ÇANKIRI KARATEKİN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

TLR2, TLR4 VE TLR9 POLİMORFİZMLERİNİN İYE ENFEKSİYONLARININ TİP VE VİRÜLANSI İLE MOLEKÜLER İLİŞKİSİ

Sameer Abdulrazzaq ALI ALI

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

ÇANKIRI
2022

Her hakkı saklıdır

TEZ ONAYI

Sameer Abdulrazzaq ALI ALI tarafından hazırlanan **"TLR2, TLR4 ve TLR9 Polimorfizmlerinin İYE Enfeksiyonlarının Tip ve Virülansı ile Moleküler İlişkisi"** adlı tez çalışması 01/07/2022 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği/oy çokluğu ile Çankırı Karatekin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalında **Yüksek Lisans Tezi** olarak kabul edilmiştir.

Danışman : Dr. Öğr. Üyesi Filiz SARIKAYA PEKACAR

Eş Danışman : Doç. Dr. Ahmed AbdulJabbar SULEIMAN

Jüri Üyeleri :

Başkan : Prof. Dr. İsim SOYİSİM
Biyoloji Anabilim Dalı
Çankırı Karatekin Üniversitesi

Üye : Doç. Dr. İsim SOYİSİM
Biyoloji Anabilim Dalı
Yıldız Teknik Üniversitesi

Üye : Dr. Öğr. Üyesi İsim SOYİSİM
Biyoloji Anabilim Dalı
Çankırı Karatekin Üniversitesi

Yukarıdaki sonucu onaylarım

Prof. Dr. İbrahim ÇİFTÇİ

Enstitü Müdürü

ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ

Çankırı Karatekin Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğine göre hazırlamış olduğum "**TLR2, TLR4 ve TLR9 Polimorfizmlerinin İYE Enfeksiyonlarının Tip ve Virülansı ile Moleküler İlişkisi**" konulu tezin bana ait, özgün bir çalışma olduğunu; çalışmamın hazırlık, veri toplama, analiz ve bilgilerin sunumu olmak üzere tüm aşamalarında bilimsel etik ilke ve kurallara uygun davrandığımı, tezin içerdiği yenilik ve sonuçları başka bir yerden almadığımı, tezde kullandığım eserleri usulüne göre kaynak olarak gösterdiğimi, tezin Çankırı Karatekin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü'nden başka bir bilim kuruluna akademik amaç ve unvan almak amacıyla vermediğimi ve bu çalışmanın Çankırı Karatekin Üniversitesi tarafından kullanılan "Bilimsel İntihal Tespit Programı"yla tarandığını, "intihal içermediğini" beyan ederim. Çalışmamla ilgili yaptığım bu beyana aykırı bir durumun saptanması halinde ortaya çıkacak tüm ahlaki ve hukuki sonuçlara razı olduğumu bildiririm. Çankırı Karatekin Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca gereğinin yapılmasını arz ederim (01/07/2022).

Sameer Abdulrazzaq ALI ALI

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

TLR2, TLR4 VE TLR9 POLİMORFİZMLERİNİN İYE ENFEKSİYONLARININ TİP VE VİRÜLANSI İLE MOLEKÜLER İLİŞKİSİ

Sameer Abdulrazzaq ALI ALI

Çankırı Karatekin Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Filiz SARIKAYA PEKACAR
Eş Danışman: Doç. Dr. Ahmed AbdulJabbar SULEIMAN

İdrar yolu enfeksiyonuna neden olan bakterilerin antibiyotik direnci günden güne artmaktadır. Özellikle idrar yolları enfeksiyonun tedavisinde antibiyotik kullanımı hususunda dikkatli olunması gerekmektedir. Bu çalışma, Irak'ın Ramadi şehrinde yürütülmüştür. İdrar Yolu Enfeksiyon'lu hastalardan 95 idrar örneği toplanmıştır. Bu örneklerden bakteriler izole edilerek teşhisleriyapılmıştır. *E. coli* en sık tanımlanan Gram negatif bakteri olarak tespit edilmiştir. Bunu sırasıyla; *Klebsiella* sp., *Proteus* sp. ve Gram pozitif bakterilerden *Staphylococcus* sp., *Streptococcus* sp. takip etmiştir. Daha sonra İYE olan hastalardan alınan kan örneklerinden DNA izolasyonu yapılmıştır. RS121917864, RS4986790 ve RS352140 SNP'lerin genotipini belirlemek için TETRA ARMS-PCR tekniği kullanılmıştır. İstatistiksel analiz sonuçları değerlendirildiğinde, RS4986790'nın hasta örneklerinde GG genotip sıklığını %28, kontrol örneklerinde %2 olarak tespit edilmiştir. RS352140'nın, hasta örneklerinde GG genotip sıklığı %28, AA genotip sıklığı ise %4 olarak bulunmuştur. Elde ettiğimiz sonuçlar, yabanıl genotipin tüm SNP'lerde idrar yolu enfeksiyonuna en sık rastlanan genotip olduğunu göstermiştir. Bunlara ek olarak homozigot genotip Gram-negatif bakterilerde, Rs121917864, Rs4986790 ve Rs352140'ta en az sıklıkta görülmüştür. Gram pozitif bakterilerde ise en yüksek enfeksiyon Rs121917864, Rs4986790 homozigot genotiplerinde ve Rs352140 yabanıl genotipinde tespit edilmiştir. Ayrıca, en düşük enfeksiyon oranları ise Rs121917864 ve mutasyona uğramış Rs121917864 ve Rs4986790 genotiplerinde bulunmuştur.

2022, 82 sayfa

ANAHTAR KELİMELER: İdrar yolu enfeksiyonu, Rs121917864, Rs4986790, s352140

ABSTRACT

Master of Science Thesis

MOLECULAR ASSOCIATION OF TLR2, TLR4 TLR9 POLYMORPHISMS WITH TYPE AND VIRULENCE OF UTI INFECTIONS

Sameer Abdulrazzaq ALI ALI

Çankırı Karatekin University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Biology

Advisor: Asst. Prof. Dr. FİLİZ SARIKAYA PEKACAR
Co-Advisor: Assoc. Prof. Dr. Ahmed AbdulJabbar SULEIMAN

Antibiotic resistance of bacteria causing urinary tract infection is increasing day by day. Particular attention should be paid to the use of antibiotics in the treatment of urinary tract infections. This study was conducted in Ramadi, Iraq. 95 urine samples were collected from patients with UTI. Bacteria were isolated and identified from these samples. *E. coli* has been identified as the most frequently identified Gram-negative bacteria. This in order; *Klebsiella* sp., *Proteus* sp. and Gram-positive bacteria *Staphylococcus* sp., *Streptococcus* sp. has followed.. Then, DNA isolation was made from blood samples taken from patients with UTI. TETRA ARMS-PCR technique was used to determine the genotype of RS121917864, RS4986790 and RS352140 SNPs. When the statistical analysis results were evaluated, the frequency of GG genotyping in patient samples of RS4986790 was determined as 28% and 2% in control samples. The frequency of GG genotyping in patient samples of RS352140 was 28%, and the frequency of AA genotyping was 4%. Our results showed that the wild genotype was the most common genotype for urinary tract infection in all SNPs. In addition, the homozygous genotype was seen least frequently in Gram-negative bacteria, Rs121917864, Rs4986790 and Rs352140. In Gram-positive bacteria, the highest infection was detected in Rs121917864, Rs4986790 homozygous genotypes and Rs352140 wild genotypes. In addition, the lowest infection rates were found in Rs121917864 and mutated Rs121917864 and Rs4986790 genotypes.

2022, 82 pages

Keywords: Urinary tract infection, Rs121917864, Rs4986790, s352140

ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR

“TLR2, TLR4 ve TLR9 Polimorfizmlerinin İYE Enfeksiyonlarının Tip ve Virülansı ile Moleküler İlişkisi” adlı bu Yüksek Lisans çalışmamın her safhasında yakın ilgi ve önerileri ile beni yönlendiren, her türlü yardımını esirgemeyen, her zaman destekleyen ve inanılmaz bir anlayış gösteren değerli hocam Dr. Öğr. Üyesi Filiz SARIKAYA PEKACAR ve çalışmanın yönlendirilmesinde ve yürütülmesinde yol gösteren herkese sonsuz teşekkür ederim.

Sameer Abdulrazzaq ALI ALI

Çankırı, Temmuz 2022

İÇİNDEKİLER

ÖZET ..... **i**
ABSTRACT ..... **ii**
ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR ..... **iii**
İÇİNDEKİLER ..... **iv**
SİMGELER DİZİNİ ..... **vi**
KISALTMALAR DİZİNİ ..... **vii**
ŞEKİLLER DİZİNİ ..... **viii**
ÇİZELGELER DİZİNİ ..... **ix**
1 GİRİŞ **1**
2 LİTERATÜR ÖZETİ **2**
2.1 İdrar Yolları Enfeksiyonu Semptomları **2**
2.2 İdrar Yolları Enfeksiyonunun Tekrar Görülmesi **5**
2.3 Bakteriyoloji **6**
2.4 Risk Faktörleri **7**
2.5 Hastalık Yükü **9**
2.6 Toll Benzeri Reseptörler **10**
2.6.1 Tanım ve genel bilgiler **10**
2.6.2 TLR çeşitleri ve moleküler mekanizmaları **12**
2.7 TLR2, TLR4 VE TLR9 Tip Virülansı ile Moleküler İlişkisi **24**
2.7.1 İdrar yolları enfeksiyonu ve TLR2 ..... **25**
2.7.2 İdrar yolları enfeksiyonu ve TLR4 ..... **27**
2.7.3 İdrar yolları enfeksiyonu ve TLR9 ..... **29**
3 MATERYAL VE METOT **30**
3.1 Materyal **30**
3.1.1 Ekipmanlar **30**
3.1.2 Kimyasal maddeler **31**
3.2 Yöntemler **33**
3.2.1 Kültür Ortamı Hazırlığı **33**
3.2.2 Reaktifler ve çözelti hazırlama **33**
3.2.3 Numune toplanması **35**

3.2.4 Bakteriyel izolasyon ve tanımlama 36
4 BULGULAR VE TARTIŞMA 39
4.1 Yaş 39
4.2 Bakterilerin Dağılımı 40
4.3 Moleküler Çalışma 41
4.4 RS121917864 42
4.5 Rs4986790 44
4.6 Rs352140 48
4.7 Gram Leke Olarak Sınıflandırılan Bakteriyel Enfeksiyonlu Genotipler 50
4.8 Bakteri Türü Olarak Sınıflandırılan Bakteriyel Enfeksiyonlu Genotipler 51
5 SONUÇ VE ÖNERİLER 53
KAYNAKLAR 57
EKLER 80
ÖZGEÇMİŞ 82

