Spin column'un içine 500 µl Washing Buffer eklenir.
- 21) 10.000g'de 30 sn santrifüj edilir.
- 22) Süzülen uzaklaştırılır.
- 23) Spin column'un içine 500 µl Washing Buffer eklenir.
- 24) 10.000 g'de 30 sn santrifüj edilir.
- 25) Süzülen uzaklaştırılır.
- 26) Kalan Washing Buffer'ı uzaklaştırmak için 10.000 g'de 1 dk tekrar santrifüj edilir.
- 27) 2 ml'lik toplama tüpü atılır ve spin column eppendorf tüpe yerleştirilir.
- 28) Spin column'un merkezine 40-50 µl Elution Buffer eklenir.
- 29) 1 dk oda ısısında inkübe edilir.
- 30) 10.000 g'de 2 dk santrifüj edilir.
- 31) İzole edilen DNA 4°C'de saklanır.

3.2. PCR Protokolü

TIRAP rs8177374 (975C/T) polimorfizminin araştırılması için hedef diziler PCR ile çoğaltıldı.

Tablo 3.1. PCR Master Mix (1X)

Buffer (10X)	2,5 µl
MgCl ₂ (25mM)	1,5 µl
dNTP (2mM)	2 µl
Forward Primer (10pmol/µl)	1 µl
Reverse Primer (10pmol/µl)	1 µl
Genomik DNA (100ng/µl)	8 µl
Taq DNA Polimeraz (5U/µl)	0,2 µl
dH ₂ O	8,8 µl
Toplam Hacim	25 µl

1. Master mix tablosunda yer alan malzemelerin miktarları bir örnek için belirlenmiştir (Tablo 3).
2. Çalışılacak örnek sayısı ile çarpılarak toplam miktar belirlenir. Karışımın hazırlanacağı 1,5 ml lik ependorf tüpün içine ilk olarak su, devamında tampon (buffer) ve gerekli diğer bileşenler ilave edilir.
3. Karışıma en son Taq DNA Polimeraz eklenir.
4. Master mix'i 0,2 ml lik PCR tüplerine eşit oranlarda paylaşılır (17 µl).
5. Her birine DNA örnekleri ilave edilir.
6. Birkaç saniye süreyle maksimum hızda santrifüj yapılır (quick run).
7. Çalışmaya uygun programlanmış thermal cycler'a PCR tüpleri yerleştirildikten sonra cihaz çalıştırılır.

PCR Programı:

Başlangıç denatürasyonu 95°C 5 dk

Denatürasyon	95°C 30sn	} 35 döngü
Primerlerin bağlanması	56°C 30sn	
Zincirin uzaması	72°C 30sn	

Bitiş ekstansiyonu 72°C 2 dk

Bekleme 4°C

- Amplifikasyon işleminin ardından cihazdan çıkarılan PCR ürünleri bir sonraki RFLP analizi aşamasına geçmeden önce birkaç örnekle Etidyum Bromürlü %3 lük agaroz jel elektroforezinde kontrol edilir.
- 4 µl PCR ürünü, 4 µl yükleme tomponu ile beraber jele yüklenir ve 80 Volt'ta 40 dk yürütülür.
- UV altında beklenen bantların görülmesi üzerine RFLP analizi aşamasına geçilir.

3.3. RFLP Analizi

PCR ürünleri TIRAP 975C/T için Hpy 188I restriksiyon endonükleazıyla muamele edildi. Hpy 188I enzimlerinin kesim yapabilmesi için belirlenen gen bölgelerinde mismatch primer kullanılarak tek nükleotid değişimi gerçekleştirildi. Reverse primerin 5'→3' yönünde 19. pozisyonunda T nükleotiti ile mismatch primer hazırlandı. Gen dizisi, primerler ve enzim kesim bölgeleri ayrıntılı olarak aşağıda gösterilmiştir.

TIRAP rs8177374 (975C/T)

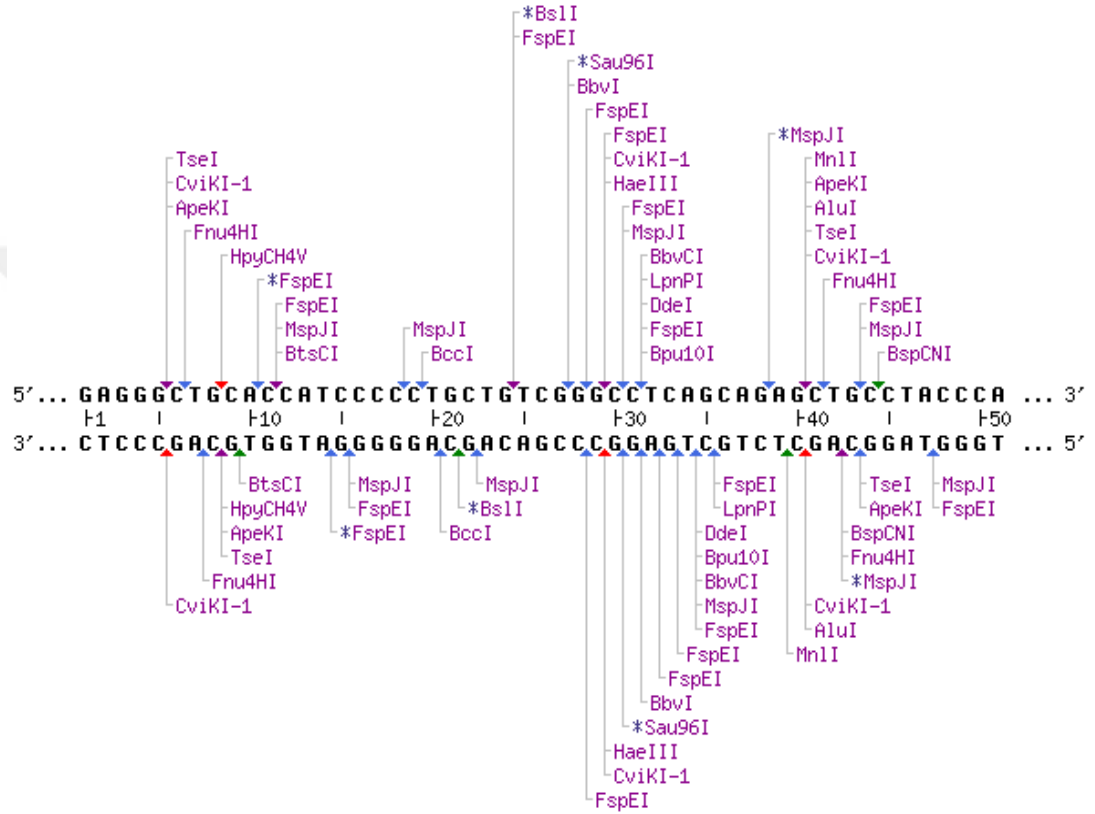
Forward primer: 5' TGCTCATCACGCCGGGCTTCCTT 3'

Reverse primer: 5' TAGGCAGCTCTGCTGAGGTCC 3'

