

# PARKİNSON HASTALIĞI İLE TIRAP GEN POLİMORFİZMİ ARASINDAKİ İLİŞKİNİN ARAŞTIRILMASI

## INVESTIGATION OF THE RELATIONSHIP BETWEEN PARKINSON'S DISEASE AND TIRAP GENE POLYMORPHISM

Merve KIR KAYAN<sup>1</sup>, Nilüfer ŞAHİN CALAPOĞLU<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Karayazı TEB İlçe Devlet Hastanesi, Aile Hekimliği Kliniği, Erzurum, Türkiye

<sup>2</sup> Süleyman Demirel Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Temel Tıp Bilimleri Bölümü, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Isparta, Türkiye

**Cite this article as:** Kır Kayan M, Şahin Calapoğlu N. Parkinson Hastalığı ile TIRAP Gen Polimorfizmi Arasındaki İlişkinin Araştırılması. Med J SDU 2024; 31(1): 103-109.

### Öz

#### Amaç

Parkinson hastalığı (PH), beyinde dopamin üreten hücrelerin kaybıyla ilerleyen bir hastalıktır. PH'li hastaların beyin dokularında  $\alpha$ -sinüklein adlı bir protein birikir ve nöroinflamasyona neden olur. Nöroinflamasyon, beyindeki bağışıklık sistemi hücrelerinin aktivasyonu ve iltihaplanma ile ilgili moleküllerin salınımını içerir. Bu süreçte rol oynayan Toll Like Reseptör (TLR)'ler patojenleri ve hasarlı hücreleri tanıyarak bağışıklık yanıtını başlatır. Bu çalışmada, TLR sinyal yolağında yer alan bir adaptör protein olan Toll/IL-1 reseptör ilişkili protein (TIRAP) gen bölgesi üzerindeki polimorfik allelin PH'li hastalarda ve kontrol grubunda karşılaştırmalı olarak ilişkisini araştırmayı amaçladık.

#### Gereç ve Yöntem

Çalışmaya 39 PH hastası ve 40 sağlıklı kişi katıldı. Katılımcılardan kan örnekleri alınarak DNA izolasyonu yapıldı. TIRAP rs8177374 (975C/T) polimorfizmi PCR ve RFLP yöntemleri ile belirlendi.

#### Bulgular

T allel frekansı PH hastalarında 0,218; kontrol grubunda ise 0,200 olarak bulundu. C allel frekansı ve CC genotip frekansı her iki grupta da yüksek bulun-

du. F değeri PH hastalarında 0,128; kontrol grubunda ise 0,250 olarak bulundu. OR değeri 1,115; CI değeri ise [0,517-2,402] olarak bulundu. Total OR=1,508; P=0,758 olarak bulundu.

#### Sonuç

TIRAP polimorfizmi ile PH arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmadı. TIRAP polimorfizminin PH hastalarında risk faktörü olmadığı sonucuna varıldı.

**Anahtar Kelimeler:** Parkinson Hastalığı, Toll Like Reseptör, Nöroinflamasyon, TIRAP

#### Abstract

#### Objective

Parkinson's disease (PD) is a progressive disease characterized by the loss of dopamine-producing cells in the brain. A protein called  $\alpha$ -synuclein accumulates in the brain tissue of patients with PD and causes neuroinflammation. Neuroinflammation involves the activation of immune system cells in the brain and the release of inflammation-related molecules. The Toll Like Receptors (TLRs) involved in this process recognize pathogens and damaged cells and initiate the immune response. In this study, we aimed to investigate the association of the polymorphic allele on

Sorumlu yazar ve iletişim adresi / Corresponding author and contact address: M.K.K./drmervekir@gmail.com

Müracaat tarihi/Application Date: 14.09.2023 • Kabul tarihi/Accepted Date: 01.03.2024

ORCID IDs of the authors: M.K.K: 0000-0002-5407-7068; N.Ş.C: 0000-0002-7376-1607

the Toll/IL-1 receptor-associated protein (TIRAP) gene region, an adaptor protein involved in the TLR signaling pathway, in patients with PD and in the control group.

### Material and Method

39 PD patients and 40 healthy individuals participated in the study. Blood samples were taken from the participants and DNA isolation was performed. TIRAP rs8177374 (975C/T) polymorphism was determined by PCR and RFLP methods.

### Results

T allele frequency was found to be 0.218 in PD patients and 0.200 in the control group. C allele frequency and

CC genotype frequency were found to be high in both groups. F value was found to be 0,128 in PD patients and 0,250 in the control group. OR value was 1.115; CI value was [0,517-2,402]. Total OR=1,508; P=0,758.