SİMGELER DİZİNİ

%	Yüzde
µL	Mikro litre
mL	Mili litre
ºC	Derece Santigrat

KISALTMALAR DİZİNİ

ASB	Asemptomatik bakteriüri
dsRNA	Çift sarmallı RNA
E. coli	*Escherichia coli*
GPI	Glikosilfosfatidilinositol
IFN-a/β	İnterferons alpha, beta
İYE	İdrar yolu enfeksiyonu
LPS	Lipopolisakkaritin
LRR	Lösin açısından zengin tekrar
MALP-2	Mikoplazmal makrofaj aktive edici lipopeptidler 2'nin
TLR	Toll benzeri reseptörler

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 4.1 Yaş grubu olarak sınıflandırılan İYE hastası 39
Şekil 4.2 Bakteri tipi olarak sınıflandırılan İYE hastası 40
Şekil 4.3 Kandan ekstrakte edilen genomik DNA'nın %2'lik agaroz jelde 45 dakika boyunca elektroforezi 42
Şekil 4.4 PCR Tetra Arms ürününün agaroz jel elektroforezi (rs121917864) (L:ladder, N: negatif kontrol 1,5 saat boyunca %2 agaroz üzerinde 1-50 hasta numunesi. 43
Şekil 4.5 PCR Tetra Arms ürününün agaroz jel elektroforezi (rs121917864) (L:ladder, N: negatif kontrol 1,5 saat boyunca %2 agaroz üzerinde 1-45 kontrol numunesi 44
Şekil 4.6 PCR Tetra Arms ürününün agaroz jel elektroforezi (rs4986790) (L:ladder, N: negatif kontrol 1,5 saat boyunca %2 agaroz üzerinde 1-50 hasta numunesi). 45
Şekil 4.7 PCR Tetra Arms ürününün agaroz jel elektroforezi (rs4986790) (L:ladder, N: negatif kontrol 1,5 saat boyunca %2 agaroz üzerinde 1-45 kontrol numunesi) 46
Şekil 4.8 Agaroz jel elektroforesis of PCR Tetra Arms product (rs352140) (L:ladder, N: negatif kontrol 1,5 saat boyunca %2, agaroz Üzerinde 1-50 hasta numunesi) 49
Şekil 4.9 PCR Tetra Arms ürününün agaroz jel elektroforezi (rs352140) (L:ladder, N: negatif kontrol 1,5 saat boyunca %2 agaroz üzerinde 1-45 kontrol numunesi) 49
Şekil 4.10 Gram pozitif ve negatif olarak sınıflandırılan bakteriyel enfeksiyonlu genotipler 51
Şekil 4.11 Bakteri türleri olarak sınıflandırılan bakteriyel enfeksiyonlu genotipler 52

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1 İdrar yolu enfeksiyonu sendromları (Foxman *et al.* 2002) 3
Çizelge 3.1 Ekipman ve aparat listesi 30
Çizelge 3.2 Diğer laboratuvar malzemeleri 31
Çizelge 3.3 Kimyasal maddelerin listesi 31
Çizelge 3.4 PCR ve Elektroforez malzemelerinin listesi 31
Çizelge 3.5 Kültür ortamı listesi 32
Çizelge 3.6 DNA Ekstraksiyon kiti ve PCR tespit kiti 32
Çizelge 3.7 Antibiyotik diskleri 33
Çizelge 3.8 TLR2- Rs5743708 37
Çizelge 3.9 TLR4 Rs121917864 38
Çizelge 3.10 Rs4986790 38
Çizelge 3.11 TLR9 Rs4986791 38
Çizelge 3.12 Rs352140 38
Çizelge 3.13 Rs5743836 38
Çizelge 4.1 Kontrol türleri 40
Çizelge 4.2 İdrar yolu enfeksiyonu hastaları ve kontrol grupları arasında rs121917864 genotipleri arasındaki ilişkinin istatistiksel değerlendirmeleri 43
Çizelge 4.3 İdrar yolu enfeksiyonu hastaları ve kontrol grupları arasında rs4986790 genotipleri arasındaki ilişkinin istatistiksel değerlendirmeleri 45
Çizelge 4.4 İdrar yolu enfeksiyonu hastaları ve kontrol grupları arasında rs352140 genotipleri arasındaki ilişkinin istatistiksel değerlendirmeleri 48

1 GİRİŞ

İdrar yolları enfeksiyonunun tanımına, çeşitlerine, nüksetmesine, bakteriyolojisine, risk faktörlerine ve hastalık yüküne yer verilmektedir. Bununla birlikte, tedavi yöntemlerine de değinilmektedir. Bununla birlikte henüz başlangıçta ifade etmek yerinde olacaktır ki idrar yolu enfeksiyonuna neden olan bakterilerin antibiyotik direnci günden güne artmaktadır ve idrar yolu enfeksiyonlarının (İYE) tedavisinde antibiyotik kullanımı konusunda dikkatli olmak şarttır. İdrar yolları enfeksiyonu; üretra, mesane, üreterler ve böbrekler gibi idrar yolunun herhangi bir yerinde ortaya çıkan ve oldukça sık görülen bir enfeksiyon türüdür. İdrar yolları enfeksiyonlarının, ayakta gerçekleştirilen tedavilerin yaklaşık %1'ine karşılık geldiği bilinmektedir (Schappert and Rechtsteiner 2011). İdrar yolları enfeksiyonları genellikle kadınlarda daha sık görülmektedir. İdrar yolları enfeksiyonu prevelansının yatan hastalar arasında da yüksek olduğu bilinmektedir. Yapılan bir çalışmada, hastanede kaldıkları süre boyunca en az 24 saat kateterize edilen hastaların yaklaşık %4'ünde idrar yolları enfeksiyonu tespit edilirken, kateterize edilmeyen hastaların yaklaşık %1'inde idrar yolları enfeksiyonu tespit edilmiştir (Uçkay *et al.* 2013).

Bu çalışmada, *Klebsiella pneumonia'*nın neden olduğu idrar yolu enfeksiyonunda TLR2, TLR4 ve TLR9 geni polimorfizmleri arasındaki ilişki araştırılacaktır. Bunun yanı sıra idrar yolu enfeksiyonları ile TLR2, TLR4 ve TLR9 genlerinin genotipleri arasındaki ilişki, oluşan enfeksiyonun şiddeti ve enfeksiyon konsantrasyonunu artıran genetik değişiklikler araştırılacaktır.

2 LİTERATÜR ÖZETİ

2.1 İdrar Yolları Enfeksiyonu Semptomları

İdrar yolları, dışarı açılması sebebiyle mikropların istilasına özellikle yatkın hale gelmektedir. Bakteriler, normalde üretral açıklığın etrafındaki dokularda bulunmakta ve sıklıkla idrar yolunu kolonize etmektedir. *Escherichia coli* ile kolonize olmuş erkekler arasında idrar kültüründe üretral kolonizasyon oranı %1- %5 aralığındayken bu oran daha önce idrar yolları enfeksiyonu geçiren bir kadın ile cinsel birliktelik yaşayan erkeklerde daha yüksek olmaktadır (Foxman *et al.* 2002). Kadınlar arasında ise üretral kolonizasyon oranının daha yüksek olduğu bilinmektedir. Öyle ki, kadınlarda vajinal boşluk ve rektal açıklık, üretral açıklığa yakındır ve kadınlarda bakterilerin üremesine elverişli olan daha nemli periüretral alanların varlığı söz konusudur. Üretra girişinde, daha kısa üretral uzunluk nedeniyle bakterilerin kadın mesanesine yükselme olasılığı erkek mesanesine göre daha yüksektir. Kadınlarda asemptomatik bakteriüri (ASB) görülme sıklığı %3,5 iken (Evans *et al.* 1978), bu oran cinsel ilişkiden sonra çok daha yüksek hale gelmektedir (Evans *et al.* 1978, Nicolle *et al.* 1982). Ayrıca hem erkeklerde hem de kadınlarda asemptomatik bakteriüri görülme sıklığı yaşla birlikte artış göstermektedir (Evans *et al.* 1978, Nicolle *et al.* 1982, Nicolle 2009). Asemptomatik bakteriüri için yapılan çalışmalarda diğer idrar yolları enfeksiyonlarında görülen semptomların benzerleri görülmüştür. Yani her tür enfeksiyonda pozitif idrar kültürü ve idrar tahlili bulguları aynıdır ancak idrar yolu enfeksiyonuna neden olabilecek herhangi bir belirti ya da semptomun varlığından söz etmek mümkün değildir (Evans *et al.* 1978, Nicolle 2009).

Çizelge 2.1 İdrar yolu enfeksiyonu sendromları (Foxman *et al.* 2002)

	Laboratuvar Bulguları		
Sendrom	**İdrar Kültürü**	**İdrar Tahlili**	**Belirtiler ve Semptomlar**
Asemptomatik Bakteriüri	+	+	İdrar yolu ile ilgili bir bulgu yoktur.
Sistit	+	+	Sıklık, aciliyet, dizüri; daha az yaygın olarak suprapubik basınç, halsizlik, noktüri, inkontinans (çocuklarda ve yaşlılarda daha yaygındır)
Piyelonefrit	+	+	Sıklık, aciliyet, dizüri, sırt ağrısı, yan ağrısı, ateş, titreme, halsizlik, bulantı, kusma, anoreksi, karın ağrısı.
Kateterle İlişkili İdrar Yolları Enfeksiyonu	+	+	Tanımlanmış başka bir neden olmaksızın ateş, titreme, zihinsel durum değişikliği, halsizlik veya uyuşukluk; yan ağrısı, kostovertebral açı hassasiyeti, akut hematüri, pelvik rahatsızlık. Eğer Katater çıkarılmışsa: Sistit veya piyelonefrit ile aynı.

