

SEPSİSTE TOLL-BENZERİ RESEPTÖR-2'NİN ROLÜNÜN İNCELENMESİ

ANALYSIS OF TOLL-LIKE RECEPTOR-2 IN SEPSIS

E. Hande Karagedik¹, Nazan Atalan², Leyla Acar¹, H. Arzu Ergen¹

1 İstanbul Üniversitesi Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü Moleküler Tıp AD, Çapa-Fatih/İstanbul

2 Dr. Siyami Ersek Kalp Damar ve Göğüs Cerrahisi Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Anestezi ve Reanimasyon Kliniği, Kadıköy/İstanbul

ÖZET

Sepsis; enfeksiyona karşı verilen sistemik enflamatuvar yanıt olarak tanımlanmaktadır. Yapılan araştırmalarda dokularda oluşan enfeksiyon ve travmatik hasar sonucu vücutta hümmoral sistemin aktive olduğu ve çeşitli sitokinlerin salındığı gösterilmiştir. Toll-like reseptörler (TLR), birçok patojene karşı doğal immün cevabın oluşmasını sağlayan bir transmembran proteinidir. Aynı zamanda edinsel immün cevabın da aktive olmasını sağlayarak konak immünitesinde çok önemli role sahiptir. İmmün sistem, doğal ve edinsel olarak ayrılan iki kısımda incelenebilen bir savunma sistemidir. Bu ailenin bir üyesi olan TLR-2 peptidoglikan, lipoteikoik asit, gram-pozitif LPS ve bir grup gram-pozitif makromolekül ile bağlanıp cevap verebilmektedir. Çalışmamızda TLR-2 Arg753Gln ve del -196-174 gen polimorfizmlerinin ve TLR-2 serum düzeyinin incelenerek, hem bu polimorfizmlerinin TLR-2 düzeylerine olan etkisi hem de sepsiste klinik ve prognostik parametrelerle birlikte ele alınarak olası etkilerinin incelenmesi amaçlanmaktadır. Bu amaçla 59 sepsis hastası ve 83 sağlıklı kontrolde TLR-2 gen polimorfizmlerini saptamak için PCR-RFLP ve TLR-2 serum düzeylerini incelemek için ELISA teknikleri kullanılmıştır. Deneysel çalışmalar sonucunda çalışma grupları arasında her iki polimorfizm açısından anlamlı bir farklılık gözlemlenmemiştir ($p<0,05$). TLR-2 serum düzeylerini incelediğimizde ise hasta grubunda sağlıklı bireylere göre istatistiksel olarak anlamlı bir artış saptanmıştır ($p<0,001$). Sonuç olarak, çalışmamız her iki polimorfizm açısından da sepsis vakalarında ülkemizde yapılan ilk çalışma özelliğini taşımaktadır. Yaptığımız deneysel çalışmalar sonucunda elde ettiğimiz bulgular her iki polimorfizm ile sepsis riski arasında bir ilişki olmadığını, ancak serum TLR-2 düzeylerinin del -196-174 gen polimorfizminden bağımsız olarak hasta grubunda artmış olduğunu, Arg753Gln polimorfizmi açısından ise GG genotip ve G allelinin hastalarda artmış TLR-2 düzeyleri ile ilişkili olduğunu öngörmektedir.

SUMMARY

Sepsis is identified as the systemic inflammatory response developed against infections. Studies showed that humoral immune system is activated and various cytokines are released due to infections in tissues and traumatic damage. Immune system is a defensive system divided as innate and adaptive. Toll-like receptors (TLR) are transmembrane proteins, which form the innate immune response against many pathogens and play an important role on host immunity by together activating the adaptive immune response. A member of this family, the TLR-2 peptidoglycan may respond by binding with lipoteichoic acid, gram-positive LPS and various gram-positive macromolecules. In this study it was aimed to investigate the possible effect of TLR-2 polymorphisms on serum levels with clinic and prognostic parameters of sepsis by determining the TLR-2 Arg753Gln and del -196-174 gene polymorphisms and TLR-2 serum levels. Thereby, 59 sepsis patients and 83 healthy controls were included to this study. In order to determine TLR-2 polymorphisms, the PCR-RFLP method was performed and serum TLR-2 levels were measured by ELISA technique. No statistically significant differences were found in these two polymorphisms between patient and control groups ($p<0,05$). On the other hand a statistically significant increase of serum TLR levels were detected in patients compared to healthy controls ($p<0,001$). Finally, this is the first study on these two polymorphisms conducted on sepsis patients in our country. Our results showed no association between sepsis risk and these polymorphisms. On the other hand, the serum TLR levels were elevated in the patient group independent from the del -196-174 polymorphism existence and the GG and G alleles of the Arg753Gln polymorphism may be used as a predictor of elevated TLR-2 levels in sepsis patients.