### Conclusion

No statistically significant association was found between TIRAP polymorphism and PD. It was concluded that TIRAP polymorphism is not a risk factor in PD patients.

**Keywords:** Parkinson's Disease, Toll Like Receptor, Neuroinflammation, TIRAP

## Giriş

Parkinson hastalığı (PH), beyin sapında özellikle bazal ganglionlardaki dopaminerjik nöronların kaybı ile karakterize nörodejeneratif bir hastalıktır (1). PH'nin etyolojisi tam olarak bilinmemektedir. Çevresel ve genetik faktörlerin hastalığın ortaya çıkmasında rol oynadığı düşünülmektedir (2). Histopatolojik olarak, PH'li hastaların nöronlarında Lewy body adı verilen intraselüler eozinofilik inklüzyon cisimcikleri birikir. Bunlar yanlış katlanmış  $\alpha$ -sinüklein agregatlarından oluşur ve sadece beyinde değil; omurilikte, periferel sinir sisteminde, enterik sinir sisteminde ve diğer bölgelerde de bulunabilir (3-5). Nöroinflamasyon temelde nörodejeneratif süreç olabileceği ve bağışıklık sisteminin kilit rol oynadığı varsayılmaktadır (6). Ancak nöroinflamasyon nasıl başladığı ve devam ettiği tam olarak anlaşılamamıştır. PH hastalarının bazal ganglionlarında ve beyin omurilik sıvısında IL-1b, IL-6 ve TNF- $\alpha$  gibi proinflamatuvar sitokinler bulunmuştur (7, 8). PH'da mikrogliyal aktivitenin mekanizması tam olarak aydınlatılmamış olmakla birlikte, büyük olasılıkla proinflamatuvar sitokinler ve toksik  $\alpha$ -sinüklein beyinde mikrogliya aktivasyonuna sebep olabilir (9). Son zamanlarda yapılan in vitro çalışmalar  $\alpha$ -sinükleinin farklı konformasyonlarının mikrogliyal aktivasyonu tetiklediğini ve daha çok kimyasal mediyatörün salınımına sebep olduğunu göstermiştir (10-13). Mikrogliyal aktivasyon, birçok merkezi sinir sistemi (MSS) patolojilerinin gelişiminde ve yeniden doku yapılımasında önemli rol oynar. Mikrogliaların aktive olması için TLR-4 sinyalizasyonu gereklidir. TIRAP ise TLR-4 sinyalizasyonunun önemli bir bileşenidir. Ancak TIRAP'ın mikrogliyal aktivasyonda nasıl bir rol oynadığı tam olarak anlaşılamamıştır. Lipopolisakkarit (LPS) ve IFN-g uygulanan mikrogliyalarda TIRAP seviyesinin arttığı ve bunun da IL-6, IL-1b, TNF- $\alpha$  gibi sitokinlerin salgılanmasını uyarmış olduğu gözlemlenmiştir. TIRAP eksikliği ise bu proinflamatuvar

sitokinlerin üretimini baskılamıştır (14). PH hastalarında mikrogliyal hücrelerin aktivasyonu ve sitokin üretimi artmıştır. Bu da beyindeki iltihaplanma ve immün süreçleri bozmuştur (6). Mikrogliyal aktivasyonunun engellenmesi için TLR sinyal yolunun incelenmesi gerekmektedir. Doğal bağışıklığı uyaran patojenik molekülleri tanıyan çeşitli reseptörler mevcuttur. Bu reseptörler içerisinde sinyal ileten reseptör grubunu oluşturan Toll like reseptör (TLR) ailesidir (15). TLR'ler bağışıklık yanıtını başlatmak için iki farklı yol kullanır: MyD88 bağımlı ve MyD88 bağımsız yollar. MyD88 bağımlı sinyal yolunda Toll/IL-1 reseptör ilişkili protein (TIRAP) adaptör molekülü yer almaktadır. Bu yolda TNF-alfa, IL-1, IL-6, IL-8, IL-10 gibi proinflamatuvar sitokinler üretimi indüklenir (16-18). TIRAP geni, kromozom 11q24.2 'de lokalize olup, 5 ekzonlu 14.2 kb lık ve 221 aminoasitlik protein kodlar ve üzerinde 975C/T bölgesinde polimorfizm vardır (19). TIRAP polimorfizmi, iltihaplanma yanıtını etkileyebilir. LPS ile uyarılan farelerde TIRAP eksikliği iltihaplanmayı azaltmıştır. LPS, mikropların bir bileşeni olup TLR-4 reseptörünü aktive eder (20). Bu veriler ışığında TIRAP polimorfizmi, PH patolojisinde de benzer bir etkiye sahip olabileceğini bize düşündürmektedir. TLR sinyal yolağı, nörodejeneratif hastalıkların patogeneğinde nörotoksik ve nörokoruyucu etkilere sahiptir. Bu etkilerin aydınlatılması, hastalıkların mekanizmalarını anlamak ve yeni tedavi seçenekleri geliştirmek için önemlidir. Bu çalışmada, TLR sinyal yolağında yer alan TIRAP adaptör protein gen bölgesi üzerindeki 975C/T polimorfik allelin PH hastalarında ve kontrol grubunda karşılaştırılabilir olarak ilişkisi araştırıldı. TIRAP rs8177374 (975C/T) polimorfizmi polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ve restriksiyon parça uzunluğu polimorfizmi (RFLP) yöntemleri ile araştırıldı. Bu çalışmamızda olduğu gibi bazen PCR tekniğinde hedef dizi çoğaltılırken mismatch primer kullanmak gerekebilir. Mismatch primer, primer dizisinde hedeflenen bölgede tek nükleotid değişikliği