Asemptomatik bakteriürinin, gebelik haricinde tedavi edilebilir bir durum olmadığı bilinmektedir. Bunun aksi durumunda, asemptomatik bakteriüri tedavisi, sağlıklı bireylerde genellikle semptomatik idrar yolları enfeksiyonun ortaya çıkmasına neden olmaktadır ve antibiyotik direncine sahip bakteri seçilimini artırmaktadır (Cai *et al.* 2012). Bu nedenle, kateterize hastalar arasında asemptomatik bakteriüri taraması ve tedavisi önerilmemektedir (Hooton *et al.* 2010). Bununla birlikte, gebelik dönemindeki fizyolojik değişimler, asemptomatik bakteriüri tanısı konan gebe kadınları piyelonefrite daha duyarlı hale getirmektedir (Ramos *et al.* 2012). Gebelik döneminde asemptomatik bakteriürinin görülme sıklığı %2- %20 arasında değişebilmektedir ve bu hastaların tedavi edilmemesi halinde söz konusu vakaların %20-%40'ında piyelonefrit gelişimi görülebilmektedir (Kazemier *et al.* 2012). Piyelonefrit hem anne hem de yenidoğan için hayati bir tehlike riski ortaya çıkarabilmektedir (Kazemier *et al.* 2012). Gebelik döneminde asemptomatik bakteriüri taraması ve tedavisi bu riski yaklaşık %80 oranına azaltabilmektedir (Smaill and Vazquez 2007).

Dizüri gibi idrar yolları enfeksiyonuna ait üriner semptomlar yalnızca idrar yolları enfeksiyonlarından kaynaklanmayabilmektedir bu nedenle asemptomatik bakteriürinin yüksek sıklığı da göz önünde bulundurulduğunda, idrar yolları enfeksiyonu tanısı koymak karmaşık bir hal alabilmektedir. Vajinit, klamidya ve bel soğukluğu gibi hastalıklar da

idrar yolları enfeksiyonuna benzer semptomlara neden olabilmektedir. Bu nedende asemptomatik bakteriüri ve idrar yolları semptomlarının tek başına ortaya çıkması önem arz etmektedir. Özellikle bu durumların cinsel aktivite ile ilişkili olduğu göz önünde bulundurulduğunda, idrar kültürü ve idrar tahlili ile tanı konulmalıdır. Bunun aksi durumlar da söz konusudur. Örneğin, 18 – 29 yaş aralığında ve cinsel olarak aktif olan kadınlarda her ne kadar sıklık, aciliyet ve dizüri ile yüksek idrar yolları enfeksiyonu riski görülse de negatif sonuç veren idrar kültürü söz konusu olabilmektedir (Gordon *et al.* 2013, Bent *et al.* 2002).

Sistitte idrar semptomları mesane ile sınırlıdır, ancak üst kanal tutulumu meydana gelebilmektedir. Premenopozal kadınlar arasında, dizüri en yaygın semptomlar olarak görülmektedir. Postmenopozal kadınlar, yaşlılar ve çocuklar arasında hasta halsizlik, noktüri, inkontinans veya kötü kokulu idrar şikâyeti görülebilmektedir. Sistit hayli yaygındır. Öyle ki, idrara bağlı bir sıkıntı ile acil servise başvuran hastalar arasında sistitin görülme sıklığı kadınlarda %4-%5 aralığında iken erkeklerde %1,5-%2 aralığındadır (Anger *et al.* 2008). Bununla birlikte, toplamda bir yıl içerisinde gerçekleştirilen klinik başvurularında; kadınlarda %12-%13 erkeklerde ise %2,5-%3 oranında bir sıklık görülmektedir (Laupland *et al.* 2007). Kadınların yaşamları boyunca en az bir kez idrar yolları enfeksiyonuna maruz kalma oranı ise %60- %65 aralığındadır (Foxman *et al.* 2000).

Piyelonefritte idrar yolları semptomları görülebileceği gibi görülmediği durumlarda söz konusu olmaktadır ancak buna sıklıkla ateş, titreme, sırt ağrısı, bulantı ve kusma eşlik edebilmektedir. Piyelonefritin görülme sıklığı sistitten daha düşüktür ancak yaş ve cinsiyet kriterleri benzerdir (Ki *et al.* 2004). Kadınlar, erkeklere göre daha yüksek bir risk grubu oluşturmaktadır ancak bu farklılıklar ilerleyen yaşla birlikte azalmaktadır (Brown *et al.* 2005).

İdrar sondası takılan ya da başka bir ifade ile kateterize edilen hastalarda, sondanın takıldığı her bir gün için idrar yolları enfeksiyonu gelişme riski %3- %10 oranında artış göstermektedir (Warren *et al.* 1979). Bununla birlikte, idrar yolları enfeksiyonu semptomları görülmüyorsa, nedensiz ateş, titreme veya halsizlik gibi genel semptomlar

da söz konusu değilse, kateterle ilgili bakteriüri tedavi edilebilir bir durum olarak değerlendirilememektedir (Hooton *et al.* 2010). Kateterler, tüm nozokomiyal enfeksiyonların neredeyse üçte birini oluşturan nozokomiyal idrar yolları enfeksiyonları için başlıca risk faktörü olarak karşımıza çıkmaktadır (Lewis *et al.* 2013). Kateterle ilgili idrar yolları enfeksiyonu riski, katater tipine bağlı değildir (Pickard *et al.* 2012).

2.2 İdrar Yolları Enfeksiyonunun Tekrar Görülmesi

İdrar yolları enfeksiyonları, değişen sıklıkta nüksetme eğilimindedir. Yapılan çeşitli çalışmalar, hastalığın ilk bir yıl içerisinde nüksetme sıklığının %19 - %22 olduğunu belirtirken (Craig *et al.* 2009, Salo *et al.* 2012), ilk altı ay içerisinde nüksetme sıklığının % 24 - %25 oranında olduğunu göstermektedir (Foxman *et al.* 2000). Bununla birlikte, daha önce iki ya da daha fazla defa idrar yolları enfeksiyonu hastalığı geçiren kadınların daha önce bir kez idrar yolları enfeksiyonu geçiren ya da hiç enfeksiyon geçirmeyen kadınlara göre 2–5 kat daha fazla nüksetme riski ile karşı karşıya olduğu tespit edilmiştir (Hooton *et al.* 1996).

İdrar yolları enfeksiyonunun nüksetme oranı erkeklerde kadınlara göre daha azdır. Ayakta tedavi gören erkek hastalarda ilk bir ay içerisinde nüksetme riskinin yaklaşık %4 olduğu belirtilirken, bir ay ve bir yıl aralığında nüksetme oranının yaklaşık %8 olduğu tespit edilmiştir (Drekonja *et al.* 2013).

Ayrıca belirtmek gerekir ki, piyelonefrit de sıklıkla nüksetmektedir. Öyle ki, ilk 12 ay içerisinde tekrar riski kadınlarda yaklaşık %10 erkeklerde ise yaklaşık %6 olarak bildirilmektedir. İkinci kez tekrarlamasına yönelik oranlar da kadınlarda ve erkeklerde %20 - %22 iken beşinci defa tekrarlama oranları da hem erkekler hem kadınlarda yaklaşık %50 - %55 aralığındadır (Ki *et al.* 2004).

2.3 Bakteriyoloji

İdrar; bakteri gelişimi ve büyümesi için oldukça elverişli bir ortamdır. Bu nedenle idrarda çok sayıda ve çeşitli bakteri üremektedir. İdrar yolunda kolonileşen bakteriler, çoğu durumda hastalığa neden olmamaktadır. Bunun nedeni, konakçının, bakterileri sistemden uzaklaştırmak için çok çeşitli etkili savunma yöntemine sahip olmasıdır. Bu yöntemlerin başlıcaları, idrara çıkma ve doğal bağışıklık tepkisidir (Mulvey *et al.* 2000).

İdrar yolları enfeksiyonuna neden olan bakterilerin hayatta kalmalarını sağlayan özelleşmiş niteliklerinden söz etmek mümkündür. Bunların arasında, biyofilm oluşumu, ürotelyal hücre istilası, adezinler, toksinler ve sideroforların sayılması mümkündür. Ayrıca bakterilerin vücuttan uzaklaştırılmasını önleyen kateterizasyon gibi müdahaleler de etkilidir (Mulvey *et al.* 2000, Pitout 2012). Öyle ki, nozokomiyal enfeksiyon oranının toplum kaynaklı enfeksiyon oranına göre yüksek olmasının nedeni de bu şekilde açıklanabilmektedir (Pitout 2012).

İdrar yolları enfeksiyonlarının tüm semptomlarında, her yaş grubunda ve her iki cinsiyette, tüm ortamlarda en büyük etken *Escherichia coli* bakterisidir. Öyle ki, yaş grubuna bakılmaksızın, ayakta tedavi gören hastaların yaklaşık %75'inde, nozokomiyal enfeksiyonların yaklaşık %70'inde ve sağlık bakımı ile ilgili enfeksiyonların yaklaşık %50'inde etkili olan bakteri *E. coli*'dir (Laupland *et al.* 2007). İdrar yolları enfeksiyonlarına neden olan *E. coli*, bilinen üropatojenik faktörlerin varlığında değişiklik göstermektedir ve çok çeşitlidir (Marrs *et al.* 2005, Vigil *et al.* 2011) ve ayrıca çok sayıda farklı genetik soyu temsil etmektedir (Paulsen *et al.* 2013, Wirth *et al.* 2006). Üropatojenik *E. coli'*nin antibiyotik direnci hayli artmış olsa da direnç paternleri hasta popülasyonuna ve coğrafi bölgeye bağlı olarak değişkenlik göstermektedir (Paulsen *et al.* 2013).

E. coli'ye ek olarak, farklı bakteri türleri de değişen sıklıkta idrar yolları enfeksiyonlarına neden olabilmektedir. Bu bakteriler; gram negatif *Klebsiella pneumoniae, Pseudomonas aeruginosa* ve *Proteus mirabilis* ile gram pozitif *Streptococcus agalactiae* ve *Staphylococcus saprophyticus* olarak sıralanabilmektedir (Amna *et al.* 2013). Tekrar

nükseden idrar yolları enfeksiyonlarında, erkeklerde, yabancı cisim veya tıkanıklığın söz konusu olduğu vakalarda ve idrar sondası olan hastalarda *E. coli* harici etkenlerden kaynaklı idrar yolları enfeksiyonu gelişme riski daha yüksektir (Amna *et al.* 2013).