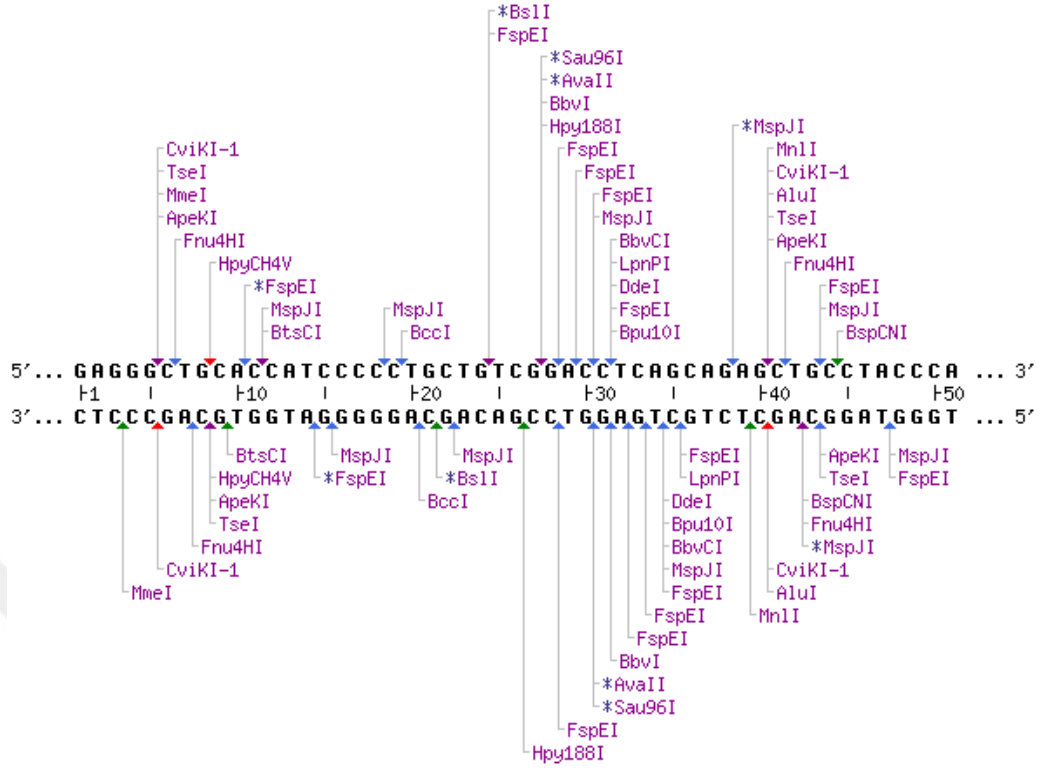
TGCTCATCACGCCGGGCTTCCTTCAGGACCCCTGGTGAAGTACCAGATG
 CTGCAGGCCCTGACCGAGGCTCCAGGGGCCGAGGGCTGCACCATC
 CCCCTGCTGT [C/T] GGGCCTCAGCAGAGCTGCCTA

Hpy 188I enzim kesim bölgesi

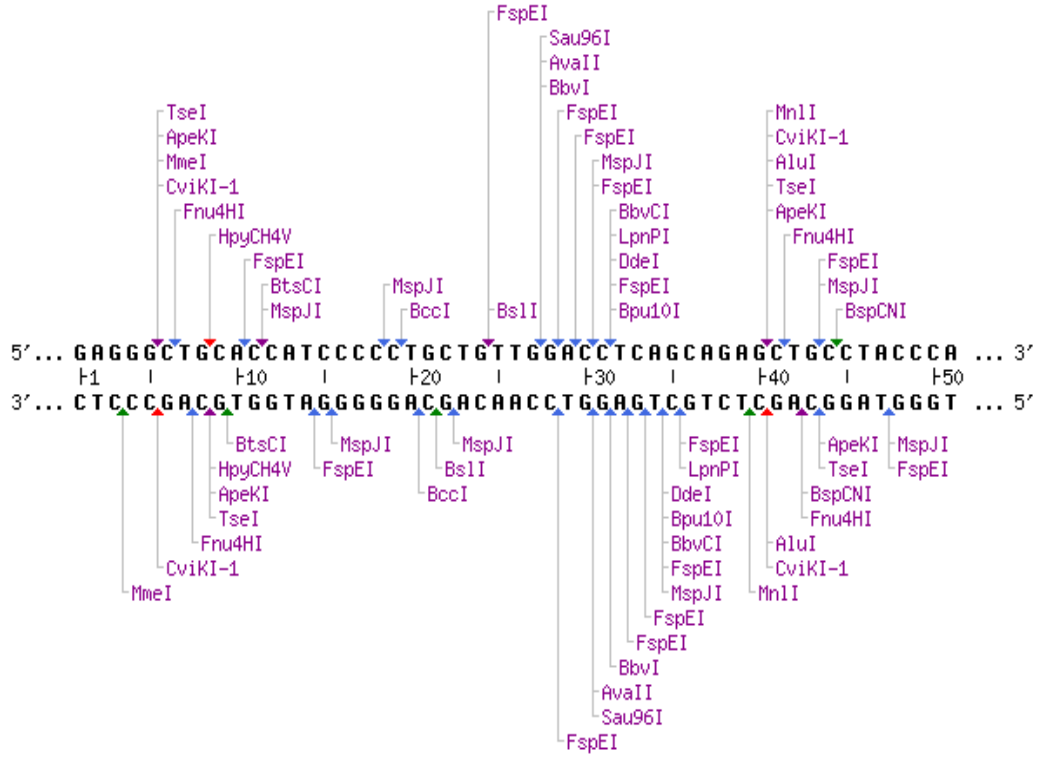
5'... TCNGA ... 3'
 3'... AGNCT ... 5'



Şekil 3.1. TIRAP rs8177374 (975C/T) gen dizisi ve enzim kesim bölgeleri



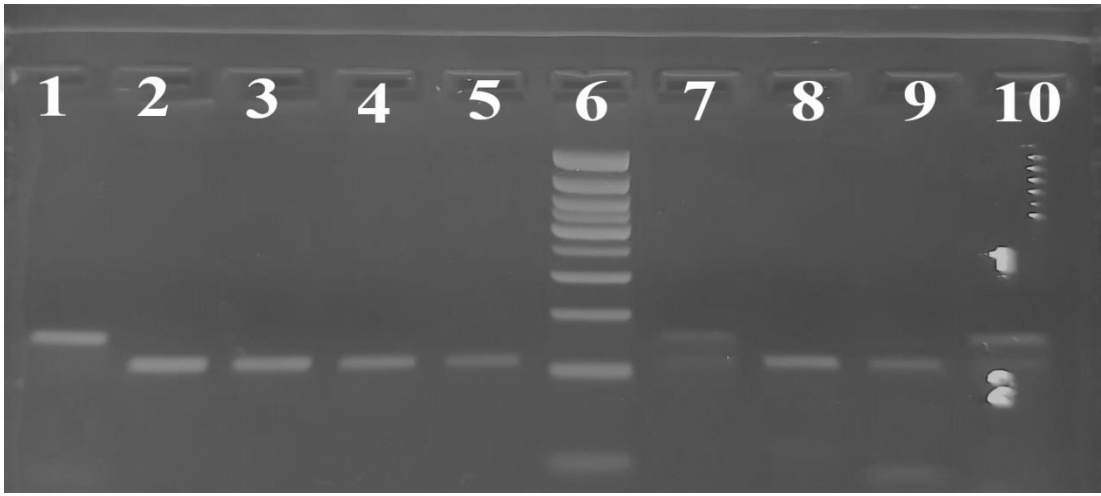
Şekil 3.2. Mismatch primer varlığında allel C ise: *Hpy 188I* tarafından kesilir.