GİRİŞ

Sepsis; enfeksiyona karşı verilen sistemik enflamatuvar yanıt olarak tanımlanmaktadır. Sepsis triadı sistemik inflamasyon, koagülasyon ve bozulmuş fibrinolizdir. Sepsis fizyopatolojisinde, mikrobiyal patojenler ve enflamatuvar yanıt yer almaktadır. Yapılan araştırmalarda dokularda oluşan enfeksiyon ve travmatik hasar sonucu vücutta hümmoral sistem aktive olduğu ve çeşitli sitokinlerin salındığı gösterilmiştir. Sonuç, sistemik enflamatuvar yanıt, hemostatik değişiklikler ve organ hasarının ortaya çıkmasıdır (1-3). Toll, ilk olarak meyve sineği (*Drosophila melanogaster*) embriyosunda tanımlanmış, mantar enfeksiyonlarına karşı immün yanıtta önemli rol oynadığı gösterilmiş bir genidir (1, 2). Bu genin ürettiği transmembran proteinlerinin homologları daha sonradan memelilerde tespit edilmiş ve bu proteinler, Toll benzeri reseptörler (TLR) olarak adlandırılmıştır. Toll-benzeri reseptörler (TLR), birçok patojene karşı doğal immün yanıtın oluşmasını sağlayan bir grup tip 1 transmembran proteindir ve edinsel immün yanıtın aktive olmasını sağlayarak konak immünesinde çok önemli role sahiptir. İmmün sistem, doğal (nonspesifik) ve edinsel olarak ayrılan iki kısımda incelenebilen bir savunma sistemidir. Bu iki sistem birbiriyle çok hassas bir denge içerisinde ve yardımlaşma ile çalışarak konağı patojenlere karşı korumaktadır (4). Hem gram-negatif hem de gram-pozitif bakteriler üzerinde bulunan lipoproteinlerin TLR-2'nin tanınması sonucunda hücreleri aktive ettiği gösterilmiş ve TLR-2'nin ağırlıklı olarak lipoproteinleri tanıyan reseptör olduğu düşünülmüştür (5). TLR-2 peptidoglikan, lipoteikoik asit, gram-pozitif LPS ve bir grup gram-pozitif makromolekül ile bağlanıp yanıt verebilmektedir (6). Bugüne kadar TLR-2 geni ile ilişkili olarak pek çok tek nükleotid polimorfizm (SNP) tanımlanmıştır. Bu polimorfizmlerden en dikkat çekeni 3. ekzonda 753. nükleotidde arjininin glisine dönüşmesine neden olan rs5743708 numaralı +2408 G/A tek nükleotid polimorfizmidir. 3. ekzonda bulunan TLR-2 Arg753Gln tek nükleotid polimorfizminin *Borrelia burgdorferi*'ye yanıt olarak Tümör nekroz faktör (TNF) ve interferon üretimlerinin azaltılması ile de ilişkili olduğu bildirilmiştir (7). Lorenz ve arkadaşları Kafkas popülasyonunda Arg753Gln polimorfizminin gram pozitif bakteriler yolu ile oluşan septik şok gelişimi için risk faktörü olduğunu öne sürmüştür (8). Moore ve ark. da *Staphylococcus aureus* (gram pozitif bakteri türü) ile TLR-2 Arg753Gln bu tek nükleotid polimorfizminin ilişkili olduğu bildirmişlerdir. TLR-2 Arg753Gln polimorfizminin NF-kB aktivasyonunu ve enfeksiyon riskini arttırdığı çalışmalar da literatürde mevcuttur (9). Yapılan literatür çalışması sonucunda hakkında daha az çalışma bulunan bir diğer TLR-2 polimorfizmi de del -196-174'dür. Bu insersiyon delesyon polimorfizminin TLR-2 geni promotör bölgesinde düzenlemeler yaparak gen aktivasyonunu etkileyebileceği düşünülmektedir. Bu bilgiler ışığında çalışmamızda TLR-2 Arg753Gln ve del -196-174 gen polimorfizimlerinin ve TLR-