2.4 Risk Faktörleri

İdrar yolları enfeksiyonları için risk faktörleri, konağı potansiyel üropatojenlere maruz bırakan faktörlere, üropatojenler tarafından kolonizasyonu artıranlara ve konağın kolonizasyona neden olan hastalıklara yanıt vermesine yol açan faktörlere ayrılarak incelenebilmektedir. Üropatojenler, bağırsak, periüretral bölge, vajinal boşluk ve idrar yolu dahil olmak üzere birçok ortamda yaşamaktadır. Bireyler arasında cinsel aktivite dahil olmak üzere kişiden kişiye doğrudan temas yoluyla ve fekal-oral yolla aktarılabilmektedir. Üropatojenlerin çoğu, bakteriyoloji başlığında da incelendiği üzere idrar yolunda yerleşmelerini sağlayan özelleşmiş niteliklere sahiptir (Terlizzi *et al.* 2017)

İdrar yolları enfeksiyonlarının temel risk faktörleri şu şekilde sıralanabilmektedir:

- Cinsel ilişki
- Daha önce gerçekleşen idrar yolları enfeksiyonu
- Kadın cinsiyeti
- Kondom, diyafram ve spermisid gibi doğum kontrol araçlarının kullanılması,
- Vajinal enfeksiyon,
- Diyabet
- Obezite
- Genetik yatkınlık
- Anatomik anomaliler.

Bağırsakta, periüretral bölgede ve vajinal boşlukta bulunan bakteriler sürekli olarak idrar yoluna doğru hareket etmektedir. Bu hareket manipülasyon, kateter yerleştirme ve cinsel aktivite ile güçlendirilmektedir. Üretral ve anal açıklık ve potansiyel üropatojenlerin yaşadığı vajinal boşluk arasındaki daha kısa mesafe nedeniyle kadınlar özellikle bu

hastalığa daha duyarlıdır. Üretral açıklıktan mesaneye olan mesafe de kadınlarda daha kısadır, bu da bakterilerin mesaneye yükselmesini kolaylaştırmaktadır ve bunun yanı sıra kadınlarda periüretrumda bakterilerin büyüdüğü daha nemli alanlar vardır. Bununla birlikte, semptomlar yalnızca konakçının bağışıklık yanıtı devreye girdiğinde ortaya çıkmaktadır. Sık idrara çıkamayan, nörojenik mesaneli veya tıkanıklığı olan hastalar gibi mesanesini tamamen boşaltamayan veya bağışıklığı baskılanmış, komorbiditeleri olan ve yaşı ilerlemiş olanlarda bağışıklık tepkisine bağlanma şansı artmaktadır (Amna *et al.* 2013, Salvador *et al.* 2012).

Yukarıda da belirtildiği üzere, idrar yolları enfeksiyonlarının nüksetme oranı hayli yüksektir. Geçmişte idrar yolları enfeksiyonu tanısı alan hastalar önemli bir risk grubunu oluşturmaktadır (Foxman *et al.* 2000). Bu durum, konakçı davranışının, konakçı duyarlılığının ve bakteriyel faktörlerin ya da bu üç faktörün hepsinin bir bileşimi ile ilişkili olabilmektedir. Konakçının davranışı, idrar yolları enfeksiyonları ile güçlü bir şekilde ilişkilidir. Cinsel aktivite, bakterilerin hem erkeklerde hem de kadınlarda üretraya taşınmasına neden olabilmekte ve idrar yolları enfeksiyonu riskini artırabilmektedir. Doğum kontrol yöntemlerinde kullanılan araçlar da idrar yolları enfeksiyonu riskini artırmaktadır. Öyle ki kondom, diyafram ve spermisid kullanımı ile idrar yolları enfeksiyonu riski arasında doğrusal bir ilişki mevcuttur (Foxman *et al.* 2000). Ayrıca, bakteriye vajinoz gibi vajinal enfeksiyonlar da idrar yolları enfeksiyonu riskinin artışı ile ilişkilidir. Bu tür enfeksiyonlar *E. coli*'nin büyümesini ve kolonileşmesini kolaylaştırabilmektedir (Harmanlı *et al.* 2000, Scholes *et al.* 2005). İdrar yolları enfeksiyonlarının semptomlarından piyelonefrit ve sistit için risk faktörleri hemen hemen aynı olmakla birlikte, gebelik esnasında meydana gelen anatomik değişiklikler, gebe kadınları piyelonefrite karşı daha savunmasız hale getirmektedir (Scholes *et al.* 2005, Ramos *et al.* 2012).

Özellikle nozokomiyal enfeksiyon hallerinde, hastalara katater uygulanması da enfeksiyon için risk oluşturmaktadır. Hastaya kataterin yerleştirilmesi ile bakterilerin mesaneye taşınması kolaylaştırılmaktadır. Bu nedenle katater, bakteri istilası için ek bir portal işlevi görmektedir. Katater yerleştirilmesi, idrar yolları enfeksiyonu riskini dört kata kadar artırmaktadır (Uçkay *et al.* 2010). Bununla birlikte, herhangi bir tıbbi

manipülasyon ve komorbiditenin varlığı, idrar yolları enfeksiyonu riskini artırmaktadır. Öyle ki, huzurevi ve bakımevi gibi yerlerde barınan kişilerde en sık görülen enfeksiyon türü idrar yolları enfeksiyonudur (Dwyer *et al.* 2013). Herhangi bir cerrahi operasyon ve bilhassa genitoüriner sistemin manipülasyonunu ve idrar sondasının yerleştirilmesini içeren operasyonlar, idrar yolları enfeksiyonu riskini büyük ölçüde artırmaktadır (Regenbogen *et al.* 2011). Ayrıca, idrar yolları enfeksiyonu riski ilerleyen yaşla doğru orantılı bir şekilde artış göstermektedir. Yaşlılarda en etkili risk faktörleri, şiddetli bilişsel bozukluklar, günlük yaşamı etkileyen sakatlık halleri, idrar kaçırma ve yakın zamanda geçirilen idrar yolları enfeksiyonlarıdır (Caljouw *et al.* 2011).

Tip – 2 Diyabet de idrar yolları enfeksiyon riskini artırmaktadır. Diyabet hastalarında idrar yolları gelişme riski sağlıklı bireylere göre yaklaşık dört kat daha fazladır (Hirji *et al.* 2012). Bununla birlikte obezitenin de idrar yolları enfeksiyonları için bir risk oluşturduğu tespit edilmiştir. Vücut kitle indeksleri yüksek olan obez kişilerde idrar yolları riskinin yaklaşık %25 oranında fazla olduğu bildirilmektedir. Bununla birlikte, D vitamin düzeyi, yaş, günlük etkinlik düzeyi gibi metabolik hastalıklarla ilişkili faktörler de idrar yolları enfeksiyonu riski ile doğrudan ilişkilidir (Saliba *et al.* 2020).

Hastalık yükünün ve hastalık şiddetinin bakteriyel virülans genleri ile konakçının bağışıklık tepkisi arasındaki bir etkileşimden kaynaklandığı da değerlendirilmektedir (Ragnarsdóttir and Svanborg 2012). Bu bağlamda, asemptomatik bakteriüri ve piyelonefritli bireyler arasında, toll benzeri reseptörler (TLR), interferon düzenleyici faktörler ve kemokin reseptörleri gibi enflmatuar yanıtı kodlayan genlerdeki polimorfizimlerin de hastalık üzerinde etkisi söz konusudur (Hawn *et al.* 2009, Ragnarsdóttir and Svanborg 2012).

2.5 Hastalık Yükü

İdrar yolları enfeksiyonlarının büyük çoğunluğu mesane ile sınırlıdır. Tipik semptomlar, hematüri, dizüri, aciliyet, sıklık, noktüri, rahatsız edici koku ve karın ağrısıdır. Semptomlar yaklaşık dört gün devam etmekte, yaklaşık üç gün aktivite kısıtlamasına neden olmakta ve yine yaklaşık üç gün boyunca rahatsızlık hissi yaratmaktadır.

Semptomların üç günden fazla sürdüğü vakaların sayısı hayli azdır. En kısa süre semptom hematüri iken en uzun süren semptom idrar sıklığıdır. Bununla birlikte idrar yolları enfeksiyonlarının yıllık toplam maliyeti milyarlarca doları bulmaktadır (Foxman 2000)

İdrar yolları enfeksiyonun en büyük nedeni *E. coli* bakterisidir. Ayrıca, *E. coli* bakteriyemisi de görülmektedir. Üriner Kataterizasyon uygulanan yatarak tedavi gören hastalarda bakteriyemi riski ve bakteriyemiye bağlı ölüm riski önemli ölçüde yükselmektedir. Katater ilişkili bakteriyemi idrar yolları enfeksiyonu olan hastalarda yedi gün içerisinde ölüm riski yaklaşık %30 civarındadır (Melzer and Welch 2013).

2.6 Toll Benzeri Reseptörler

Bu bölümde, meyve sineği olarak da bilinen *Drosophila* ve memelilerde doğuştan gelen bağışıklık sistemi uyarımını sağlayan ve bir dizi konak savunma mekanizmasını başlatan Toll benzeri reseptörler üzerinde durulacaktır. Toll benzeri reseptör (TLR) ailesinin bilinen on üç üyesi vardır ve TLR-1'den TLR-13'e kadar sıralanmaktadır. Çalışmamızın bu kısmında, memelilerdeki ve dolayısıyla insandaki TLR reseptörleri ele alınacaktır.

2.6.1 Tanım ve genel bilgiler

Bağışıklık sistemi, istilacı patojenik mikroorganizmaları analiz ederek, kendine ait olan ve olmayanı ayırt ederek belirlemekte ve ortadan kaldırmaktadır. Memelilerde bağışıklık sistemi "doğuştan gelen bağışıklık" ve "uyarlanabilir bağışıklık" şeklinde ikiye ayrılabilmektedir (Hoffman *et al.* 1999). Uyarlanabilir bağışıklık, B ve T hücrelerinin yüzeyinde eksprese edilen antijen reseptörlerini kullanarak ve böylelikle peptit antijenlerini tanıyarak kendine ait olmayanları tespit etmektedir. Çok çeşitli potansiyel antijenlere yanıt verebilmek için B ve T hücreleri, immünoglobulin ve T hücresi reseptör genlerini yeniden düzenleyerek binden fazla farklı antijen reseptörü türü oluşturmaktadır. Antijen reseptörlerinin kognat antijen tarafından bağlanması, lenfositin klonal genişlemesini ve ayrıca antijene özgü antikorların üretimini tetiklemektedir. Hayli karmaşık olan bu sistem, yalnızca omurgalılarda görülmekte ve mikrobiyal enfeksiyona

karşı güçlü bir savunma sistemi oluşturmaktadır. Buna karşılık, ilk olarak yaklaşık bir asır önce tanımlanmış olan doğuştan gelen bağışıklık sistemi, filogenetik olarak korunmuştur ve hemen hemen tüm çok hücreli organizmalarda mevcuttur (Hoffman *et al.* 1999).