Şekil 3.3. Mismatch primer varlığında allel T ise: *Hpy 188I* tarafından kesim olmaz.

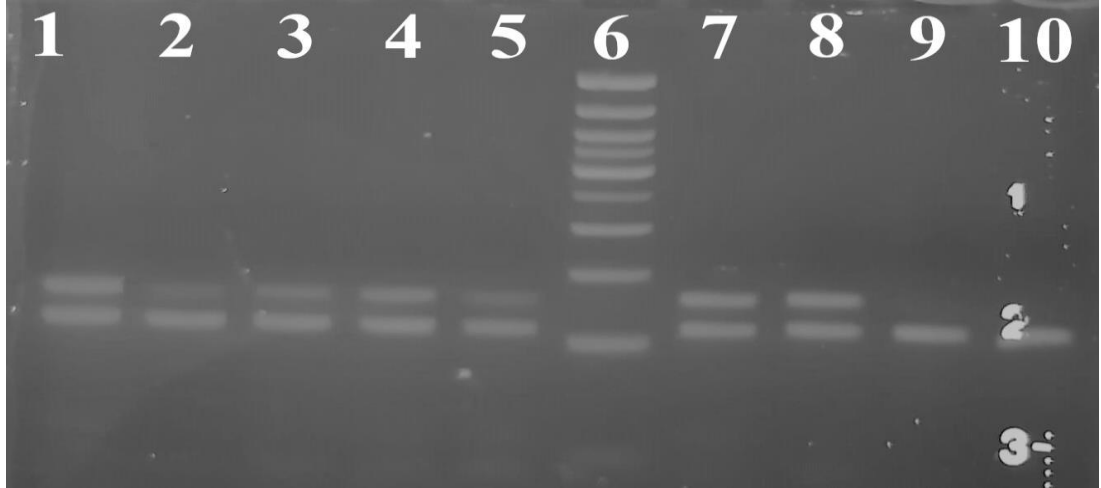
4. BULGULAR

TIRAP rs8177374 (975C/T) gen bölgesini hedef alan PCR ürünleri 127 bp uzunluğunda olup *Hpy* 188I restriksiyon endonükleazı kullanılarak yapılan RFLP analizi sonucunda polimorfik bölgede allel C ise enzim kesimi gerçekleşir ve 20 bp + 107 bp lik bantlar elde edilir. Eğer polimorfik bölgedeki allel T ise enzim kesimi olmayacağından 127 bp uzunluğundaki bantlar görülür. Heterozigot bireylerde hem T hem C alleli mevcut olduğundan sırayla 107 bp ve 127 bp lik bantlar elde edilir (Resim 3 ve Resim 4).



Resim 4.1. Parkinson Hasta Grubu RFLP elektroforez jel görüntüleri

1. Homozigot Polimorfik
2. Homozigot Normal
3. Homozigot Normal
4. Homozigot Normal
5. Homozigot Normal
6. 50bp DNA Ladder
7. Heterozigot
8. Homozigot Normal
9. Homozigot Normal
10. Heterozigot



Resim 4.2. Kontrol Grubu RFLP elektroforez jel görüntüleri

1. Heterozigot 2. Heterozigot 3. Heterozigot 4. Heterozigot 5. Heterozigot
6. 50bp DNA Ladder 7. Heterozigot 8. Heterozigot 9. Homozigot Normal 10.
Homozigot Normal

Resim 4 ve Resim 5’da bir kısmı gösterildiği gibi bütün örneklerin RFLP sonucu agaroz jel elektroforezinde yürütüldü ve elde edilen bulgular kaydedildi (Tablo 4).

Tablo 4.1. Çalışmada kullanılan örneklerin genotip dağılımı

C-T	Homozigot normal (CC)	Heterozigot (CT)	Homozigot polimorfik (TT)
Parkinson (n=39)	23	15	1
Kontrol (n=40)	24	16	0

4.1. TIRAP 975C/T Genotip ve Allel Frekansları

Allel frekansı (p)= ((2xhomozigot)+ heterozigot) / (2xN)

N= toplam birey sayısı

Allel frekansı yukarıda verilen formüle göre hesaplanmıştır.

Tablo 4.2. TIRAP 975C/T polimorfizminin vaka ve kontrol gruplarında genotip frekansları, allel frekansları ve Hardy-Weinberg dengesi testi

	Vaka (n=39)	Kontrol (n=40)
Genotip frekansları		
CC	23 (%58,97)	24 (% 60)
CT	15 (%38,46)	16 (%40)
TT	1 (% 2,56)	0 (%0)
Allel Frekansları		
C alleli	0,782	0,800
T alleli	0,218	0,200
Hardy-weinberg dengesi testi		
F-inbreeding coefficient	0,128	0,250
P-Pearson's goodness of fit \times^2 (DF=1)	0,423	0,113
P-Log likelihood ratio \times^2 (DF=1)	0,398	0,044
P exact test	0,655	0,312

Tablo 5'te genotip ve allel frekansları gösterilmektedir. Genotip frekansları sırasıyla CC, CT, TT için vaka gruplarında %58,97, %38,46 ve %2,56 olarak, kontrol grubunda ise %60, %40 ve %0 olarak bulundu. TT genotipi vaka grubunda sadece bir kişide gözlenirken kontrol grubunda hiç görülmemiş, T allel frekansı vaka grubunda 0,218 kontrol grubunda ise 0,200 şeklinde her iki grupta birbirine yakın bulunmuştur. C allel frekansı ve CC genotip frekansı her iki grupta da yüksek bulunmuştur.

Hardy-Weinberg equilibrium (HWE) analizinde yapılan P-Pearson's goodness of fit chi square ve P-exact test sonuçlarında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmazken ($p>0,05$), Hardy-Weinberg equilibrium (HWE) analizindeki bir diğer test olan P-log likelihood ratio chi square testi kontrol grubunda $P<0,05$ olarak bulunmuştur. Aynı zamanda akrabalık sabiti F (sabitlenme istatistiği) değeri de belirlendi. Akrabalık sabiti değeri vaka ve kontrol grubunda sırayla 0,12825 ve 0,25000 olarak bulundu. Akraba evliliği katsayısı popülasyondaki heterozigosite düzeyini, heterozigotlardaki azalmanın HWE ile değerlendirilen seviyelere göre ölçülmesini tanımlamaktadır. Akraba evliliği katsayısı F değeri kontrol grubuna göre hasta grubunda daha düşük bulunmuştur.