2 serum düzeyinin incelenerek, hem bu polimorfizmlerin TLR-2 düzeylerine olan etkisi hem de sepsiste klinik ve prognostik parametrelerle birlikte ele alınarak olası etkilerinin incelenmesi amaçlanmaktadır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Seçilen Örneklerin Tanımı

Bu çalışmada iki örnek grubu kullanılmıştır. Birinci grup, sepsise ilişkin herhangi bir patolojik bulgusu bulunmayan 83 sağlıklı bireyden oluşan kontrol grubudur. İkinci grup ise, Dr. Siyami Ersek Kalp Damar ve Göğüs Cerrahisi Eğitim Ve Araştırma Hastanesi, Anestezi ve Reanimasyon Kliniği tarafından takip edilen ve sepsis tanısı konmuş 59 hastadan oluşmaktadır. Çalışmaya katılacak olan gönüllülere, yapılacak araştırma ile ilgili bilgilendirilmiş gönüllü onam formu okutularak imzalatılmıştır. Çalışmaya dahil edilen hastaların klinik değerlendirmeleri ve örnek alımları ilgili kliniklerce gerçekleştirilmiş ve alınan kan örnekleri gerekli koşullar altında Anabilim Dalımıza ulaştırılmıştır.

Polimorfizm çalışması için sağlıklı ve sepsisli bireylerin kan örnekleri EDTA'lı tüplere alınıp, DNA izolasyonu yapılmış ve 59 sepsis hastası ve 83 sağlıklı kontrolde TLR-2 genine ait polimorfizm analizleri yapılmıştır. Ayrıca sağlıklı ve hasta bireylerin kuru tüpe alınan kan örneklerinden izole edilen serum örneklerinde TLR-2 düzeyleri analizleri yapılmıştır.

Periferik Kandan DNA İzolasyonu

Invitrogen Purelink Genomik DNA Kit ile kandan DNA izolasyonu yapılmıştır.

Gen Polimorfizmlerinin Tespiti

TLR-2 Del -196-174 ve TLR-2 Arg753Gln lokusuna ait alleller polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) ile çoğaltıldı.

Serum TLR-2 düzeylerinin Tayini

Serum TLR-2 düzeylerinin tayini için TLR-2 ELISA kiti (CUSABIO, Çin) kullanılmıştır.

Sonuçların Değerlendirilmesinde Kullanılan İstatistiksel Yöntemler

Bu çalışmanın istatistiksel analizi SPSS 11.0 paket programı kullanılarak yapılmıştır. İstatistiksel anlamlılık sınırı $p < 0.05$ olarak alınmıştır. Genotip ve allellerin görülme sıklığının gruplar arası farklılıklarının değerlendirilmesinde Ki kare ve Fisher testi kullanılmıştır. Allel frekansları gen sayma metoduna göre yapılmıştır. Gruplar arası demografik verilerin karşılaştırılmasında Student' t, One-way Anova ve Mann Whitney U testleri kullanılmıştır.

BULGULAR

Çalışmamıza hasta grubu olarak sepsis tanısı konulmuş 20 kadın ve 39 erkek olmak üzere 59 birey; kontrol grubu olarak herhangi bir sepsis bulgusu taşımayan 25 kadın ve 58 erkek olmak üzere 83 sağlıklı birey dahil edilmiştir. Hastaların %30,5'inde *Acinetobacter* enfeksiyonu, %28,8'inde *Pseudomonas* enfeksiyonu, %15,3'ünde *Klebsiella pneumoniae* enfeksiyonu, %15,3'ünde *Enterobakter* enfeksiyonu, %22'sinde metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* enfeksiyonu, %8,5'inde *Streptococcus pneumoniae* enfeksiyonu, %8,5'inde *Escherichia coli* enfeksiyonu ve %5,1'inde vankomisine dirençli *Enterokok* enfeksiyonu varlığı gözlenmektedir. Tablo 1'de TLR-2 Arg753Arg ve del -196-174 gen polimorfizmlerine ait genotip ve allel dağılımları gösterilmiştir. Her iki polimorfizm için, genotipler ve allel dağılımları açısından gruplar arasında anlamlı bir farklılık gözlemlenmemiştir Tablo 2'de çalışma gruplarında serum TLR-2 düzeyleri gösterilmiştir. Serum TLR-2 düzeylerinin hasta grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak arttığı belirlenmiştir ($p < 0,001$; %95 güven aralığı= 2,79-5,66). TLR-2 Arg753Gln ve del -196-174 gen polimorfizmlerinin dağılımlarına göre çalışma gruplarında serum TLR-2 düzeyleri Tablo 3'de gösterilmiştir. Bulgularımıza göre hasta grubunda del -196-174 ins/ins genotipi taşıyan bireylerde serum TLR-2 düzeylerinin ins/del genotipi taşıyan bireylere göre istatistiksel olarak azaldığı gözlemlenmiştir ($p = 0,005$). Bu bulgumuzu destekler bir diğer sonuçta ise del alleli taşıyan hastalarda bu alleli taşımayanlara göre TLR-2 serum düzeylerinin artmasıdır ($p = 0,003$). Kontrol grubunu incelediğimizde ise; hasta grubundaki bulgularımıza paralel olarak ins/ins genotipi taşıyan sağlıklı bireylerde del/del genotipi taşıyan bireylere göre serum TLR-2 düzeylerinde anlamlı düzeyde azalma olduğu belirlenmiştir ($p = 0,038$). Benzer şekilde ins alleli taşıyan bireylerde de bu alleli taşımayan bireylerle karşılaştırıldığında serum TLR-2 düzeyleri azalmış olarak saptanmıştır ($p = 0,027$). TLR-2 Arg753Gln genotip ve allel dağılımlarına göre incelediğimizde, hasta ve kontrol grupları içinde TLR-2 serum düzeyleri açısından anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ($p > 0,05$).