Droshophila'nın mantar enfeksiyonuna karşı geliştirdiği savunma mekanizmaları incelenirken keşfedilen Toll ailesinin bir homologu da kısa bir süre sonra memelilerde tanımlanmıştır. Bunun ardından, yapısal olarak meyve sineğindeki Toll ile ilişkili bir protein ailesi tanımlanmış ve bunların hepsine Toll Benzeri Reseptörler (TLR) adı verilmiştir (Medzhitov *et al.* 1997). TLR ailesi temelde TLR-1 ve TLR-10 aralığında on adet üyeden oluşurken, son gelişmelerle birlikte bu sayının 13'e kadar yükseldiği bilinmektedir (Medzhitov *et al.* 1997, Rock *et al.* 1998, Takeuchi *et al.* 1999, Chuang and Ulevitch 2000, Chuang and Ulevitch 2001).

İnsandaki her bir TLR geninin kromozomal konumu tespit edilmiştir (Rock *et al.* 1998, Takeuchi *et al.* 1999, Chuang and Ulevitch 2000). TLR1 ve TLR6, 4p14'e çok yakın bir konumda (Rock *et al.* 1998, Takeuchi *et al.* 1999), TLR2 ve TLR3 sırasıyla 4q32 ve 4q35 üzerinde, TLR4 ve TLR5 ise sırasıyla 9q32-33 ve 1q33.3 üzerinde (Rock *et al.* 1998), TLR7 ve TLR8, Xp22'de ardışık olarak bulunurken, TLR9, p21.3 üzerinde haritalandırılmıştır (Chuang and Ulevitch 2000).

TLR ailesi üyeleri yapısal olarak, hücre dışı alanlarda, bir lösin açısından zengin tekrar (LRR) alanı ve hücre içi alanlarında ise bir TIR alanının varlığı ile karakterize edilmektedir. İnsan TLR ailesi üyelerinin amino asit dizilerinin karşılaştırılması yapıldığında TLR ailesi üyelerinin beş alt aileye ayrıldığı görülebilmektedir (Takeuchi *et al.* 1999). Bu alt aileler, TLR3, TLR4, TLR5, TLR2 ve TLR9 alt aileleri olarak incelenebilmektedir. TLR2 alt ailesi, TLR1, TLR2 TLR6 ve TLR10'dan oluşmaktadır. TLR9 alt ailesi, TLR7, TLR8 ve TLR9'dan oluşmaktadır. TLR3, TLR4 ve TLR5 aileleri ise yalnızca kendilerinden ibarettir (Takeuchi *et al.* 1999).

TLR2 alt ailesinde TLR1 ve TLR6, oldukça benzer proteinlerdir ve genel amino asit sekansında %69,3 özdeşlik sergiler, ancak her iki reseptörün TLR alanları, %90'ın

üzerinde özdeşlikle yüksek oranda korunmaktadır (Takeuchi *et al.* 1999). TLR1 ve TLR6, bir eksondan oluşan benzer genomik yapılara sahip olduklarından ve aynı kromozomda art arda konumlandıklarından, bunlar evrimsel bir kopyalamanın ürünleri olarak değerlendirilebilmektedir (Takeuchi *et al.* 1999).

TLR'lerin beş alt aileye bölünmesi de genomik yapılarına bağlıdır. TLR2 geninin iki eksonu vardır. Genellikle tüm kodlama dizileri ekson 2'nin içinde bulunmaktadır. Bunun yanı sıra TLR7, TLR8 ve TLR9 dahil olmak üzere TLR9 alt aile üyeleri iki ekson tarafından kodlanmaktadır (Chuang and Ulevitch 2000, Chuang and Ulevitch 2001, Du *et al.* 2000).

TLR7 ve TLR8 genleri, amino asit dizilerinde %42,3 özdeşlik ve %72,7 benzerlik gösterir, benzer genomik yapılara sahiptir ve X kromozomunda birbirine yakın konumlandırılmıştır (Chuang and Ulevitch 2000, Chuang and Ulevitch 2001, Du *et al.* 2000).

TLR4 ve TLR5 genleri sırasıyla dört ve beş eksona sahiptir. TLR3, beş eksona sahip olması ve proteinin 2 ile 5 eksonları tarafından kodlanması bakımından TLR'ler arasında benzersiz bir yapıya sahip olduğunun göstergesidir. Bu durum, sadece bir veya iki ekson tarafından kodlanan diğer tüm TLR'lerin tersi olarak karşımıza çıkmaktadır (Chuang and Ulevitch 2000, Chuang and Ulevitch 2001, Du *et al.* 2000).

2.6.2 TLR çeşitleri ve moleküler mekanizmaları

Tanımlanan ilk memeli TLR'si olan TLR4'ün ektopik aşırı ekspresyonunun, çeşitli inflamatuar sitokinler ve kostimülatör moleküller için genlerin indüksiyonuna neden olduğu gösterilmiştir. Bu nedenle, TLR'lerin, özellikle doğuştan gelen bağışıklığın aktivasyonunda bağışıklık tepkilerine dahil olabileceği tahmin edilmektedir. 1998'de TLR4'ün Gram-negatif bakterilerin temel hücre duvarı bileşeni olan lipopolisakkaritin (LPS) tanınmasında rol oynadığı tespit edilmiştir. Daha sonra, TLR ailesinin diğer üyelerinin bir dizi mikrobiyal bileşenin tanınması için gerekli olduğu fikri ortaya

çıkmıştır. Buna bağlı olarak, TLR'lerin yapısal benzerliği, mikrobiyal bileşenlerin tanınmasındaki ortak işlevlerini yansıtıyor gibi görünmektedir (Medzhitov *et al.* 1997).

Bu başlık altında TLR reseptörlerinin, karşılıklı ilişki, yapısal benzerlik ve köken olarak ayrı ayrı gruplayarak incelemenin yerinde olacağı düşünülmektedir. Dolayısıyla önce ilk tanımlanan TLR olan TLR4, daha sonra, birlikte faaliyet gösteren TLR2, TLR1 ve TLR6 reseptörleri, sonra sırasıyla ayrı ayrı TLR5 ve TLR3 son olarak da ikisi bir arada olmak üzere TLR9 ve TLR7 reseptör alt aileleri incelenecektir.

2.6.2.1 TLR4

TLR4, lipopolisakkaritleri (LPS) tanımaktadır.C3H / HeJ ve C57BL10 / ScCr adlı iki fare suşunun LPS'ye hipo-duyarlı olduğu uzun zamandır bilinmektedir. Bu hiporeponsiviteden sorumlu genleri arayan iki farklı çalışmada, TLR4'teki mutasyonlar tanımlanmıştır (Poltorak *et al.* 1998, Qureshi *et al.* 1999). C3H / HeJ fare suşu, yüksek oranda korunmuş bir prolinin histidin ile değiştirilmesine yol açan TLR4 geninin hücre içi bölgesinde bir nokta mutasyonuna sahiptir. Bu mutasyon, baskın bir negatif alel oluşumuna, TLR4 aracılı sinyallemede kusurlara ve sonuçta LPS'ye yanıtın bastırılmasına neden olmaktadır (Hoshino *et al.* 1999). Başka bir LPS hipo-duyarlı suş olan C57BL10 / ScCr, TLR4 geninde boş bir mutasyona sahiptir (Poltorak *et al.* 1998, Qureshi *et al.* 1999). Gen hedeflemesi ile oluşturulan TLR4 eksikliği olan fareler de LPS'ye hipo-duyarlıdır ve bu, TLR4'ün LPS'nin tanınması için temel bir reseptör olduğunu doğrulamaktadır (Hoshino *et al.* 1999).

LPS'nin tanınması, TLR4'e ek olarak başka moleküller gerektirir. LPS, serumda bulunan LPS bağlayıcı proteine bağlanmaktadır ve bu LPS-LPS bağlayıcı protein kompleksi, daha sonra, tercihen monositler/ makrofajlar ve nötrofillerde eksprese edilen bir glikosilfosfatidilinozitolankorlanmış molekül olan CD14 tarafından tanınmaktadır. LPS stimülasyonunu, CD14 ve TLR4 arasındaki artan fiziksel yakınlık izler, bu da CD14 ve TLR4'ün LPS sinyallemesinde etkileşime girebileceğini düşündürmektedir (Jiang *et al.* 2000, Da Silva Correia *et al.* 2001). MD-2, TLR4'ün hücre dışı kısmı ile birleşen ve LPS yanıtını artıran bir molekül olarak tanımlanmaktadır (Shimazu *et al.* 1999, Akashi *et al.*

2000). LPS'ye hipo-duyarlı olan Çin hamsteri yumurtalık hücre dizileri, MD-2 geninde mutasyonlara sahiptir (Schromm *et al.* 2001). MD-2 eksikliği olan farelerin üretimi, LPS'ye yanıtta temel rolünü göstermiştir. MD-2 eksikliği olan farelerden alınan makrofajlar, dendritik hücreler ve B hücreleri, LPS'ye ciddi şekilde bozulmuş yanıtlar sergilemektedir. Dahası, MD-2 eksikliği olan fareler, TLR4 eksikliği olan farelere benzer şekilde LPS kaynaklı endotoksin şokuna dirençlidir (Nagai *et al.* 2002). MD-2, endoplazmik retikulum / cis Golgi'de TLR4 ile birleşmekte ve ardından TLR4 / MD-2 kompleksi, fazla MD-2'nin salgılandığı hücre yüzeyine hareket etmektedir (Visintin *et al.* 2001). TLR4 normalde vahşi tip hücrelerde hücre yüzeyinde bulunurken, Golgi aygıtında MD-2 eksikliği olan hücrelerde bulunur, bu da MD-2'nin TLR4'ün hücre içi dağılımı için gerekli olduğunu göstermektedir (Nagai *et al.* 2002). Bir başka hücre yüzeyi proteini olan RP105 de LPS'nin tanınmasında rol oynar. RP105, TLR'lerin hücre dışı kısmında bulunanlarla yapısal olarak ilişkili olan ve tercihen B hücrelerinin yüzeyinde eksprese edilen bir LRR alanı içermektedir (Miyake *et al.* 1995). RP105'ten yoksun farelerden alınan B hücreleri, LPS'ye ciddi şekilde azalmış yanıt göstermektedir. RP105, LPS'yi tanımak için işlevsel olarak TLR4 ile birleşmektedir. Bu nedenle, birçok bileşen LPS'nin tanınmasında rol oynamaktadır, bu da fonksiyonel LPS reseptörünün büyük bir kompleks oluşturduğunu göstermektedir (Ogata *et al.* 2000).