olan bir primerdir. RFLP yöntemi, DNA dizisindeki tek nükleotid değişikliklerini tespit etmek için kullanılan bir yöntemdir. Bu yöntemde DNA dizisi belirli bir enzim ile kesilir ve kesilen parçalar elektroforez ile ayrılır. Farklı genotipler farklı kesim yerlerine sahip olduğu için farklı bantlar oluştururlar.

## Gereç ve Yöntem

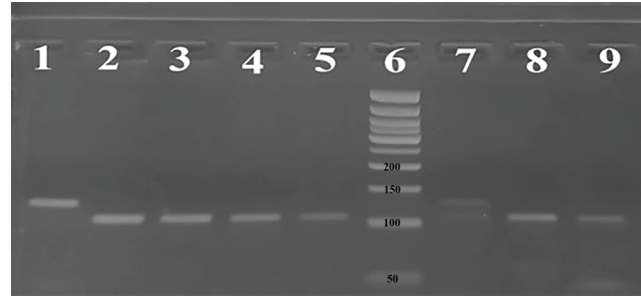
Bu çalışma, Süleyman Demirel Üniversitesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Moleküler Biyoloji Laboratuvarında yapıldı. Çalışma için etik kurul izni alındı (Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurul Başkanlığı, 15/07/2015 tarih ve 166 sayılı karar). Çalışma Helsinki Deklarasyonuna uygun olarak yürütüldü. Çalışmaya 39 PH hastası ve 40 sağlıklı kişi (kontrol grubu) dahil edildi. PH hastaları Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Uygulama Hastanesi Nöroloji Anabilim Dalı polikliniğine başvuran ve başka bir nörolojik hastalığı olmayan hastalardan seçildi. Kontrol grubu ise diğer polikliniklere başvuran ve herhangi bir nörolojik veya inflamatuvar hastalığı olmayan hastalardan seçildi. Katılımcılardan EDTA'lı tüplere (hemogram tüpü) kan örnekleri alındı. Kan örneklerinden DNA izolasyonu Jena Bioscience DNA İzolasyon Kiti (Jena Bioscience GmbH, Almanya) kullanılarak yapıldı. TIRAP rs8177374 (975C/T) polimorfizmi için belirlenen PCR protokolü kullanılarak PCR yöntemi ile hedef diziler çoğaltıldı (Tablo 1). PCR ürünleri etidyum bromürlü %3'lük agaroz jel elektroforezinde 80 Volt'ta 40 dk yürütülerek kontrol edildi. Beklenen bantlar görüldükten sonra RFLP aşamasına geçildi. Bu çalışmada TIRAP polimorfizmini tespit etmek için *Hpy 188I* adlı bir enzim kullanıldı (New England Biolabs Inc., ABD). Bu enzim TIRAP gen bölgesindeki C veya T nükleotidini tanıyarak keser. Ancak bu enzimin kesim yapabilmesi için primer dizisinde bir değişiklik yapılması gerekmektedir. Bu amaçla reverse primerin 19. pozisyonunda T nükleotidi ile mismatch primer hazırlandı. Gen dizisi, primerler ve enzim kesim bölgesi (Tablo 2) şöyledir:

TIRAP rs8177374 (975C/T)

```
TGCTCATCACGCCGGGCTTCCTTCAG-
GACCCCTGGTGCAAGTACCAGATGCTG-
CAGGCCCTGACCGAGGCTCCAGGGGCC-
GAGGGCTGCACCATCCCCCTGCTGT[C/T]
GGGCCTCAGCAGAGCTGCCTA
```