4.2. TIRAP 975C/T Polimorfizminin Hastalık ile İlişkisi

Tablo 4.3. TIRAP 975C/T polimorfizminin Parkinson ile ilişkisi için Odds Ratios (ORs) (T risk alleli)

	OR	%95 CI	X ²	P
C'ye göre T	1,115	0,517-2,402	0,08	0,781
CC'ye göre CT	0,978	0,395-2,424	0,00	0,962
CC'ye göre TT	3,128	0,121-80,684	1,02	0,312
CC'ye göre CT+TT (resesif model)	1,043	0,425-2,563	0,01	0,962

Tablo 4.4. TIRAP 975C/T polimorfizminin Parkinson ile ilişkisi için Odds Ratios (ORs) (C risk alleli)

	OR	%95 CI	X ²	P
T'ye göre C	0,897	0,416-1,933	0,08	0,781
TT'ye göre CT	0,313	0,012-8,279	1,03	0,309
TT'ye göre CC	0,320	0,012-8,248	1,02	0,312
CC+CT'ye göre TT (dominant model)	0,317	0,013-8,017	1,04	0,308

TIRAP 975C/T polimorfizminin muhtemelen hastalık ile ilişkisi değerlendirilerek OR'leri hesaplandı. Tablo 6'da T risk faktörü olarak, Tablo 7'de C risk faktörü olarak değerlendirme yapılmıştır. Tabloya göre 975C/T polimorfizminin hastalık riski üzerine herhangi bir etkisi görülmemektedir.

Tablo 4.5. Armitage's trend test sonucunda total OR=1,508 P=0,7582 olarak bulunmuştur.

Polimorfizm	Grup	Genotip			HWE (p değeri)	Minor allel frekansı (MAF)	Genetik model (OR/%95CI/Pdeğeri)				Armitage's trend test
		CC	CT	TT			C-T	CC-TT	CC, CT-TT	CC-CT, TT	
TIRAP 975C/T	Vaka (n=39)	23 (%58,97)	15 (%38,46)	1 (%2,56)	0,655	0,218	OR=1,115 CI=[0,517-2,402] P=0,781	OR=3,128 CI=[0,121-80,684] P=0,312	OR=1,043 CI=[0,425-2,563] P=0,926	OR=0,317 CI=[0,013-8,017] P=0,308	OR=1,508 P=0,7582
	Kontrol (n=40)	24 (%60)	16 (%40)	0	0,312	0,200					

Çalışmamızda, Parkinson hastalarının %41,02'sinde, kontrol grubunun ise %40'ında TIRAP 975C/T polimorfizmi belirlendi. Parkinson grubunda 15 kişi (%38,46) heterozigot T alleleline sahipken, 1 kişi (%2,56) homozigot T alleleline sahiptir. Kontrol grubunda ise 16 kişi (%40) heterozigot T alleleline sahiptir ve homozigot T alleleline sahip birey bulunmamaktadır. Hasta ve kontrol grupları arasında TIRAP 975C/T polimorfizminde genotip ve allel frekanslarında fark bulunmamıştır ($P=0,7582$).

Parkinson hastalarının %78,2 sinde C alleli ifade edilirken geri kalan kısmında T alleli ifade edilmektedir. Kontrol grubunda ise bu durum %80'inde C alleli , %20'sinde T alleli olarak görülmektedir.

Bu sonuçlar neticesinde çalışma grubumuzda istatistiki olarak allelik bir fark bulunmamıştır ($OR=1,115$, $CI=[0,517-2,402]$, $p=0,781$).

TIRAP 975C/T polimorfizminde TT homozigot model CC ile karşılaştırıldığında ($OR=3,128$ $CI=[0,121-80,684]$ $P=0,312$), CT-TT model CC ile karşılaştırıldığında $OR=1,043$, $CI=[0,425-2,563]$, $P=0,926$) ve son olarak TT model CC-CT ile karşılaştırıldığında $OR=0,317$, $CI=[0,013-8,017]$, $P=0,308$) istatistiki olarak önemli bir farklılık olmadığı belirlenmiştir.

Armitage's trend test sonucunda total $OR=1,508$ $P=0,7582$ olarak bulunmuştur. İstatistiki veri sonuçlarına göre TIRAP 975C/T polimorfizminde C alleli hastalık üzerinde herhangi bir koruyuculuk etkisine sahip değildir ve T alleli hastalık ile ilişkilendirilmemiştir.

5. TARTIŞMA

Nigro-striatal yolakta substantia nigra'nın pars kompakta'sında dopaminerjik nöronların dejenerasyonu PH neden olmaktadır (46). Parkinson hastalarında anormal protein katlanmaları ve endoplazmik retikulumdaki işlev bozukluğunun sebep olduğu Lewy body olarak adlandırılan inklüzyon cisimcikleri gösterilmiştir.

Toksik protein kalıntıları olan Lewy cisimcikleri α -sinüklein, sinfilin-1 ve ubiquitin gibi farklı proteinlerden oluşmaktadır (47-50). Üstelik sadece striatumda değil, arka beyinde, omurilikte, enterik sinir sisteminde de gösterilmiştir. Lewy cisimcikler ilk olarak periferde ortaya çıkar, sonrasında beyin sapına ve nihayetinde kortekste görülür (51).

Artan sayıda kanıtlar, sinir ve bağışıklık sisteminin sinerji halinde olduğunu ve geniş bir iletişimi sürdürdüğünü göstermektedir (52, 53). PH dışında, Alzheimer hastalığı, Lewy cisimcikli demans, myotrofik lateral skleroz, frontotemporal demans veya Huntington hastalığı gibi çok sayıda nörodejeneratif hastalığın değişmeyen ortak özelliği olan nöroinflamasyonun temelini oluşturan bu etkileşim olduğu görülür.

Yaşlanma, enfeksiyöz ajanlar (bakteri veya virüsler), ekzotoksinler (örneğin, pestisitler) veya çözünmeyen protein fibrillerinin (örneğin, alfa-sinüklein) birikmesiyle ilişkili immün yanıtların yetersiz şekilde düzenlenmesini içeren birçok nedene sahip olabilir (2).

PH'nın etiyolojisi çok faktörlüdür. Nöroinflamasyonu, nörodejeneratif süreçlerin temeli olarak gören hipotezler ışığında, bağışıklık sistemlerinin işlevsizliğine ek olarak genetik mutasyonların ve çevresel faktörlerin de PH'na sebep olanlar listesinde görülür. Ayrıca, nöroinflamasyonun temelinde otoimmünite, doğal ve hem hücresel hem de humoral adaptif immünitinin de katkısının olduğunu ileri süren çalışmalar mevcuttur (2).

Mikroglial hücreler, aktiveleştikten sonra sitokinler üreterek periferik kompartmanlardan MSS'ne makrofaj ve monositleri yönlendirir, PH hastalarında MSS içindeki çeşitli inflamatuvar ve immün süreçlerde değişikliğe yol açar. Otoimmüniteye neden olan olası etki mekanizması, enfekte duyuşal nöronlar üzerinde latent Herpes

Simpleks Virus-1'in yeniden aktivasyonu ve viral proteinlere homolog olan α -sinüklein fragmanlarını hedef alan antikörlerin üretilmesini içerir (2).

Nöral hücreler veya oligodendrositlerden salınan ekstraselüler yanlış katlanmış fibriller α -sinüklein, mikroglyal TLR2 (TLR1 ile heterodimer olarak) tarafından PAMP veya DAMP olarak tanımlanır. Bu da sırasıyla önce MyD88 ve NF- κ B'yi içeren sinyal yollarını aktive eder, ardından TNF ve IL-1 üretimini tetikler (54, 55). Ayrıca uygun lokalizasyonda ve zamana bağımlı bir şekilde TLR'lerin seçici ifadesini arttıırırlar (56).