LPS'ye ek olarak, TLR4 birkaç başka ligandı da tanımaktadır. Taxol, Pasifik porsuk ağacının (*Taxus brevifolia*) bir ürünüdür ve insanlarda güçlü antitümör aktivitesi sergiler. Taxol'ün antimitotik etkisi, mitoz sırasında uygun hücre bölünmesini önleyen mikrotübülleri bağlama ve stabilize etme kabiliyetinden kaynaklanmaktadır. Taxol, farelerde LPS'ninkilere benzer immünostimülatör aktivitelere sahiptir, ancak insanlarda değildir. Farelerde TLR4 ve MD-2, Taxol'ün LPS-mimetik aktivitesine aracılık etmektedir (Byrd-Leifer *et al.* 2001, Kawasaki *et al.* 2000, Kawasaki *et al.* 2001). TLR4 ve CD14, respiratuar sinsitik virüsün füzyon proteinini tanımaktadır (Kurt-Jones *et al.* 2000, Haynes *et al.* 2001).Buna göre, TLR4 için mutasyona uğramış C3H / HeJ ve C57BL / 10ScNCr fareleri, solunum sinsitik virüsüne karşı azaltılmış bir enflamatuar tepki ve bozulmuş klirens sergilemektedir. Fare meme tümör virüsü gibi murin retrovirüsler tarafından B hücrelerinin aktivasyonu TLR4'e bağlıdır. Fare meme tümör virüsünün ve Moloney murin lösemi virüsünün zarf proteinlerinin, TLR4 ile immünopresipitasyon

yaptığı bildirilmiştir (Rassa *et al.* 2002). Dolayısıyla, TLR4'ün muhtemelen belirli bir virüs grubunun tanınmasında rol oynadığını söylemek mümkün görünmektedir.

TLR4, bazı endojen ligandları da tanımaktadır. Isı şoku proteinleri, bakterilerden memelilere kadar değişen organizmalar arasında yüksek oranda korunmaktadır. Isı şoku, ultraviyole radyasyon ve viral ve bakteriyel enfeksiyon gibi çok çeşitli stresli koşullar, ısı şoku proteinlerinin sentezinin artmasına neden olmaktadır. Isı şoku proteinlerinin birincil işlevleri, gelişmekte olan veya anormal şekilde katlanmış proteinlere refakat etmektir. Ek olarak, ısı şoku proteinleri, proinflamatuar sitokinleri salgılamak ve kostimülatör molekülleri eksprese etmek için makrofajları ve dendritik hücreleri aktive etmektedir. Bu nedenle, ısı şoku proteinleri, bir tür endojen "tehlike sinyali" nin, yani stres veya anormal hücre ölümü (nekroz) geçiren hücreler tarafından salınan veya üretilen moleküller veya moleküler yapıların temsilcisi olarak değerlendirilmektedir. Bu sinyaller makrofajlar ve dendritik hücreler tarafından tanınmakta ve böylelikle immün tepkileri başlatılmaktadır (Gallucci and Matzinger 2001). Isı şoku proteininin bağışıklık hücrelerini aktive etme yeteneğinin en iyi ısı şoku proteini HSP60 için söz konusu olduğugösterilmiştir. HSP60'ın immüno-uyarıcı aktivitesine TLR4 aracılık etmektedir (Ohashi *et al.* 2000, Vabulas *et al.* 2001). Örneğin HSP60, gelişimi *Chlamydia pneumoniae*'nin neden olduğu kronik enfeksiyon ile bağlantılı olan ateroskleroza eşlik eden iltihaplanmada rol oynamaktadır. Chlamydia pneumoniae'den (cHSP60) türetilen HSP60, ateromatöz lezyondaki makrofajlarla birlikte lokalize olmakta ve bir enflamatuar yanıtı indüklemektedir. Bu nedenle, cHSP60'ın kronik Chlamydial enfeksiyonda ateroskleroza neden olan faktörlerden biri olduğu düşünülmektedir. CHSP60 ayrıca vasküler düz kas hücrelerini ve makrofajları TLR4 aracılığıyla aktive etmektedir (Sasu *et al.* 2001, Bulut *et al.* 2002). TLR4 için kusurlu fareler, HSP70'in yanı sıra HSP60'a yanıt olarak enflamatuar sitokinlerin kusurlu üretimini göstermektedir (Dybdahl *et al.* 2002, Vabulas *et al.* 2002, Asea *et al.* 2002). Bu nedenle TLR4, ısı şoku proteinleri tarafından ortaya çıkan enflamatuar yanıtlardan sorumlu gibi görünmektedir. Ancak, HSP70'in tanınması için hem TLR2 hem de TLR4 gereklidir (Vabulas *et al.* 2002, Asea *et al.* 2002). CD91 (α-makroglobulin reseptörü), HSP70 de dahil olmak üzere çeşitli ısı şoku proteinleri için bir reseptör olarak tanımlanmıştır (Basu *et al.* 2001). Ayrıca, HSP60 ile indüklenen enflamatuar sitokin üretimi gözlenmemesine rağmen, HSP60, TLR4-eksik C57BL /

10ScCr farelerinden makrofajlara bağlanmaktadır (Habich *et al.* 2002). Bu veriler, TLR4'ün ısı şoku proteinlerinin tanınmasında doğrudan yer almadığını göstermektedir.

Fibronektin, hyaluronik asit ve heparan sülfat dahil olmak üzere hücre dışı matris bileşenleri, doku hasarına yanıt olarak üretilir ve doku yeniden şekillenmesinde, örneğin yaralanma ajanını içerme, yarayı kapatma ve iyileşmeyi tamamlama gibi önemli roller oynar. Fibronektinin tip III tekrar ekstra A alanı, LPS tarafından tetiklenenlere benzer immüno-uyarıcı aktivitelere sahiptir. Fibronektinin ekstra A alanına bu yanıta, TLR4 aracılık etmektedir (Okamura *et al.* 2001). Ek olarak, hyaluronik asitin düşük moleküler ağırlıklı oligosakkaritlerinin, dendritik hücrelerin güçlü aktivatörleri olduğu ve dendritik hücrelerin hyaluronik asit tarafından aktivasyonuna TLR4 aracılık ettiği bildirilmektedir (Termeer *et al.* 2002). Ayrıca, heparan sülfatın polisakkarit fragmanlarının dendritik hücrelerin TLR4 yoluyla olgunlaşmasını indüklediği bildirilmiştir (Johnson *et al.* 2002). Ekstravasküler fibrin birikintileri, yaralanma, enfeksiyon ve immün bozukluklara eşlik eden erken ve kalıcı bir inflamasyon işareti olarak değerlendirilmektedir. Fibrin, iltihaplanma yerlerinde endotelyal hücre retraksiyonuna yanıt olarak vaskülatürden kaçan plazma kaynaklı fibrinojenden üretilmektedir. Fibrinojenin makrofajlardan kemokin üretimini indükleme kapasitesi, TLR4 tarafından tanınmasıyla ortaya çıkmaktadır. (Smiley *et al.* 2001). Bu nedenle TLR4, enflamasyon sırasında üretilen endojen ligandları, enfeksiyon yokluğunda bile tanıyarak, muhtemelen enflamatuar tepkinin çeşitli yönlerinde yer almaktadır. Bununla birlikte, bu endojen TLR4 ligandlarının hepsinin, bağışıklık hücrelerini yalnızca çok yüksek konsantrasyonlarda aktive ettiği belirtilmelidir; bu, lipopolisakarit (LPS) için gereken düşük konsantrasyonlara keskin bir zıtlık içindedir. Bu nedenle, bu endojen ligandların LPS gibi gerçek bir TLR4 ligandıyla kontamine olma olasılığı söz konusudur

Bu noktada akla TLR4'ün ligandını doğrudan tanıyıp tanımadığı gelmektedir. Bu konuda yapılan çalışmalara bakıldığında, LPS'nin TLR4 tarafından tanınmasının doğrudan bağlanmayı içerdiğinin öne sürüldüğü görülmektedir. Öte yandan farklı çalışmalar da LPS'nin MD-2'ye bağlandığını ve bu kompleksin bir şekilde TLR4'ü uyardığını öne sürmektedir (Lien *et al.* 2000, Poltorak *et al.* 2000, Viriyakosol *et al.* 2001, Akashi *et al.* 2001). Farklı ligandların türe özgü olarak tanınması, doğrudan etkileşim için bir tür

genetik kanıt sağlar. Örneğin, fare ancak insan hücreleri değil Taxol'u tanır ve bu türe özgü tanıma MD-2 tarafından sağlanmaktadır. (Kawasaki *et al.* 2001). Başka bir çalışmada ise araştırmacılar, insan TLR4'ün Pseudomonas aeruginosa'dan yüksek derecede asillenmiş LPS'yi tanıdığını göstermektedir (Hajjar *et al.* 2002).

TLR4, LPS'nin tanınmasında temel bir bileşen olarak kabul edilmektedir. Bununla birlikte, bazı çalışmalar, LPS'nin TLR4'ten bağımsız bir şekilde tanındığını da ortaya koymaktadır (Hajjar *et al.* 2002). Afinite kromatografisi, peptit kitle parmak izi ve floresans rezonans enerji transferini kullanan bir çalışma, hücre yüzeyinde LPS'yi bağlayan dört molekül tanımlamıştır (Triantafilou *et al.* 2001) Bunlar HSP70, HSP90, kemokin reseptörü 4 (CXCR4) ve büyüme farklılaşma faktörü 5'tir (Triantafilou *et al.* 2001).