## Bulgular

*Hpy 188I* enzimi, TIRAP gen bölgesindeki C veya T nükleotidini tanıyarak keser. C alleli olanlarda 20 bç + 107 bç'lik bantlar, T alleli olanlarda 127 bç'lik bantlar ve heterozigot olanlarda hem 20bç + 107 bç hem de 127 bç'lik bantlar görülür (Resim 1 ve Resim 2). Resim 1 ve Resim 2'de bir kısmı gösterildiği gibi bütün örneklerin RFLP sonucu agaroz jel elektroforezinde yürütüldü ve elde edilen bulgular kaydedildi (Tablo 3). Allel frekansı; Allel frekansı (p)= ((2xhomozigot)+ heterozigot) / (2xN) formülüne göre hesaplandı (N: toplam birey sayısı).



**Resim 1**

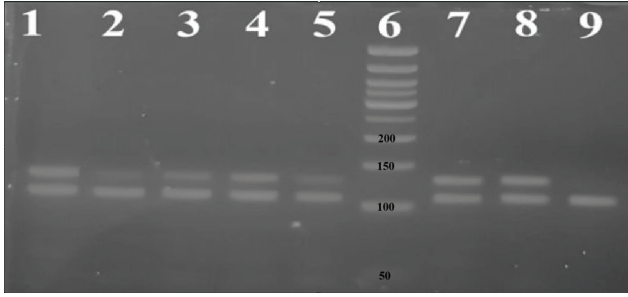
Parkinson Hasta Grubu RFLP elektroforez jel görüntüleri.

1. Homozigot Polimorfik (127bç) 2. Homozigot Normal (107bç) 3. Homozigot Normal (107bç) 4. Homozigot Normal (107bç) 5. Homozigot Normal (107bç) 6. 50bç DNA Ladder 7.Heterozigot (127bç ve 107bç) 8. Homozigot Normal (107bç) 9. Homozigot Normal (107bç)

**Tablo 1**

PCR protokolü

|                         |           |          |
|-------------------------|-----------|----------|
| Başlangıç denatürasyonu | 95°C 5 dk | 35 döngü |
| Denatürasyon            | 95°C 30sn |          |
| Primerlerin bağlanması  | 56°C 30sn |          |
| Zincirin uzaması        | 72°C 30sn |          |
| Bitiş ekstansiyonu      | 72°C 2 dk |          |
| Bekleme                 | 4°C       |          |

**Resim 2**

Kontrol Grubu RFLP elektroforez jel görüntüleri  
 1. Heterozigot (127bç ve 107bç) 2. Heterozigot (127bç ve 107bç) 3. Heterozigot (127bç ve 107bç) 4. Heterozigot (127bç ve 107bç) 5. Heterozigot (127bç ve 107bç) 6. 50bç DNA Ladder 7. Heterozigot (127bç ve 107bç) 8. Heterozigot (127bç ve 107bç) 9. Homozigot Normal (107bç)

Çalışmada 39 PH hastası ve 40 sağlıklı kişi (kontrol grubu) incelendi. Genotip frekansları CC, CT ve TT için sırasıyla PH hastalarında %58,97, %38,46 ve %2,56; kontrol grubunda ise %60, %40 ve %0 olarak bulundu. TT genotipi sadece bir PH hastasında görülürken kontrol grubunda hiç görülmedi. T allel frekansı PH hastalarında 0,218; kontrol grubunda ise 0,200 olarak bulundu. C allel frekansı ve CC genotip frekansı her iki grupta da yüksek bulundu.

Bulgular Hardy-Weinberg dengesi (HWE) analizi ile değerlendirildi. HWE analizinde P-Pearson's goodness of fit chi square ve P-exact test sonuçlarına göre her iki grupta da istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık

bulunmadı ( $p>0,05$ ). Ancak P-log likelihood ratio chi square testi kontrol grubunda  $P<0,05$  olarak bulundu. Bu test daha hassas bir test olduğu için kontrol grubunda HWE dengesinin bozulduğunu göstermektedir.

Ayrıca akrabalık sabiti F (sabitlenme istatistiği) değeri de hesaplandı. PH hastalarında F değeri 0,128; kontrol grubunda ise 0,250 olarak bulunmuştur. Bu sonuç kontrol grubunda akraba evliliğinin PH hastalarına göre daha fazla olduğunu göstermektedir.