TLR'ler, innate immünitinin aktivasyonunu ve adaptif immün cevabı tetikleyen enfeksiyonun sensörleri gibi fonksiyon görürler. TIRAP, TLR-4 sinyal yolağı üzerindeki adaptör bir proteindir. Horng ve arkadaşlarının çalışmasında, TIRAP eksik farelerde TLR-5, TLR-7 ve TLR-9 ligandlarına normal cevap gelişirken, TLR-4'ün ligandı olan lipopolisakkarite karşılık olarak, sitokin üretiminde ve NF- κ B, MAP kinaz aktivasyonunda defekt olduğu görülmüş. Ayrıca TIRAP eksik farelerde TLR-1, TLR-2 ve TLR-6'nın ligandlarına da verilen cevaplar bozulmuş. Böylece, TIRAP'ın TLR ailesi üyelerinin sinyal üzerinde farklı sonuçlara sebep olduğu gösterilmiştir (57).

TLR'ler, çeşitli patojenlerin belirli spesifik moleküler patternlerini tanır. TLR'lerin aracılığıyla oluşan sinyal yolağı, TIR domain ve ölüm domaini içeren MyD88 ile TLR'ler arasında, proinflamatuvar sitokinlerin üretimine sebep olan MyD88 bağımlı sinyal kaskatının oluşumunda bağlantı olduğu görülmüş. Fakat, son zamanlarda MyD88 kusurlu fareler kullanılarak yapılan çalışmalarda, TLR'lerin MyD88 bağımsız ve LPS uyarısına karşılık IFN- β üretimine sebep olan bir yolağa sahip oldukları ortaya çıkmıştır. Bu gösteriyor ki; TLR sinyal yolağında, MyD88'den başka sinyal ileten moleküller de mevcuttur. Gerçekten de, her bir TLR sinyaline spesifik biyolojik cevap veren TIRAP/MAL ve TRIF molekülleri, TIR domain içeren adaptör moleküller olarak tanımlanmıştır (58).

TIRAP polimorfizminin, LPS gibi PAMPs tarafından aktive edilen inflamatuvar yanıtı değiştirdiğini ileri süren Bechtel ve ekibi, wild-type ve TIRAP kusurlu fareler kullanarak yaptıkları çalışmalarında TIRAP eksikliğinin inflamatuvar yanıtı azalttığını göstermişlerdir (59).

MyD88 kusurlu farelerde sitokin üretimi engellenmesine rağmen, LPS'te yönelik bazı yanıtların IFN üretimine ve dentritik hücrelerin maturasyonuna sebep

olduğunu gözlemleyen Yamamoto ve arkadaşları MyD88 bağımsız yolda TIRAP molekülünün fonksiyon gördüğünü ileri sürmüşlerdir. Fakat TIRAP kusurlu farelerde yapılan çalışmalarında farklı sonuçlar elde etmişlerdir. Araştırma sonuçları TIRAP molekülünün, TLR-4 sinyaline spesifik olmadığını ve MyD88 bağımsız yolda yer almadığını göstermiştir. Ayrıca; TIRAP'ın, TLR-2 ve TLR-4'ün beraberce başlattıkları MyD88 bağımlı sinyal yolağında kritik rol aldığını da ortaya koymuşlardır (60).

İnhale endotoksinler; havayollarında, TLR-4 ve MyD88 aracılığı ile akut inflamatuvar yanıtı indüklerler. Ancak, TLR-4 sinyal yolağı üzerindeki adaptör proteinler TIRAP ve TRIF ayrıca MyD88 bağımlı IL-1 ve IL-18 reseptör yollarında bu yanıtın belirsiz olduğunu ileri süren Togbe ve arkadaşları, yapmış oldukları çalışmada endotoksinle indüklenen inflamasyon sonucu akut bronkokonstriksiyonu ve protein kaçağına sebep olan vasküler hasarı göstermişlerdir. Araştırmada TIRAP ve MyD88 eksik farelerin havayollarında, T-helper 1 sitokin ve kemokin sekresyonu ve nötrofillerin katılımı engellenmiş fakat TRIF eksik farelerde bu engellenen süreç gözlenmemiştir. Sonuç itibarıyla; inhale endotoksinler tarafından uyarılan, TLR-4 aracılı bronkokonstriksiyon ve akut inflamatuvar akciğer patolojisi, hem TIRAP hem de MyD88 adaptör proteinlerin ekspresyonuna ve kooperasyonuna bağlıdır. Oysa ki bu durum; TRIF, IL-1 ve IL-18 reseptör yollarında söz konusu değildir (61).

Mikroglial aktivasyon, birçok MSS patolojilerinin gelişiminde ve yeniden doku yapılımasında önemli rol oynar ve mikroglial aktivasyon için TLR-4 sinyalizasyonu gereklidir. TIRAP ise TLR-4 sinyalizasyonunun erken fazından sorumlu intraselüler adaptör proteindir ve mikroglial aktivasyondaki görevi tam olarak anlayamamıştır. Bunun üzerine; Gong ve arkadaşları çalışmalarında, LPS ve IFN- γ ile muamele edilen mikroglialarda TIRAP molekülünün ekspresyonunda fazlaca artış olduğunu göstermiştir. TIRAP'ın aşırı ekspresyonu, mikroglialarda IL-6, IL-1 β , TNF- α gibi sitokinlerin üretimini de tetiklemiştir. Öyle ki; TIRAP eksikliğinde bu proinflamatuvar sitokinlerin üretimi engellenmiştir (62).

Sıtma (Malarya) enfeksiyonu görülen hastalarda, Rani ve ekibi TIRAP 975C/T (rs8177374) polimorfizmini araştırdıkları çalışmalarında hastalığın şiddetiyle anlamlı genotipik farklılık olduğunu ortaya koymuşlardır. Heterozigot CT genotipi, sıtma

enfeksiyonuna yatkınlık oluşturup hafif derecede enfeksiyon görülürken, CC genotipe sahip hastalarda şiddetli enfeksiyon gözlemlenmiştir. Sıtma etkenlerinden biri olan *Plasmodium vivax* bulaşı, CT genotipini taşıyan bireylerde, diğer genotipe sahip olanlara göre daha yüksek oranda görülmüş (63).

Selvaraj ve ark. akciğer tüberkülozlu hastalarda TLR ve TIRAP gen polimorfizmlerinin hastalık üzerinde duyarlılık ve direnç yönünden etkisini incelemiştir. Güney Hindistan'da yapılan çalışmalarının sonucunda çeşitli TLR genlerinin allel ve genotip frekansları, sağlıklı kontrol grubu ile hasta grup arasında anlamlı farklılık göstermemiştir. Fakat; TIRAP 975C/T (Ser180Leu) polimorfizminin T allel frekansı, akciğer tüberkülozlu hasta grubuyla sağlıklı kontroller karşılaştırıldığında önemli düzeyde (p:0,026) yüksek çıkmıştır. Hastalarda TT genotipinin daha yaygın olduğu belirlenmiş olup bu polimorfizmin hastalık üzerinde duyarlı olabileceği öne sürülmüştür (64).

Güneydoğu İran popülasyonunda, Naderi ve ekibi, akciğer tüberkülozu için TIRAP rs8177374 gen polimorfizminin hastalık üzerine duyarlılığını araştırmışlardır. Bu polimorfizm için kontrol grubu ile akciğer tüberkülozu tanımlı hastalar arasında anlamlı düzeyde farklılık belirlenmiştir. Öyle ki; hastalığın gelişiminde heterozigot genotip risk faktörü olarak değerlendirilmiştir (40).