LPS, hücre yüzeyine bağlandıktan sonra hızlı bir şekilde sitoplazmaya iletilmektedir. Wortmannin veya sitokalasin D gibi veziküler taşınmasını bloke eden maddeler, LPS'ye yanıt olarak nötrofillerin integrin aracılı yapışmasını bloke ettiğinden, bu hücre içi hareket belirli hücresel yanıtlar için gerekli gibi görünmektedir (Detmers *et al.* 1996). Bu, LPS'nin hem sitoplazmada hem de hücre yüzeyinde tanınabileceğini göstermektedir. LPS'nin hücre içi tanınmasını sağlayan bir diğer muhtemel molekül Nod1'dir. Nod1 orijinal olarak, kaspaz toplama alanını ve nükleotit bağlama oligomerizasyon alanını içeren apoptoz düzenleyici Apaf-1 ile yapısal olarak ilişkili bir molekül olarak tanımlanmaktadır. Nod1, bir nükleotid bağlanma alanına ve bir C-terminal LRR alanına bağlı bir N-terminal kaspaz-toplama alanına sahiptir. Apaf-1'den farklı olarak Nod1, NF-κB'nin aktivasyonunu indüklemektedir (Inohara *et al.* 1999). Nod1, LPS'ye ve hücre invaziv Shigella flexneri'ye yanıt olarak NF-κB'nin aktivasyonuna aracılık etmekte ve Nod1'in LPS için bir sitoplazmik reseptör olduğunu göstermektedir (Inohara *et al.* 2001, Girardin *et al.* 2001). Bu bulgular, Nod protein ailesinin, muhtemelen sitoplazmada LPS'nin tanınması yoluyla, iltihaplı tepkilere dahil olduğunu göstermektedir. Nod1 ve Apaf-1 ile aynı aileden bir molekül olan Nod2, aynı zamanda LPS ile indüklenen NF-κB aktivasyonunu da sağlar. Ayrıca, NOD2'deki çerçeve kayması ve yanlış anlam mutasyonları Crohn hastalığına yatkınlıkla ilişkilidir (Hugot *et al.* 2001, Ogura *et al.* 2001). Bununla birlikte, bu hastalarda bulunan mutasyonlar, muhtemelen LPS'yi tanıyan

LRR alanıyla sınırlıdır ve mutant NOD2 proteini, LPS ile indüklenen NF-κB aktivasyonunda kusurludur (Hugot *et al.* 2001, Ogura *et al.* 2001).

2.6.2.2 TLR2, TLR1 ve TLR6

TLR2, çeşitli mikrobiyal bileşenleri tanımaktadır. Bunlara örnek olarak, gram negatif bakteriler, mycoplazma ve spiroketler gibi patojen lipoproteinleri, gram pozitif bakterilerden peptidoglikan ve lipoteikoik asidi, mikrobakterilerden lipoarabinomannan'ı, *Trypanosoma cruzi*' den glikoinositolfosfolipidleri, *Staphylococcus epidermidis*'ten fenolde çözünür modülini, mantarladan zimosanı, *Treponema maltophilum*'dan glikolipitleri ve Neisseria'nın dış zarını oluşturan porinleri saymak mümkündür. (Aliprantis *et al.* 1999, Aliprantis *et al.* 2000, Brightbill *et al.* 1999, Lien *et al.* 1999, Hirschfeld *et al.* 1999, Schwandner *et al.* 1999, Yoshimura *et al.* 1999, Underhill *et al.* 1999, Lehner *et al.* 2001, Means *et al.* 1999, Means *et al.* 1999, Campos *et al.* 2001, Hajjar *et al.* 2001, Underhill *et al.* 1999, Opitz *et al.* 2001, Massari *et al.* 2002). TLR2 eksikliği olan farelerin analizi, TLR2'nin peptidoglikan ve lipoproteinlerin tanınması için kritik olduğunu ortaya koymaktadır (Takeuchi *et al.* 1999, Takeuchi *et al.* 2000). Buna göre, TLR2 eksikliği olan fareler, Gram-pozitif bakteri *S. aureus*'un neden olduğu enfeksiyona vahşi tip farelere göre daha yüksek duyarlılık göstermektedir (Takeuchi *et al.* 2000). Bir başka TLR2 eksikliği olan fare suşu, Borrelia burgdorferi tarafından enfeksiyondan sonra spiroketlerin kusurlu klirensini ve B. burgdorferi lipoproteinlerine tepkisizliği göstermektedir (Wooten *et al.* 2002). Ayrıca, TLR2, *Escherichia coli* ve Salmonella spp. Gibi enterobakterilerden LPS'leri tanıyan TLR4'ün aksine, *Leptospira interrogans* ve *Porphyromonas gingivalis*'ten çeşitli atipik LPS tiplerini tanımaktadır (Hirschfeld *et al.* 2001, Werts *et al.* 2001). TLR2 tarafından tanınan atipik LPS'lerin özellikleri, yapısal ve işlevsel olarak TLR4 tarafından tanınan enterobakteriler LPS'den farklıdır. Özellikle, iki tip LPS, lipit A bileşenindeki asil zincirlerinin sayısında yapısal olarak farklılık göstermektedir. TLR2 ve TLR4, LPS'deki bu yapısal varyasyonları farklı şekilde tanıyabilir. Bununla birlikte, bu çalışmaların çoğunda olduğu gibi, LPS preparatlarında çok küçük miktarlarda kontamine edici TLR2 ligandının bu sonuçların bazılarını gizlemesi mümkündür (Netea *et al.* 2002).

TLR2 ligand tanımanın bir yönü, diğer TLR ailesi üyeleriyle, özellikle farklı mikrobiyal bileşenler arasında ayrım sağlayan TLR6 ve TLR1 ile iş birliğini içermektedir. Yapılan bir çalışmada, TLR6'nın rolü, RAW264.7 makrofaj hücre hattına baskın bir negatif form eklenerek analiz edilmiştir. S. aureus'tan peptidoglikan ve salgılanan modülin, RAW264.7 hücrelerinde TNF-a üretimini indükleyen TLR2 ligandlarıdır, ancak bu yanıtlar baskın negatif TLR6'nın ekspresyonu ile bastırılmaktadır (Hajjar *et al.* 2001, Ozinsky *et al.* 2000). TLR2 ve TLR6^nın birlikte gerçekleştirdiği immüno-çökeltme, hücre içinde fiziksel olarak etkileşime girdiklerini işaret etmektedir (Ozinsky *et al.* 2000).

TLR6'dan yoksun farelerin analizi ayrıca, TLR6'nın mikrobiyal lipopeptitleri tanımak için TLR2 ile fonksiyonel olarak iş birliği yaptığını göstermektedir (Takeuchi *et al.* 2002). Örneğin, bakteriyel lipopeptidler, sadece diasile edilmiş mikoplazmal makrofaj aktive edici lipopeptidler 2'nin (MALP-2) aksine triasile edilmiş bir NH2-terminal sistein kalıntısına sahiptir. TLR6'dan yoksun farelerden alınan makrofajlar, MALP-2'ye herhangi bir enflamatuar yanıt göstermezken, bu hücreler normal olarak bakteriyel lipopeptitlere yanıt vermektedir. TLR2 eksikliği olan farelerden alınan makrofajlar, her iki lipopeptide de yanıt göstermemiştir. TLR2 / TLR6'daki yeniden yapılandırma deneyleri, iki kat eksik embriyonik fibroblastlar, MALP-2'ye yanıt için hem TLR2 hem de TLR6'nın gerekli olduğunu göstemektedir. Bu nedenle, TLR6, triasil ve diasil lipopeptitler arasındaki ince farkların spesifik olarak tanınmasını sağlamak için işlevsel olarak TLR2 ile birleşmektedir (Hajjar *et al.* 2001, Ozinsky *et al.* 2001).

TLR1'in işlevsel olarak TLR2 ile ilişkili olduğu da bildirilmiştir. TLR1 ve TLR2'nin HeLa hücrelerine birlikte transfeksiyonu, Neisseria meningitidis'ten salınan çözünür faktörlere duyarlılık kazandırmaktadır (Wyllie *et al.* 2000). TLR1 eksikliği olan farelerin analizi, triasil lipopeptidlerin tanınmasında TLR1'in önemini göstermiştir (Takeuchi *et al.* 2002). TLR1 eksikliği olan farelerden alınan makrofajlar, mikobakterilerden çeşitli triasil lipopeptid ve lipoprotein türlerine yanıt olarak enflamatuar sitokinlerin üretiminin bozulduğunu göstermektedir. N-terminal sisteinlerinde farklı uzunluklarda yağ asidi zincirlerine sahip bir dizi triasil lipopeptit, TLR1'den yoksun farelerden alınan hücreler üzerinde test edildiğinde, bir N-palmytoyl-S-dilauril sistein kalıntısı içeren lipopeptitlere verilen yanıt hayli bozunmuş olarak bulunmuştur (Takeuchi *et al.* 2002). Bu bozulma tam

olmamasına rağmen, bu çalışma TLR1'in lipopeptitlerin lipit kısımları arasındaki ince farklılıkların tanınmasından sorumlu olduğunu göstermektedir. TLR1, TLR6'ya oldukça benzerdir. Bu nedenle TLR6, bazı durumlarda triasil lipopeptitlerin tanınmasında TLR1 veya diğer TLR'lerde muhtemel bir eksikliği telafi edebilmektedir. B. burgdorferi'nin dış yüzey lipoproteininin tanınmasında TLR1'in rolü de gösterilmiştir (Alexopoulou *et al.* 2002).

Dolayısıyla, TLR2'nin birkaç TLR, en azından TLR1 ve TLR6 ile fonksiyonel olarak ilişkili olduğu gösterilmekte ve çok çeşitli mikrobiyal bileşenleri tanıdığı ortaya konulmaktadır. TLR2'nin diğer TLR'ler ile dimerizasyonunun konstitütif olarak mı yoksa ligand stimülasyonuna yanıt olarak mı indüklendiği bilinmemektedir.

Ayrıca TLR2'nin TLR1, TLR6 ve diğer TLR'leri içeren büyük bir kompleks oluşturup oluşturmadığı da bilinmemektedir.

2.6.2.3 TLR5

İnsan TLR5 eksprese eden Çin hamsteri yumurtalık hücreleri, *Listeria monocytogenes* kültür süpernatanlarına yanıt vermektedir. TLR5 uyarıcı aktivite içeren kültür süpernatanlarının saflaştırılması, aktif bileşen olarak flagellinin tanımlanmasına yol açmaktadır (Hayashi *et al.* 2001). Flagellin, Gramnegatif bakterilerin dış zarından uzanan oldukça karmaşık bir yapı olan flagellar'ın birincil protein bileşenidir. Flagella, bakterileri sulu ortamlarında hareket ettiren pervaneler görevi görür. Bakterilerin konakçı hücrelere bağlanmasına da yardımcı olmaktadır, bununla birlikte bakteri istilasına yardımcı olmakta ve böylece patojenik bakterilerin virülansına katkıda bulunmaktadırlar. Çeşitli Gram-negatif bakterilerden gelen flagellin genleri, amino ve karboksi uçlarında yüksek oranda korunmuş bölgeleri paylaşır ve bu bölgeler, flagellinin immünostimülatör aktivitesinden sorumludur (Eaves-Pyles *et al.* 2001).