Genotip frekansları CC, CT ve TT için sırasıyla PH hastalarında %58,97, %38,46 ve %2,56; kontrol grubunda ise %60, %40 ve %0 olarak bulundu. TT genotipi sadece bir PH hastasında görülürken kontrol grubunda hiç görülmedi. T allel frekansı PH hastalarında 0,218; kontrol grubunda ise 0,200 olarak bulundu. C allel frekansı ve CC genotip frekansı her iki grupta da yüksek bulundu.

Bulgulara göre TIRAP polimorfizmi PH hastalarında ve sağlıklı kişilerde benzer şekilde dağıldığı görüldü. Hasta ve kontrol grupları arasında TIRAP polimorfizminde genotip ve allel frekanslarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı ( $P=0,758$ ). Bu çalışmada odds ratio (OR) değeri 1,115; confidence interval (CI) değeri ise [0,517-2,402] olarak hesaplandı. Bu sonuçlar TIRAP polimorfizminin PH hastalarında risk faktörü olmadığını göstermektedir.

Bu çalışmada farklı modeller kullanarak OR ve CI değerleri hesaplanmıştır. TT homozigot modelde CC ile karşılaştırıldığında  $OR=3,128$ ;  $CI=[0,121-80,684]$ ;

**Tablo 2**

Primerler ve enzim kesim bölgesi

|                                     |  |
|-------------------------------------|--|
| <b>Forward primer:</b>              | 5' TGCTCATCACGCCGGCTTCCTT 3'             |
| <b>Reverse primer:</b>              | 5' TAGGCAGCTCTGCTGAGGICC 3'              |
| <b>Hpy 188I enzim kesim bölgesi</b> | 5'... TCNGA ... 3'<br>3'... AGNCT ... 5' |

**Tablo 3**

Çalışmada kullanılan örneklerin genotip dağılımı

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



P=0,312 olarak bulundu. CT-TT modelde CC ile karşılaştırıldığında OR=1,043; CI=[0,425-2,563]; P=0,926 olarak bulundu. TT modelde CC-CT ile karşılaştırıldığında OR=0,317; CI=[0,013-8,017]; P=0,308 olarak bulundu.

Ayrıca Armitage's trend testine göre total OR=1,508; P=0,758 olarak bulundu. İstatistiki veri sonuçlarına göre TIRAP 975C/T polimorfizminde C alleli hastalık üzerinde herhangi bir koruyuculuk etkisine sahip değildir ve T alleli hastalık ile ilişkilendirilmedi.

## Tartışma

PH'nin temel nedeni, nigro-striatal yolakta yer alan substantia nigra'nın pars kompakta bölgesindeki dopaminergik nöronların dejenerasyonudur (21). Bu nöronlarda anormal protein katlanmaları ve endoplazmik retikulum işlev bozukluğu sonucunda Lewy cisimcikleri adı verilen inklüzyon cisimcikleri oluşur. Lewy cisimcikleri,  $\alpha$ -sinüklein, sinfilin-1 ve ubiquitin gibi çeşitli proteinler içerir (22-25). Bu cisimcikler sadece striatuma sınırlı kalmaz, aynı zamanda arka beyin, omurilik ve enterik sinir sisteminde de bulunur. Lewy cisimcikleri periferden başlayarak beyin sapına ve son olarak kortekse yayılır (26). Sinir sistemi ile bağışıklık sistemi arasında geniş bir iletişim ve sinerji vardır. Bu kanıtlar giderek artmaktadır (27, 28). Bu etkileşim, PH'nin yanı sıra Alzheimer hastalığı, Lewy cisimcikli demans, myotrofik lateral skleroz, frontotemporal demans veya Huntington hastalığı gibi pek çok nörodejeneratif hastalıkta ortak bir bulgu olan nöroinflamasyonun temelini oluşturur. TLR'ler enfeksiyonun sensörleri olarak işlev görerek innate immünitenin aktivasyonunu ve adaptif immün cevabı sağlarlar. TIRAP, TLR-4 sinyal yolunda bir adaptör proteindir. Horng ve arkadaşlarının çalışmasına göre, TIRAP eksik fareler TLR-5, TLR-7 ve TLR-9 ligandlarına normal yanıt verirken, TLR-4'ün ligandı olan lipopolisakkariteye karşı sitokin üretimi ve NF- $\kappa$ B, MAP kinaz aktivasyonu bozulmuştur. Aynı şekilde, TIRAP eksik fareler TLR-1, TLR-2 ve TLR-6'nın ligandlarına da zayıf yanıt vermiştir. Bu da TIRAP'ın TLR ailesi üyelerinin sinyalizasyonunda farklı etkilere sahip olduğunu göstermiştir (29).