Fakat, daha önceden Khor ve arkadaşları, Batı Afrika ve Cezayirli popülasyonlarda yaptıkları çalışmalarında akciğer tüberkülozu ile TIRAP rs8177374 gen polimorfizminin ilişkisinin heterozigot genotipi ile düşük riskli olduğunu raporlamışlardır. Yine, Nejentsev ve arkadaşları da Rus, Ganalı ve Endonezyalı bireylerde aynı hastalık için TIRAP S180L varyantının duyarlı olmadığını ileri sürmüşlerdir (40). Ayrıca, Miao ve ekibinin yaptığı bir meta-analizde, TIRAP S180L polimorfizminin tüberküloz ile ilişkili olmadığı rapor edilmiştir (65).

Doğal immün sistem sinyal yollarındaki genetik varyasyonların preterm doğum üzerindeki etkilerini araştırmak isteyen Karody ve arkadaşları, çalışmalarında TLR sinyal yolağı üzerindeki adaptör molekül olan TIRAP'ın rs8177374 polimorfizminin 32 haftadan küçük preterm doğumlardan koruduğunu ileri sürmüşlerdir (66).

Değirmenci ve arkadaşları yaptıkları çalışmada; Tip-2 diyabet ve insülin direncinde, TLR-4 ve sinyal yolağı üzerindeki TIRAP ve IRAK1 adaptor moleküllerin genetik varyasyonlarını araştırmak üzere 7 farklı polimorfizmi araştırmışlardır. Bu polimorfizmlerden biri de bu tez çalışmasında olduğu gibi TIRAP rs8177374 polimorfizmidir ve polimorfizmlerin tip-2 diyabet ile korele olmadığı sonucuna ulaşmışlardır. Ayrıca çalışmada, bazı proinflatuar sitokinlerin de Eliza yöntemiyle miktar tayinleri yapılmış olup, TLR-4, TIRAP ve IRAK1'in genetik varyasyonlarının proinflatuar sitokin seviyeleri ile ilişkili olduğu saptanmıştır (67).

TIRAP ve MyD88 ile *Helicobacter pylori* enfeksiyonunun ilişkisini araştıran Fulgione ve arkadaşları, TIRAP ve MyD88'i ayrı ayrı analiz etmişlerdir. MyD88'in, *Helicobacter pylori* enfeksiyonu ile korelasyonu saptanamamışken; TIRAP rs8177374 polimorfizminin heterozigot formu (CT), enfeksiyona karşı dirençlilik kazandırdığı belirlenmiştir. Bunun yanında, TIRAP ve MyD88'in birlikte fonksiyonu konağın *Helicobacter pylori* kolonizasyonuna karşı daha etkili olduğunu göstermiştir (68).

Parkinson hastaları ve sağlıklı kontrol grubu ile yaptığımız bu tez çalışmasında; T allel frekansı ve TT genotip frekansı her iki grupta da oldukça düşükken, C alleli ve CC genotipi ise gruplarda daha yaygınca yer almaktaydı ve yine frekans değerleri de birbirlerine yakın belirlendi. Bu durumda, TIRAP 975C/T (Ser180Leu) polimorfizminin Parkinson hastalığına yatkınlık oluşturması söz konusu değildir. Öte yandan hastalıktan koruyuculuğu da yoktur.

Isparta ili ve çevresinde bulunan Parkinson hastalarını ve sağlıklı kontrolleri içeren bireylerden oluşan çalışmamız, kısıtlı bölgede olmasından ve sayısal olarak daha az sayıda hasta bireye ulaşabilmemizden dolayı anlamlı bir sonuç elde edememiş olmamıza sebep olabilir.

TIRAP rs8177374 polimorfizminin, Parkinson hastalığı ile ilişkisi daha önce tartışılmamış olup bu tez çalışmamızda nöroinflamasyon ile bağlantısı araştırılmıştır. TIRAP rs8177374 polimorfizminde, C nükleotidi varlığında proteinde 180. pozisyonda serin aminoasidi mevcutken, T nükleotidi için lösin aminoasidi yer almaktadır. Serin aminoasidinin lösin ile değişimi, sinyal yolağında TIRAP fonksiyon kaybına ve NF-κB sinyalizasyonunda bozulmaya sebep olmaktadır (40).

Çalışmamızda, Parkinson hastalığı için S180L varyantının hastalık üzerindeki etkisini anlamlı bulamadık.

TIRAP 975C/T (Ser180Leu) polimorfizminin, aynı hastalık gruplarında farklı popülasyonlarda hastalık üzerine duyarlılığının değişik düzeyde olması; etnik, genetik, çevresel, konak-patojen etkileşiminin değişken olmasından kaynaklandığını düşündürmektedir.



6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Parkinson hastalığı, bazal gangliyonlardaki dopaminerjik nöronların kaybı ile klinik veren ilerleyici nörodejeneratif bir hareket hastalığıdır.

Hem bağırsakta hem de beyinde nöral devreleri ve immün aracılı süreçleri etkileyen çok yönlü bir TLR sinyalizasyon ağının varlığını kanıtlayan çalışmalar mevcuttur.

TLR'lerin nöroinflamasyonla ilişkisi, PH patolojisine yeni bakış açıları getirilmesine yardımcı olabilir, bunun yanı sıra farmakolojik veya diyetel yaklaşımlar gibi yeni terapötik stratejilere yol açabilir.

Günümüzde, birçok hastalığın tedavisinde hedefe yönelik moleküller yer almaktadır. Özellikle dirençli olguların spesifik ajanlara olumlu yanıt vermesi, bu alanda daha çok araştırma yapmaya sevk etmektedir.

Hastalıkların patogenezleriyle ilişkili sinyal yollarının ve bu yollar üzerindeki moleküllerin varyasyonlarının bilinmesi hedefe yönelik tedavilerin geliştirilmesine olanak sağlayacaktır.

Gelecekteki çalışmalar, TIRAP 975C/T (Ser180Leu) polimorfizmi ile Parkinson hastalığında nöroinflamasyonun gelişiminde, doğal immüntenin rolünü anlamamıza yardımcı olabilir.