TARTIŞMA

Sepsis, Sistemik İnflamatuvar Yanıt Sendromu (SIRS)'ndan, Septik Şok ve Multiple Organ Disfonksiyonu Sendromu (MODS)'na kadar giden, konağın mikroorganizmaya vermiş olduğu sistemik inflamatuvar bir yanıt olarak tanımlanır (10). Sepsis etiolojisini araştırmak üzere genetik düzeyde de çalışmalara literatürde rastlanılmaktadır (11). İnflamasyon ve sepsis ilişkisini gösteren çalışmalar ağırlıklı olarak mevcuttur. Ouyang L. ve ark. Asya ırkında interlökin-10 1082A/G mutasyonu ve sepsis patogenezi arasında pozitif bir korelasyon göstermişlerdir (12). Dong ve ark ise IRAK-M polimorfizmini sepsis görülme riski ile anlamlı olarak ilişkilendirmişlerdir (13).

Toll geninin ürünü olan proteinler, Toll benzeri reseptörler (TLR) olarak adlandırılmışlardır. Toll-like reseptörler, birçok patojene karşı doğal immün yanıtın oluşmasını sağlayan tip 1 transmembran proteinleridir. Bu reseptörler aynı zamanda edinsel immün yanıtın da aktive olmasını sağlayarak konak immünesinde çok önemli role sahiptir. Enfeksiyöz, kronik inflamatuvar ve otoimmün olaylar ile Toll-benzeri reseptör aracılı yolların ilişkisi bildirilmiştir (14, 15, 16, 17). TLR aktivasyonu ile sitokinlerin, kemokinlerin ve araziidonik asit moleküllerinin sentezi ve salınımı artar, reaktif oksijen metabolitlerinin ortaya çıkması ile de dokuda hasar verici olaylar meydana gelir (18, 19, 20). TLR genleri ve sepsis arasındaki ilişkiyi araştıran ilk çalışmalardan biri Lorenz ve arkadaşlarının yaptığı ve TLR-2 Arg753Gln polimorfizminin *Staphylococcus aureus*'un neden olduğu sepsise yatkınlık oluşturduğunu gösterdiği çalışmadır (8). TLR-4 polimorfizminin insanlarda Gr (-) mikroorganizmanın neden olduğu septik şoka yatkınlık oluşturduğunu gösteren çalışmalar da literatürde mevcuttur (21, 22). Wurfel ve ark. TLR-1 polimorfizminin Gr (+) sepsisi arttırdığını çalışmalarında rapor etmişlerdir (23). Song ve arkadaşları Çin popülasyonunda yaptıkları çalışmada 378 sepsisli hasta ve 390 kontrol grubu olgusunda TLR-2, TLR-4, TLR-9, MyD88 ve TOLLIP (Toll interacting protein) varyasyonlarını incelemiş, TLR-2, -4, -9, MyD 88 ve TOLLIP'in allel ve genotip dağılımları açısından sepsisli hasta ve kontrol grubu arasında anlamlı bir fark bulmamıştır. Bu çalışma ile Çin popülasyonunda TLR-2, -4, -9 ve MyD 88 SNP major risk faktörü olmadığını göstermiştir (24). Naderi ve ark. pulmoner tüberküloz hastalarında TLR-2 597T/C polimorfizmini hastalık riski ile ilişkili olarak tanımlamışlardır (25). Bir diğer çalışmada ise Çin popülasyonunda TLR-2 ve TLR-4 polimorfizmleri ile koroner arter hastalığı ve tip 2 diyabete yatkınlıkla ilgili ilişki bulunduğunu rapor etmişlerdir (26). Çalışmamızda TLR-2 genine ait Arg753Gln ve del -196-174 gen polimorfizmlerini ve TLR-2 serum düzeyini sepsis tanısı konulmuş 59 olguda ve 83 sağlıklı bireyde inceledik. Toplumumuzda da bu polimorfizmler ve farklı hastalıklar arasındaki ilişkiyi inceleyen çalışmalar mevcuttur. Berdeli ve arkadaşlarının Türk toplumunda yapmış olduğu akut romatizmal ateş (ARA) hastalarında TLR-2 Arg753Gln polimorfizminin incelendiği çalışmasında, Gln allel sıklığının hasta grubunda sağlıklı kontrol grubuna göre 16 kat fazla olduğu ve ayrıca Arg753Gln genotipinin hasta grubunda belirgin olarak azaldığı belirtilmiştir (27). Nezih Karaca'nın 2009 yılında yapmış olduğu tez çalışmasında sağlıklı bireylerde TLR-2 Arg753Gln gen polimorfizminde Gln allel dağılımlarının vitiligo tanısı konulmuş hastalarda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek olduğu ifade edilmiştir (28). Özen ve arkadaşlarının yapmış olduğu ailesel akdeniz ateşi (FMF) hastalığını inceledikleri çalışmada TLR-2 Arg753Gln polimorfizmi dağılımlarının FMF hastalarında (% 25,2) sağlıklı bireylere (% 6) göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek olduğu bildirilmiştir (29). Çalışma gruplarımızı