Bu çalışmamızda, nöroinflamasyon ile bağlantılı olan TIRAP rs8177374 polimorfizminin Parkinson hastalığı ile ilişkisi ilk kez araştırılmıştır. Bu polimorfizmde C nükleotidi serin aminoasidini, T nükleotidi ise lösin aminoasidini kodlar. Serinden löesine değişim, TIRAP'ın sinyal yolağında fonksiyon kaybına ve NF- $\kappa$ B sinyalizasyonunda bozulmaya yol açar (19). Ancak bizim çalışmamızda S180L varyantının Parkinson hastalığı üzerinde anlamlı bir etkisi olmadığını gördük. PH'ya yakınlıkta rol oynayan genetik faktörleri araştır-

ran çeşitli meta-analizler, 5-HTTLPR, SNCA rs356220 ve GAK rs1564282 polimorfizmlerinin PH hastalarında farklı etkileri olduğunu ortaya koymuştur. 5-HTTLPR polimorfizmi, PH hastalarında depresyon riskini artıran bir faktördür (30). SNCA rs356220 polimorfizmi, PH gelişiminde artmış risk ile ilişkilidir (31). GAK rs1564282 polimorfizmi ise, PH hastalarında hastalık şiddetini artıran bir faktördür (32). TIRAP 975C/T (rs8177374) polimorfizmi farklı çalışmalarda incelenmiş ve farklı sonuçlar elde edilmiştir. Selvaraj ve ark. bu polimorfizmin akciğer tüberkülozlu hastalarda TLR ve TIRAP genlerinin hastalığa duyarlılık veya direnç göstermesinde rol oynayıp oynamadığını araştırmışlardır. Güney Hindistan'da yaptıkları çalışmada TLR genlerinin allel ve genotip frekanslarının hasta ve sağlıklı gruplar arasında anlamlı farklılık göstermediğini bulmuşlardır. Ancak TIRAP 975C/T (Ser180Leu) polimorfizminin T allel frekansının akciğer tüberkülozlu hastalarda sağlıklı kontrollere göre önemli ölçüde (p:0,026) yüksek olduğunu ve TT genotipinin hastalarda daha yaygın bulunduğunu saptamışlardır. Bu polimorfizmin hastalığa duyarlılık oluşturabileceğini ileri sürmüşlerdir (33). Oysa Khor ve arkadaşları Batı Afrika ve Cezayirli popülasyonlarda akciğer tüberkülozu ile TIRAP rs8177374 gen polimorfizmi arasında bir ilişki olmadığını, hatta heterozigot genotipin düşük riskli olduğunu bildirmişlerdir. Benzer şekilde, Nejentsev ve arkadaşları da Rus, Ganalı ve Endonezyalı bireylerde TIRAP S180L varyantının hastalığa duyarlı olmadığını göstermişlerdir (19). Bununla birlikte, Miao ve ekibinin yaptığı bir meta-analizde de TIRAP S180L polimorfizminin tüberküloz ile ilişkili olmadığı sonucuna varılmıştır (34). Rani ve ekibi sıtma (malarya) enfeksiyonu olan hastalarda TIRAP 975C/T (rs8177374) polimorfizmini inceledikleri çalışmalarında hastalığın şiddeti ile genotipler arasında anlamlı bir farklılık bulmuşlardır. CT genotipi taşıyan hastalar sıtma enfeksiyonuna daha yatkın olup hafif enfeksiyon geçirirken, CC genotipi taşıyan hastalar şiddetli enfeksiyon yaşamışlardır. Ayrıca sıtmanın etkenlerinden Plasmodium vivax enfeksiyonu CT genotipli bireylerde diğerlerine göre daha sık görülmüştür (35). Karody ve arkadaşları ise doğal immün sistem sinyal yollarındaki genetik varyasyonların preterm doğum üzerindeki etkilerini inceledikleri çalışmalarında TLR sinyal yolunda bir adaptör molekül olan TIRAP'ın rs8177374 polimorfizminin 32 haftadan küçük preterm doğum riskini azalttığını belirtmişlerdir (36). Değirmenci ve arkadaşları tip-2 diyabet ve insülin direncinde TLR-4 ve sinyal yolağındaki TIRAP ve IRAK1 adaptor moleküllerinin genetik varyasyonlarını 7 farklı polimorfizmle araştırdıkları çalışmalarında bu polimorfizmlerin tip-2 diyabet ile ilişkili olmadığını bulmuşlardır. Bu polimorfizmlerden biri de bizim çalışmamızdaki gibi TIRAP rs8177374 polimorfizmidir. Ayrıca çalışmada proinf-