KAYNAKLAR

1. Adams RD, Victor M, Ropper AH, Daroff RB. Principles of neurology. LWW; 1997.
2. Sechi LA, Caggiu E, Arru G. Inflammation, infectious triggers and Parkinson disease. *Frontiers in Neurology*. 2019;10:122.
3. Houser MC, Tansey MG. The gut-brain axis: is intestinal inflammation a silent driver of Parkinson's disease pathogenesis? *npj Parkinson's Disease*. 2017;3(1):3.
4. Schatz DG, Ji Y. Recombination centres and the orchestration of V (D) J recombination. *Nature Reviews Immunology*. 2011;11(4):251.
5. Drouin-Ouellet J, Cicchetti F. Inflammation and neurodegeneration: the story 'retolled'. *Trends in pharmacological sciences*. 2012;33(10):542-51.
6. Parkinson J. An essay on the shaking palsy (Printed by Whittingham and Rowland for Sherwood, Neely, and Jones). London; 1817.
7. Fasano A, Visanji NP, Liu LW, Lang AE, Pfeiffer RF. Gastrointestinal dysfunction in Parkinson's disease. *The Lancet Neurology*. 2015;14(6):625-39.
8. Ham RJ. Primary care geriatrics: a case-based approach: Elsevier Health Sciences; 2007.
9. Beach TG, Adler CH, Sue LI, Vedders L, Lue L, White III CL, et al. Multi-organ distribution of phosphorylated α -synuclein histopathology in subjects with Lewy body disorders. *Acta neuropathologica*. 2010;119(6):689-702.
10. Braak H, Sastre M, Bohl JR, de Vos RA, Del Tredici K. Parkinson's disease: lesions in dorsal horn layer I, involvement of parasympathetic and sympathetic pre-and postganglionic neurons. *Acta neuropathologica*. 2007;113(4):421-9.
11. Kalia LV, Lang AE. Parkinson disease in 2015: evolving basic, pathological and clinical concepts in PD. *Nature reviews Neurology*. 2016;12(2):65.
12. Sarkar S, Raymick J, Imam S. Neuroprotective and therapeutic strategies against Parkinson's disease: recent perspectives. *International journal of molecular sciences*. 2016;17(6):904.
13. Mogi M, Harada M, Kondo T, Riederer P, Inagaki H, Minami M, et al. Interleukin-1 β , interleukin-6, epidermal growth factor and transforming growth factor- α are elevated in the brain from parkinsonian patients. *Neuroscience letters*. 1994;180(2):147-50.
14. Mogi M, Harada M, Riederer P, Narabayashi H, Fujita K, Nagatsu T. Tumor necrosis factor- α (TNF- α) increases both in the brain and in the cerebrospinal fluid from parkinsonian patients. *Neuroscience letters*. 1994;165(1-2):208-10.
15. Tansey MG, McCoy MK, Frank-Cannon TC. Neuroinflammatory mechanisms in Parkinson's disease: potential environmental triggers, pathways, and targets for early therapeutic intervention. *Experimental neurology*. 2007;208(1):1-25.

16. Reynolds AD, Banerjee R, Liu J, Gendelman HE, Lee Mosley R. Neuroprotective activities of CD4+ CD25+ regulatory T cells in an animal model of Parkinson's disease. *Journal of leukocyte biology*. 2007;82(5):1083-94.
17. Reynolds AD, Glanzer JG, Kadiu I, Ricardo-Dukelow M, Chaudhuri A, Ciborowski P, et al. Nitrated alpha-synuclein-activated microglial profiling for Parkinson's disease. *Journal of neurochemistry*. 2008;104(6):1504-25.
18. Reynolds AD, Kadiu I, Garg SK, Glanzer JG, Nordgren T, Ciborowski P, et al. Nitrated alpha-synuclein and microglial neuroregulatory activities. *Journal of Neuroimmune Pharmacology*. 2008;3(2):59-74.
19. Zhang W, Wang T, Pei Z, Miller DS, Wu X, Block ML, et al. Aggregated α -synuclein activates microglia: a process leading to disease progression in Parkinson's disease. *The FASEB Journal*. 2005;19(6):533-42.
20. Esposito E, Di Matteo V, Benigno A, Pierucci M, Crescimanno G, Di Giovanni G. Non-steroidal anti-inflammatory drugs in Parkinson's disease. *Experimental neurology*. 2007;205(2):295-312.
21. Yılmaz İ. Nöroprotektif tedavide yeni bir ilaç hedefi: İkinci jenerasyon tetrasiklinler. *SDÜ Tıp Fakültesi Dergisi*. 2007;14(1):47-52.
22. Carlsson A, Lindqvist M, Magnusson T. 3, 4-Dihydroxyphenylalanine and 5-hydroxytryptophan as reserpine antagonists. *Nature*. 1957;180(4596):1200.
23. CARLSSON A, WALDECK B. A fluorimetric method for the determination of dopamine (3-hydroxytyramine.). *Acta physiologica scandinavica*. 1958;44(3-4):293-8.
24. Godwin-Austen R, Smith N. Comparison of the effects of bromocriptine and levodopa in Parkinson's disease. *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry*. 1977;40(5):479-82.
25. Cotzias GC, Papavasiliou PS, Gellene R. Modification of Parkinsonism—chronic treatment with L-dopa. *New England Journal of Medicine*. 1969;280(7):337-45.
26. Simuni T, Jaggi JL, Mulholland H, Hurtig HI, Colcher A, Siderowf AD, et al. Bilateral stimulation of the subthalamic nucleus in patients with Parkinson disease: a study of efficacy and safety. *Journal of neurosurgery*. 2002;96(4):666-72.
27. Schapira AH. Etiology and pathogenesis of Parkinson disease. *Neurologic clinics*. 2009;27(3):583-603.
28. Schapira AH. Molecular and clinical pathways to neuroprotection of dopaminergic drugs in Parkinson disease. *Neurology*. 2009;72(7 Supplement 2):S44-S50.
29. Siderowf A, Stern MB. Preclinical diagnosis of Parkinson's disease: are we there yet? *Current neurology and neuroscience reports*. 2006;6(4):295-301.
30. Shah E, Rezaie A, Riddle M, Pimentel M. Psychological disorders in gastrointestinal disease: epiphenomenon, cause or consequence? *Annals of Gastroenterology: Quarterly Publication of the Hellenic Society of Gastroenterology*. 2014;27(3):224.

31. Fadgyas-Stanculete M, Buga A-M, Popa-Wagner A, Dumitrascu DL. The relationship between irritable bowel syndrome and psychiatric disorders: from molecular changes to clinical manifestations. *Journal of molecular psychiatry*. 2014;2(1):4.
32. Tuğrul T, Ersoy F. Dostu düümanı ayıran bir doğal immünite bileşeni: toll-like reseptörler (TLR). *Acta Medica*. 2004;35(2):114-8.
33. Broz P, Monack DM. Newly described pattern recognition receptors team up against intracellular pathogens. *Nature Reviews Immunology*. 2013;13(8):551.
34. Janeway Jr CA, Medzhitov R. Innate immune recognition. *Annual review of immunology*. 2002;20(1):197-216.
35. Medzhitov R, Janeway Jr C. Innate immunity. *New England Journal of Medicine*. 2000;343(5):338-44.
36. Underhill DM, Ozinsky A. Toll-like receptors: key mediators of microbe detection. *Current opinion in immunology*. 2002;14(1):103-10.
37. İnci A, Bişkin Z. Toll-like reseptörler ve protozoon Enfeksiyonlarındaki rolleri. *Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*. 2007;4(2):121-9.
38. Takeuchi O, Akira S. Toll-like receptors; their physiological role and signal transduction system. *International immunopharmacology*. 2001;1(4):625-35.
39. Uthaisangsook S, Day NK, Bahna SL, Good RA, Haraguchi S. Innate immunity and its role against infections. *Annals of Allergy, Asthma & Immunology*. 2002;88(3):253-65.
40. Naderi M, Hashemi M, Pourmontaseri Z, Eskandari-Nasab E, Bahari G, Taheri M. TIRAP rs8177374 gene polymorphism increased the risk of pulmonary tuberculosis in Zahedan, southeast Iran. *Asian Pacific journal of tropical medicine*. 2014;7(6):451-5.
41. Akira S, Takeda K. Toll-like receptor signalling. *Nature reviews immunology*. 2004;4(7):499-511.
42. Bonizzi G, Karin M. The two NF- κ B activation pathways and their role in innate and adaptive immunity. *Trends in immunology*. 2004;25(6):280-8.
43. Muzio M, Polentarutti N, Bosisio D, Kumar PM, Mantovani A. Toll-like receptor family and signalling pathway. *Biochemical Society Transactions*. 2000;28(5):563-6.
44. Takeda K, Akira S. Toll-like receptors in innate immunity. *International immunology*. 2005;17(1):1-14.
45. Yamamoto M, Sato S, Hemmi H, Hoshino K, Kaisho T, Sanjo H, et al. Role of adaptor TRIF in the MyD88-independent toll-like receptor signaling pathway. *Science*. 2003;301(5633):640-3.
46. Wirdefeldt K, Adami H-O, Cole P, Trichopoulos D, Mandel J. Epidemiology and etiology of Parkinson's disease: a review of the evidence. *European journal of epidemiology*. 2011;26(1):1.