TLR-2 Arg753Gln gen polimorfizmine ait genotip ve allel dağılımlarına göre karşılaştırdığımızda gerek hasta gerekse kontrol grubunda Arg753Arg genotipine sahip bireylere rastlanılmadı. Diğer genotipler ve allel dağılımları açısından da gruplar arasında anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir. Çalışmamızda incelediğimiz bir diğer polimorfizm TLR-2 del -196-174 polimorfizmidir. Bu polimorfizm sonucunda genin promotör bölgesinde 22 bç'lik bir delesyonu meydana geldiği ve bu delesyonun genin promotör aktivesini etkilediği bildirilmiştir (30). Yapılan çalışmalarda del-196-174 polimorfizminin servikal kanserler ve artmış gastrik kanser riski ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (30). Bir diğer çalışmada del -196-174 del alleli taşıyan hepatokarsinomlu hastalarda daha düşük TLR-2 ekspresyonu olduğu bildirilmiştir (32). Çalışmamızda TLR-2 del -196-174 polimorfizminin dağılımları açısından gruplar arasında bir ilişki gözlemlenmedi. Deneysel çalışmamız sonucunda serum TLR-2 düzeylerinin hasta grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak arttığı belirlenmiştir ($p<0,001$). Bu konuda ülkemizde yapılan bir çalışmada kronik periodontit hastalarında TLR-2 ve TLR-4 düzeyleri incelenmiş, hasta grupta serum TLR-2 düzeylerinin artmış olduğunu gözlenmiştir (33). Tehrani ve ark. yaptıkları bir çalışmada ise astım hastalarında azalan serum TLR-2 düzeyleri ve klinik astım skorundaki artış arasında bir korelasyon bildirmişlerdir (34). TLR-2 Arg753Gln ve del -196-174 gen polimorfizmlerinin dağılımlarına göre çalışma gruplarında serum TLR-2 düzeylerini incelediğimizde ise hasta grubunda del -196-174 ins/ins genotipi taşıyan bireylerde serum TLR-2 düzeylerinin ins/del genotipi taşıyan bireylere göre istatistiksel olarak azaldığı saptanmıştır ($p=0,005$). Bu bulgumuzu destekler bir diğer sonuçta ise del alleli taşıyan hastalarda bu alleli taşımayanlara göre TLR-2 serum düzeylerinin artmasıdır ($p=0,003$). Kontrol grubunu incelediğimizde ise hasta grubundaki bulgularımıza paralel olarak ins/ins genotipi taşıyan sağlıklı bireylerde del/del genotipi taşıyan bireylere göre serum TLR-2 düzeylerinde istatistiksel oranda azalma olduğu belirlenmiştir ($p=0,038$). Benzer şekilde ins alleli taşıyan bireylerde de bu alleli taşımayan bireylerle karşılaştırıldığında serum TLR-2 düzeyleri azalmış olarak saptanmıştır ($p=0,027$). Bu bulgular ışığında del alleli varlığının artmış serum TLR-2 düzeyleri ile ilişkili olduğunu her iki çalışma grubu için de söyleyebiliriz. Çalışma grupları arasında Arg753Gln ve del -196-174 gen polimorfizmlerinin dağılımlarına göre serum TLR-2 düzeylerini incelediğimizde ise hasta grubunda del -196-174 ins alleli taşıma ($p=0,001$), del alleli taşıma ($p=0,001$), ins/ins genotipi taşıma ($p=0,001$) ve del/ins genotipi taşımaya ($p=0,002$) göre serum TLR-2 düzeylerinin kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde arttığı saptanmıştır. Bu bulgularımıza göre her iki çalışma grubunda da del -196-174 gen polimorfizminden bağımsız olarak TLR-2 düzeylerinin hasta grubunda sağlıklı bireylere göre arttığını söylemek mümkündür. Arg753Gln polimorfizmine göre incelediğimizde ise hasta grubunda GG genotipi ($p=0,001$) ve G alleli ($p=0,001$)