lamatuar sitokin seviyeleri Eliza yöntemiyle ölçülmüş ve TLR-4, TIRAP ve IRAK1'in genetik varyasyonlarının proinflatuar sitokin seviyeleri ile ilişkili olduğu saptanmıştır (37). Fulgione ve arkadaşları ise TIRAP ve MyD88'in *Helicobacter pylori* enfeksiyonu ile ilişkisini inceledikleri çalışmalarında MyD88'in enfeksiyon ile korelasyonu olmadığını, ancak TIRAP rs8177374 polimorfizminin heterozigot formunun (CT) enfeksiyona karşı dirençli olduğunu belirlemişlerdir. Ayrıca TIRAP ve MyD88'in birlikte fonksiyonunun *Helicobacter pylori* kolonizasyonuna karşı daha etkili olduğunu göstermişlerdir (38). Çalışmamızda Parkinson hastaları ve sağlıklı kontrol grubu arasında TIRAP 975C/T (Ser180Leu) polimorfizminde anlamlı bir farklılık bulamadık. T alleli ve TT genotipi her iki grupta da çok düşük frekansta iken, C alleli ve CC genotipi daha yaygın olarak görülmekteydi. Bu da TIRAP 975C/T (Ser180Leu) polimorfizminin Parkinson hastalığına yatkınlık veya koruyuculuk sağlamadığını göstermektedir. TIRAP 975C/T (Ser180Leu) polimorfizminin farklı popülasyonlarda aynı hastalık gruplarında hastalığa duyarlılık düzeyinin değişmesi, etnik, genetik, çevresel ve konak-patojen etkileşiminin değişkenliğinden kaynaklanıyor olabilir. Bu çalışmamızda TIRAP rs8177374 polimorfizminin Parkinson hastalığı ile ilişkisi ilk kez araştırıldı. Ancak çalışmamızın kısıtlılığı, Isparta ili ve çevresindeki bireyleri kapsamı ve daha az sayıda hasta bireye ulaşabilmiş olmamızdır. Bu nedenle elde ettiğimiz sonuçlar genelleştirilemez. Bu polimorfizmin Parkinson hastalığı ile ilişkisini daha iyi anlamak için daha geniş bir popülasyonda ve daha fazla sayıda hasta bireyde ileri çalışmalar yapılması gerekmektedir. Ayrıca bu polimorfizmin Parkinson hastalığı ile ilişkili diğer faktörlerle (örneğin yaş, cinsiyet, sigara kullanımı, ilaç tedavisi, klinik bulgular) etkileşimini de incelemek yararlı olacaktır. Bununla birlikte TIRAP rs8177374 polimorfizminin Parkinson hastalığının patogeneziindeki rolünü aydınlatmak için TIRAP'ın sinyal yolağındaki diğer moleküllerle (örneğin TLR'ler, NF-κB, proinflatuar sitokinler) ilişkisini moleküler düzeyde araştırmak da önemli bir adım olacaktır. Gelecekteki çalışmalar, TIRAP 975C/T (Ser180Leu) polimorfizmi ile Parkinson hastalığında nöroinflamasyonun gelişiminde, doğal immünitenin rolünü anlamamıza yardımcı olabilir.

#### Çıkar Çatışması Beyanı

Herhangi bir çıkar çatışması yoktur.

#### Etik Kurul Onayı

Çalışma; Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu Başkanlığı'ndan 15.07.2015 tarihli ve 166 sayılı kararı ile etik kurul izni alınarak gerçekleştirildi. Çalışma Helsinki Deklarasyonuna uygun olarak yürütülmüştür.

#### Bilgilendirilmiş Onam

Çalışmada yer alan tüm bireylerden bilgilendirilmiş onam ve verilerin yayınlaması için yazılı izin alındı.

#### Finansman

Bu çalışma; Süleyman Demirel Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından 4777-YL1-16 proje numarası ile desteklendi.

#### Verilerin Ulaşılabilirliği

Veriler, gizlilik veya diğer kısıtlamalar nedeniyle yalnızca yazarlardan talep edilebilir.

#### Yazar Katkıları

NŞC: Çalışmanın planlanması; Formal Analizler; Finansman Eldesi; Metodoloji; Proje Yönetimi; Kaynakların Sağlanması; Denetim; Validasyon; Makalenin düzenlenmesi.

MKK: Çalışmanın planlanması; Verilerin İşlenmesi; Formal Analizler; Araştırma; Metodoloji; Validasyon; Görselleştirme; Makalenin Yazımı; Makalenin düzenlenmesi.