47. Irizarry MC, Growdon W, Gomez-Isla T, Newell K, George JM, Clayton DF, et al. Nigral and cortical Lewy bodies and dystrophic nigral neurites in Parkinson's disease and cortical Lewy body disease contain α -synuclein immunoreactivity. *Journal of Neuropathology & Experimental Neurology*. 1998;57(4):334-7.
48. Spillantini MG, Crowther RA, Jakes R, Hasegawa M, Goedert M. α -Synuclein in filamentous inclusions of Lewy bodies from Parkinson's disease and dementia with Lewy bodies. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 1998;95(11):6469-73.
49. Wakabayashi K, Engelender S, Yoshimoto M, Tsuji S, Ross CA, Takahashi H. Synphilin-1 is present in Lewy bodies in Parkinson's disease. *Annals of Neurology: Official Journal of the American Neurological Association and the Child Neurology Society*. 2000;47(4):521-3.
50. Kuzuhara S, Mori H, Izumiyama N, Yoshimura M, Ihara Y. Lewy bodies are ubiquitinated. *Acta neuropathologica*. 1988;75(4):345-53.
51. Braak H, Del Tredici K, Rüb U, De Vos RA, Steur ENJ, Braak E. Staging of brain pathology related to sporadic Parkinson's disease. *Neurobiology of aging*. 2003;24(2):197-211.
52. Amor S, Woodroffe MN. Innate and adaptive immune responses in neurodegeneration and repair. *Immunology*. 2014;141(3):287-91.
53. Cardoso V, Chesné J, Ribeiro H, García-Cassani B, Carvalho T, Bouchery T, et al. Neuronal regulation of type 2 innate lymphoid cells via neuromedin U. *Nature*. 2017;549(7671):277.
54. Kim C, Ho D-H, Suk J-E, You S, Michael S, Kang J, et al. Neuron-released oligomeric α -synuclein is an endogenous agonist of TLR2 for paracrine activation of microglia. *Nature communications*. 2013;4:1562.
55. Daniele SG, Béraud D, Davenport C, Cheng K, Yin H, Maguire-Zeiss KA. Activation of MyD88-dependent TLR1/2 signaling by misfolded α -synuclein, a protein linked to neurodegenerative disorders. *Sci Signal*. 2015;8(376):ra45-ra.
56. Béraud D, Maguire-Zeiss KA. Misfolded α -synuclein and Toll-like receptors: therapeutic targets for Parkinson's disease. *Parkinsonism & related disorders*. 2012;18:S17-S20.
57. Horng T, Barton GM, Flavell RA, Medzhitov R. The adaptor molecule TIRAP provides signalling specificity for Toll-like receptors. *Nature*. 2002;420(6913):329.
58. Yamamoto M, Takeda K, Akira S. TIR domain-containing adaptors define the specificity of TLR signaling. *Molecular immunology*. 2004;40(12):861-8.
59. Bechtel CP, Gebhart JJ, Tatro JM, Kiss-Toth E, Wilkinson JM, Greenfield EM. Particle-induced osteolysis is mediated by TIRAP/Mal in vitro and in vivo: dependence on adherent pathogen-associated molecular patterns. *JBJS*. 2016;98(4):285-94.
60. Yamamoto M, Sato S, Hemmi H, Sanjo H, Uematsu S, Kaisho T, et al. Essential role for TIRAP in activation of the signalling cascade shared by TLR2 and TLR4. *Nature*. 2002;420(6913):324.

61. Togbe D, Aurore G, Noulin N, Quesniaux VF, Schnyder-Candrian S, Schnyder B, et al. Nonredundant roles of TIRAP and MyD88 in airway response to endotoxin, independent of TRIF, IL-1 and IL-18 pathways. *Laboratory investigation*. 2006;86(11):1126.
62. Gong L, Wang H, Sun X, Liu C, Duan C, Cai R, et al. Toll-Interleukin 1 Receptor domain-containing adaptor protein positively regulates BV 2 cell M1 polarization. *European Journal of Neuroscience*. 2016;43(12):1674-82.
63. Rani A, Nawaz SK, Irfan S, Arshad M, Bashir R, Shaheen N. Role of MyD88-adaptor-like gene polymorphism rs8177374 in modulation of malaria severity in the Pakistani population. *The Brazilian Journal of Infectious Diseases*. 2017;21(4):418-23.
64. Selvaraj P, Harishankar M, Singh B, Jawahar M, Banurekha V. Toll-like receptor and TIRAP gene polymorphisms in pulmonary tuberculosis patients of South India. *Tuberculosis*. 2010;90(5):306-10.
65. Miao R, Li J, Sun Z, Xu F, Shen H. Meta-analysis on the association of TIRAP S180L variant and tuberculosis susceptibility. *Tuberculosis*. 2011;91(3):268-72.
66. Karody V, Le M, Nelson S, Meskin K, Klemm S, Simpson P, et al. A TIR domain receptor-associated protein (TIRAP) variant SNP (rs8177374) confers protection against premature birth. *Journal of Perinatology*. 2013;33(5):341.
67. Degirmenci I, Ozbayer C, Kebapci MN, Kurt H, Colak E, Gunes HV. Common variants of genes encoding TLR4 and TLR4 pathway members TIRAP and IRAK1 are effective on MCP1, IL6, IL1 β , and TNF α levels in type 2 diabetes and insulin resistance. *Inflammation Research*. 2019:1-14.
68. Fulgione A, Di Matteo A, Contaldi F, Manco R, Ianniello F, Incerti G, et al. Epistatic interaction between MyD88 and TIRAP against *Helicobacter pylori*. *FEBS letters*. 2016;590(14):2127-37.

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Merve KIR

11.09.1990 - Osmancık

507 301 2512

mervekir90@gmail.com

EĞİTİM DURUMU

Abdullah Tayyip Olçok Anadolu Lisesi	2004-2008
Haliç Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü (Tam Burslu)	2008-2012
Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi	2012-2018
Süleyman Demirel Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Biyoloji AD Tezli Yüksek Lisans	2014-
Hitit Üniversitesi Tıp Fakültesi Aile Hekimliği AD Araştırma Görevlisi	2018-

İŞ DENEYİMİ

Mecitözü İlçe Devlet Hastanesi Acil Servis Pratisyen Hekim	Ekim-Aralık 2018
Hitit Üniversitesi Erol Olçok Eğitim Araştırma Hastanesi Aile Hekimliği AD Asistan Hekim	Aralık 2018-