taşıyan bireylerde kontrol grubuna göre TLR-2 düzeylerinin arttığı görülmüştür. Sonuç olarak, çalışmamız her iki polimorfizm açısından da sepsis vakalarında ülkemizde yapılan ilk çalışma özelliğini taşımaktadır.

Yaptığımız deneysel çalışmalar sonucunda elde ettiğimiz bulgular her iki polimorfizm ile sepsis riski arasında bir ilişki olmadığını, ancak serum TLR-2 düzeylerinin del -196-174 gen polimorfizminden bağımsız olarak hasta grubunda artmış olduğunu, Arg753Gln polimorfizmi açısından ise GG genotip ve G allelinin hastalarda artmış TLR-2 düzeyleri ile ilişkili olduğunu öngörmektedir.

Tablo 1. Çalışma gruplarında TLR-2 Arg753Arg ve del -196-174 gen polimorfizmlerine ait genotip ve allel dağılımları

del -196-174 polimorfizmi	Hasta (n:59)	Kontrol (n:83)
GENOTİP		
İns/ins	45(%76,3)	58(%69,9)
Del/del	2 (%3,4)	11(%13,3)
İns/del	12(%20,3)	14(%16,9)
ALLEL		
İns	102(%86,4)	130(%78,1)
Del	16(%13,6)	36(%21,9)
Arg753Arg polimorfizmi		
HASTA (n:59) KONTROL (n:83)		
GENOTİP		
Arg753Arg	-	-
Arg753Gln	4(%6,8)	4(%4,8)
Gln753Gln	55 (%93,2)	79(%95,2)
ALLEL		
Arg	4 (%3,3)	4(%2,4)
Gln	114(%96,7)	162(%97,6)

n: birey sayısı , Grup içi karşılaştırmalar Ki kare ve Fisher's Exact testi ile yapılmıştır.

Tablo 2. Çalışma gruplarında serum TLR-2 düzeyleri

GRUPLAR	HASTA (n:59)	KONTROL (n:83)
TLR-2 düzeyi (ng/ml)	7,10±6,33*	2,87±1,62

n: birey sayısı , Gruplar arası farklılık Student t testi ile incelenmiştir.

* p<0,001

Tablo 3. Çalışma gruplarında Arg753Gln ve del -196-174 genotip ve allel dağılımlarına göre serum TLR-2 düzeyleri

del -196-174 polimorfizmi	Hasta (n:59)	Kontrol (n:83)
Genotip		
İns/ins	5,87±5,18 (n:45)	2,72±1,33 (n:58)
Del/del	7,83±3,57 (n:2)	3,49±1,46 (n:11)
İns/del	11,62±8,63(n:12)	3,00±2,61 (n:14)
Allel		
İns	7,08±6,42 (n:57)	2,78±1,64 (n:72)
Del	11,07±8,12 (n:14)	3,22±2,16 (n:25)
Arg753Gln polimorfizmi	Hasta (n:59)	Kontrol (n:83)
Genotip		
Arg753Arg	-	-
Arg753Gln	10,96±8,23 (n:4)	2,75±1,41 (n:4)
Gln753Gln	6,82±5,90 (n:55)	2,88±1,64 (n:79)
Allel		
Arg	10,96±8,23 (n:4)	2,75±1,41 (n:4)
Gln	7,10±6,33 (n:59)	2,87±1,62 (n:83)

n: birey sayısı, Grup içi ve gruplar arası farklılık Mann-Whitney U ve Student t testleri ile incelenmiştir.