#### Kaynaklar

1. Adams RD, Victor M, Ropper AH, Daroff RB. Principles of neurology. LWW; 1997.
2. Ham RJ. Primary care geriatrics: a case-based approach: Elsevier Health Sciences; 2007.
3. Beach TG, Adler CH, Sue LI, Vedders L, Lue L, White III CL, et al. Multi-organ distribution of phosphorylated  $\alpha$ -synuclein histopathology in subjects with Lewy body disorders. *Acta neuropathologica*. 2010;119(6):689-702.
4. 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.
5. Kalia LV, Lang AE. Parkinson disease in 2015: evolving basic, pathological and clinical concepts in PD. *Nature reviews Neurology*. 2016;12(2):65.
6. Sechi LA, Caggiu E, Arru G. Inflammation, infectious triggers and Parkinson disease. *Frontiers in Neurology*. 2019;10:122.
7. Mogi M, Harada M, Kondo T, Riederer P, Inagaki H, Minami M, et al. Interleukin-1 $\beta$ , interleukin-6, epidermal growth factor and transforming growth factor- $\alpha$  are elevated in the brain from parkinsonian patients. *Neuroscience letters*. 1994;180(2):147-50.
8. Mogi M, Harada M, Riederer P, Narabayashi H, Fujita K, Nagatsu T. Tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) increases both in the brain and in the cerebrospinal fluid from parkinsonian patients. *Neuroscience letters*. 1994;165(1-2):208-10.
9. 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.
10. 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.
11. 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 Neuro-*

- hemistry. 2008;104(6):1504-25.
12. Reynolds AD, Kadiu I, Garg SK, Glanzer JG, Nordgren T, Cibrowski P, et al. Nitrated alpha-synuclein and microglial neuro-regulatory activities. *Journal of Neuroimmune Pharmacology*. 2008;3(2):59-74.
  13. Zhang W, Wang T, Pei Z, Miller DS, Wu X, Block ML, et al. Aggregated  $\alpha$ -synuclein activates microglia: a process leading to disease progression in Parkinson's disease. *The FASEB Journal*. 2005;19(6):533-42.
  14. 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.
  15. Underhill DM, Ozinsky A. Toll-like receptors: key mediators of microbe detection. *Current opinion in immunology*. 2002;14(1):103-10.
  16. Akira S, Takeda K. Toll-like receptor signalling. *Nature reviews immunology*. 2004;4(7):499-511.
  17. Bonizzi G, Karin M. The two NF- $\kappa$ B activation pathways and their role in innate and adaptive immunity. *Trends in immunology*. 2004;25(6):280-8.
  18. 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.
  19. 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.
  20. 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. *JBS*. 2016;98(4):285-94.
  21. 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.
  22. 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  $\alpha$ -synuclein immunoreactivity. *Journal of Neuropathology & Experimental Neurology*. 1998;57(4):334-7.
  23. Spillantini MG, Crowther RA, Jakes R, Hasegawa M, Goedert M.  $\alpha$ -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.
  24. 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.
  25. Kuzuhara S, Mori H, Izumiyama N, Yoshimura M, Ihara Y. Lewy bodies are ubiquitinated. *Acta neuropathologica*. 1988;75(4):345-53.
  26. 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.
  27. Amor S, Woodroffe MN. Innate and adaptive immune responses in neurodegeneration and repair. *Immunology*. 2014;141(3):287-91.
  28. 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.
  29. Horng T, Barton GM, Flavell RA, Medzhitov R. The adaptor molecule TIRAP provides signalling specificity for Toll-like receptors. *Nature*. 2002;420(6913):329.
  30. Cheng P, Zhang J, Wu Y, Liu W, Zhu J, Chen Z, et al. 5-HTTLPR polymorphism and depression risk in Parkinson's disease: an updated meta-analysis. *Acta Neurol Belg*. 2021;121(4):933-40.
  31. Fang J, Hou B, Liu H, Zhang X, Wang J, Zhou C, et al. Association between SNCA rs2736990 polymorphism and Parkinson's disease: a meta-analysis. *Neurosci Lett*. 2017;658:102-7.
  32. Ma ZG, He F, Xu J. Quantitative assessment of the association between GAK rs1564282 C/T polymorphism and the risk of Parkinson's disease. *J Clin Neurosci*. 2015;22(7):1077-80.
  33. 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.
  34. 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.
  35. 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.
  36. 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.
  37. 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 $\beta$ , and TNF $\alpha$  levels in type 2 diabetes and insulin resistance. *Inflammation Research*. 2019:1-14.
  38. 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.