KAYNAKLAR

1. Bone RC. The pathogenesis of sepsis. *Ann Intern Med.* 1991 Sep 15;115(6):457-69.
2. Cohen J. The immunopathogenesis of sepsis. *Nature* 2002;420:885-91.
3. Hotchkiss RS, Karl IE. The Pathophysiology and treatment of sepsis. *N Engl J Med* 2003;348/2:138-150.
4. Janeway CA, Medzhitov R. Innate immune recognition. *Annu Rev Immunol* 2002; 20:197-216.
5. Sieling PA, Modlin RL. Toll-like receptors: mammalian "taste receptors" for a smorgasbord of microbial invaders. *Curr Opin Microbiol* 2002, 5:70-5.
6. Ozinsky A, Underhill DM, Fontenot JD, et al. The repertoire for pattern recognition of pathogens by the innate immune system is defined by cooperation between Toll-like receptors. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000; 97:13766-71.
7. Schroder NW, Diterich I, Zinke A, Eckert J, Draing C, von Baehr V, et al. Heterozygous Arg753Gln polymorphism of human TLR-2 impairs immune activation by *Borrelia burgdorferi* and protects from late stage Lyme disease. *J Immunol* 2005;175:2534-2540
8. Lorenz E, Mira JP, Cornish KL, Arbour NC, Schwartz DA. A novel polymorphism in the Toll-like receptor 2 gene and its potential association with staphylococcal infection. *Infect Immun* 2000; 68:6398-401.
9. Texereau J, Chiche JD, Taylor W, Choukroun G, Comba B, Mira JP. The importance of toll-like receptor 2 polymorphisms in severe infections. *Clinical infectious diseases* 2005; 41: S408.
10. Rodríguez A, Rello J, Neira J, Maskin B, Ceraso D, Vasta L et al. Effects of highdose of intravenous immunoglobulin and antibiotics on survival for severe sepsis undergoing surgery. *Shock.* 2005; 23(4):298-304
11. Lorente L, Mart N MM. The 372 T/C genetic polymorphism of TIMP-1 as a biomarker of mortality in patients with sepsis. *Crit Care.* 2013 Oct 3;17(5):456
12. Ouyang L, Lv YD, Hou C, Wu GB, He ZH. Quantitative analysis of the association between interleukin-10 1082A/G polymorphism and susceptibility to sepsis. *Mol Biol Rep* 2013;40(7):4327-32.
13. Dong GH, Gong JP, Li JZ, Luo YH, Li ZD, Li PZ, He K. Association between gene polymorphisms of IRAK-M and the susceptibility of sepsis. *Inflammation* 2013; 36(5):1087-93.
14. Kang SS, Kauls LS, Gaspari AA. Toll-like receptors: applications to dermatologic disease. *J Am Acad Dermatol.* 2006 Jun;54(6):951-83; quiz 983-6.
15. Krieg AM, Vollmer J. Toll-like receptors 7, 8, and 9: linking innate immunity to autoimmunity. *Immunol Rev* 2007; 220:251-69.
16. Castiblanco J, Varela DC, Castaño-Rodríguez N, et al. TIRAP (MAL) S180L polymorphism is a common protective factor against developing tuberculosis and systemic lupus erythematosus. *Infect Genet Evol* 2008; 8: 541-4.
17. Atkinson TJ. Toll-like receptors, transduction-effector pathways, and disease diversity: evidence of an immunobiological paradigm explaining all human illness? *Int Rev Immunol* 2008; 27: 255-81.
18. Emingil G, Berdeli A, Baylas H, Saygan BH, Gürkan A, Köse T, Atilla G. Toll-like receptor 2 and 4 gene polymorphisms in generalized aggressive periodontitis. *J Periodontol* 2007; 78:1968-77.
19. Clausen LN, Ladelund S, Weis N, Bukh J, Benfield T. Genetic variation in toll-like receptors and retinoic acid-inducible gene I and outcome of hepatitis C virus infection: a candidate gene association study. *J Viral Hepat* 2014;21(8):578-84.
20. Laska MJ, Troldborg A, Hansen B, Stengaard-Pedersen K, Junker P, Nexø BA, Voss A. Polymorphisms within Toll-like receptors are associated with systemic lupus erythematosus in a cohort of Danish females. *Rheumatology (Oxford)* 2014;53(1):48-55.
21. Agnese DM, Calvano JE, Hahm SJ, Coyle SM, Corbett SA, Calvano SE, Lowry SF. Human toll-like receptor 4 mutations but not CD14 polymorphisms are associated with an increased risk of gram-negative infections. *J Infect Dis* 2002; 186(10):1522-5.
22. Lorenz E, Mira JP, Frees KL, Schwartz DA. Relevance of mutations in the TLR4 receptor in patients with gram-negative septic shock. *Arch Intern Med* 2002; 162(9):1028-32.
23. Mark M, Wurfel, Anthony C, Gordon, Tarah D, Holden et al. Toll-like Receptor 1 Polymorphisms Affect Innate Immune Responses and Outcomes in Sepsis. *Am J Respir Crit Care Med* 2008; 178(7): 710-720.
24. Song Z, Yin J, Yao C et al. Variants in the Toll-interacting protein gene are associated with susceptibility to sepsis in the Chinese Han population. *Crit Care* 2011; 15(1):12.
25. Naderi M, Hashemi M, Hazire-Yazdi L, Taheri M, Moazeni-Roodi A, Eskandari-Nasab E, Bahari G. Association between toll-like receptor 2 Arg677Trp and 597T/C gene polymorphisms and pulmonary tuberculosis in Zahedan. Southeast Iran. *Braz J Infect Dis* 2013;17(5):516-20.
26. Liu F, Lu W, Qian Q, Qi W, Hu J, Feng B. Frequency of TLR 2, 4, and 9 gene polymorphisms in Chinese population and their susceptibility to type 2 diabetes and coronary artery disease. *J Biomed Biotechnol* 2012;2012:373945.
27. Berdeli A, Celik HA, Ozyürek R, Dogrusoz B, Aydin HH. TLR-2 gene Arg753Gln polymorphism is strongly associated with acute rheumatic fever in children. *J Mol Med* 2005; 83: 535-41.
28. Karaca N, Ozturk G, Gerceker BT, Turkmen M, Berdeli A. TLR2 and TLR4 gene polymorphisms in Turkish vitiligo patients. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2013; 27(1):e85-90.
29. Ozen S, Berdeli A, Türel B, Kutlay S et al. Arg753Gln TLR-2 polymorphism in familial mediterranean fever: linking the environment to the phenotype in a monogenic inflammatory disease. *J Rheumatol* 2006; 33: 2498-500
30. Mandal RK, George GP, Mittal RD. Association of Toll-like receptor (TLR) 2, 3 and 9 genes polymorphism with prostate cancer risk in North Indian population. *Mol Biol Rep* 2012;39(7):7263-9.
31. Pandey S, Mittal RD, Srivastava M, Srivastava K, Singh S, Srivastava S, Mittal B. Impact of Toll-like receptors [TLR] 2 (-196 to -174 del) and TLR 4 (Asp299Gly, Thr399Ile) in cervical cancer susceptibility in North Indian women. *Gynecol Oncol.* 2009 ;114(3):501-5.
32. Nischalke HD, Coenen M, Berger C, Aldenhoff K, Müller T, Berg T, Krämer B, Körner C, Odenthal M, Schulze F, Grünhage F, Nattermann J, Sauerbruch T, Spengler U. The toll-like receptor 2 (TLR2) -196 to -174 del/ins polymorphism affects viral loads and susceptibility to hepatocellular carcinoma in chronic hepatitis C. *Int J Cancer.* 2012; 130(6):1470-5.
33. Buduneli N, Özçaka Ö, Nalbantsoy A. Salivary and plasma levels of Toll-like receptor 2 and Toll-like receptor 4 in chronic periodontitis. *J Periodontol.* 2011; 82(6):878-84.
34. Tehrani M, Varasteh A, Khakzad MR, Mirsadraee M, Sankian M. Decreased levels of soluble Toll-like Receptor 2 in patients with asthma. *Reports of Biochemistry & Molecular Biology* 1(1): 2012, 1-7.