Flagellin, yalnızca memelilerde değil bitkilerde de güçlü bir bağışıklık tepkisi ortaya çıkarır. Bitkilerde flagellin ile indüklenen bağışıklık tepkisi, bir MAP kinaz sinyalleme

zincirine bağlıdır (Gómez-Gómez and Boller 2000). Flagelline duyarsız arabidopsis mutantlarına yönelik bir tarama, tek bir genetik lokus olan FLS2'nin izolasyonuna yol açmaktadır. Bu gen, memeli TLR ailesinin hücre dışı kısmına benzer bir yapı gösteren lösin bakımından zengin bir tekrar (LRR) alanına sahip bir transmembran reseptör benzeri kinazı kodlamaktadır (Baker *et al.* 1997). Bu nedenle flagellin, bir LRR alanı içeren korunmuş konak reseptörleri tarafından tanınan, evrimsel olarak korunmuş bir patojenik moleküler modeli temsil etmektedir (Asai *et al.* 2002). FLS2 gen ürününe ek olarak bitkiler, patojenlere karşı dirençten sorumlu olan birkaç başka gen ürününe sahiptir. Bu ürünlerin birçoğu aynı zamanda bir LRR alanına sahiptir ve bazıları ayrıca bir Toll / IL-1 reseptör (TIR) alanına sahiptir, bu da LRR ve TIR alanlarının birçok çok hücreli organizmada patojenlere karşı konak savunması için önemli olduğunu göstermektedir (Asai *et al.* 2002).

2.6.2.4 TLR3

Çift sarmallı (ds) RNA, replikatif döngüleri sırasında birçok virüs tarafından, RNA sentezinde önemli bir ara ürün olarak veya DNA virüs genomlarının simetrik transkripsiyonu ile üretilen bir yan ürün olarak üretilmektedir. dsRNA, antiviral ve immüno-uyarıcı aktiviteler dahil olmak üzere çeşitli fizyolojik etkiler uygulayan güçlü bir tip I interferon (IFN-a ve -β) indükleyicisidir. dsRNA ayrıca bazı IFN ile indüklenebilir genlerin transkripsiyonunu indükler ve dendritik hücrelerin olgunlaşmasını destekler. Poliinosinik-polisitidilik asit [poli (I: C)] gibi bazı sentetik dsRNA'lar, dsRNA'nınkine benzer aktiviteye sahiptir. dsRNA'nın immünostimülatör aktivitesinin bir kısmının, dsRNA'ya bağımlı protein kinazın (PKR) aktivasyonu ile ortaya çıktığına inanılmaktadır. PKR eksikliği olan farelerden elde edilen embriyonik fibroblastlar, bazı yanıtlar kalmasına rağmen, dsRNA ve poli (I: C) 'ye bozulmuş yanıtlar göstermektedir (Yang *et al.* 1995, Chu *et al.* 1999). PKR'den yoksun farelerin ayrıca veziküler stomatit virüsünün neden olduğu solunum enfeksiyonuna duyarlı oldukları ortaya konulmuştur, ancak intravenöz ve intraperitoneal yollar gibi diğer yollardan enfeksiyonlara tepkiler görünüşte normal olarak kaydedilmiştir. Bu, PKR dışındaki ilave moleküllerin, dsRNA ve virüslerin tanınmasından sorumlu olabileceğini göstermektedir (Balachandran *et al.* 2000, Levy 2000).

DsRNA-tepkisiz hücre hattı 293'te insan TLR3'ün ekspresyonu, dsRNA ve poli'ye (I: C) yanıt olarak NF-KB'nin arttırılmış aktivasyonunu sağlamaktadır. Ayrıca, TLR3 eksikliği olan fareler, dsRNA ve poli (I: C) 'ye bozulmuş yanıtlar göstermektedir, bu da TLR3'ün dsRNA için bir reseptör olduğunu ortaya koymaktadır (Alexopoulou *et al.* 2001). Bununla birlikte, PKR'nin dsRNA aracılı yolakta TLR3 ile bağlantılı olduğu mekanizmaları açıklığa kavuşturmak için daha fazla çalışmaya ihtiyaç olduğunu belirtmek mümkündür. Buna ek olarak, TLR3'ün virüslerin tanınmasına gerçekten dahil olup olmadığı konusundaki daha temel soru, ilgi çekici ancak cevapsız bir soru olarak kalmaya devam etmektedir. Viral yüklemeye yanıt olarak tip I interferon üreten insan ve fare kanındaki ana hücre, plazmasitoid dendritik hücredir (Siegal *et al.* 1999, Asselin-Paturel *et al.* 2001, Nakano *et al.* 2001), ancak, TLR3 bu hücre tipinde eksprese edilmemektedir (Kadowaki *et al.* 2001). Bu nedenle, TLR3'e ek olarak diğer reseptörlerin, IFN-a / β üretimine yol açan viral enfeksiyonun tanınmasından sorumlu olabileceği değerlendirilmektedir.

TLR3, TLR'ler arasında benzersiz yapısal özelliklere sahiptir. Örneğin, TLR3, diğer TLR'ler arasında korunan prolin kalıntısından yoksundur. Bu prolin, C3H / HeJ farelerinin TLR4 geninde mutasyona uğramıştır ve bu suşun LPS-hiposensitif fenotipinden sorumludur. TLR3'ün genomik organizasyonu da diğer TLR'lerden farklıdır. TLR3 ayrıca tercihen olgun dendritik hücrelerde eksprese olması bakımından benzersizdir (Muzio *et al.* 2000). Bu nedenle, TLR3'ün dsRNA'nın tanınmasına ek olarak benzersiz bir işleve sahip olabileceği değerlendirilmektedir.

2.6.2.5 TLR9 ve TLR7

TLR9, CPG DNA'nın tanınması için gereklidir. Bakteriyel DNA, , bağışıklık hücrelerinin güçlü bir aktivatörüdür. Bakteriyel DNA'nın tanınmasında TLR9'un kritik rolü, TLR9'dan yoksun fareler kullanılarak gösterilmiştir (Hemmi *et al.* 2000). Bakteriyel DNA'nın immüno-uyarıcı aktivitesi, omurgalı genomunda nispeten seyrek olan ve meydana geldiklerinde tipik olarak sitozin kalıntıları üzerinde metillenmiş ve herhangi bir immünostimülatör aktivitesi olmayan metillenmemiş CpG motiflerinin varlığına atfedilmektedir. Bu nedenle, CpG DNA, bağışıklık sisteminin patojenleri tanıdığı bir

başka prototip moleküler modeldir. Metillenmemiş CpG motifleri içeren sentetik ligodeoksinükleotidler ayrıca bağışıklık hücrelerini de aktive etmektedir. CpG DNA'nın uygulanması, Leishmania major ve Listeria monocytogenesin fareleri gibi hücre içi patojenlerin neden olduğu enfeksiyonlara karşı koruma sağlamak için yeterlidir (Elkins *et al.* 1999, Krieg *et al.* 1998, Zimmermann *et al.* 1998). Ayrıca CpG DNA, Th1-polarize edici sitokin IL-12 üretmek için dendritik hücreleri aktive ederek Th1 benzeri bağışıklık tepkilerinin gelişmesine yol açmaktadır. Bu nedenle, CpG DNA, bir adjuvan ve antienfeksiyöz ajan olarak umut verici terapötik değere sahiptir (Wagner 1999, Wagner 2001).

İnsan ve fare bağışıklık hücreleri, biraz farklı CpG motifleri ile optimum şekilde aktive edilmektedir (Krieg and Wagner 2000). Bu özgüllük, TLR9'lar arasındaki tür farklılıkları ile açıklanabilmektedir. Fare veya insan TLR9, CpG DNA tepkisiz hücre hattı 293'te eksprese edildiğinde, bu hücreler sırasıyla optimal fare veya insan CpG sekansına cevap verme yeteneği kazanmıştır (Bauer *et al.* 2001). Bu bulgular ayrıca TLR9'un CpG DNA'yı doğrudan tanıdığını da göstermektedir. Bu nedenle, insanlardan ve diğer çeşitli hayvanlardan optimal CpG motiflerinin veya TLR9'un diğer sentetik agonistlerinin tanımlanması, her tür için etkili adjuvanların oluşturulmasına yol açabileceği değerlendirilmektedir.

Yapılan bazı çalışmalar, CpG DNA'nın hücrelere spesifik olmayan alımın ardından endozomda tanındığını bildirmektedir (Wagner 1999, Wagner 2001). Bu, CpG DNA'nın TLR9 tarafından tanınmasının endozomda gerçekleştiğini göstermektedir. Gerçekte, c-Jun N-terminal kinaz (JNK) ve NF-κB gibi sinyal zincirlerinin CpG DNA ile indüklenen aktivasyonu, normal makrofajlarda LPS ile indüklenen aktivasyona kıyasla gecikmektedir (Hemmi *et al.* 2000). Yapılan çalışmalarda, TLR9'a karşı bir monoklonal antikor oluşturulmuştur ve bu antikorla boyama, bir fare makrofaj hücre hattında endojen TLR9'un hücre içi lokalizasyonunu ortaya koymaktadır (Ahmad-Nejad *et al.* 2002). Bu, hücre yüzeyinde eksprese edilen TLR1, TLR2 ve TLR4 ile keskin bir tezat oluşturmaktadır (Shimazu *et al.* 1999, Hajjar *et al.* 2002, Yang *et al.* 1999, Visintin *et al.* 2001). TLR2, zimosan ile uyarıldıktan sonra fagozomlara alınmaktadır (Underhill *et al.* 1999, Ozinsky *et al.* 2000). Bu nedenle, TLR ligandlarının içselleştirilmesi, bağışıklık

hücrelerinin TLR'ler tarafından tam aktivasyonu için gerekli olabilir veya TLR9 aracılığıyla sinyal yolakları, diğer TLR'lerden bazı farklı özelliklere sahip olabilir.

TLR7 ve TLR8, yukarıda bahsedildiği gibi TLR9 ile oldukça homologdur. TLR7 ve TLR8'in doğal ligandları belirsiz kalmasına rağmen, TLR7, TLR8 ve TLR9 dahil olmak üzere TLR9 alt ailesi, mikroorganizmalardaki nükleik asit benzeri yapıların ayrımına katılabilmektedir. Bu, lipoproteinlerdeki farklılıkları ayırt eden TLR2 alt ailesindeki duruma paraleldir. Böyle bir örnek, TLR7 eksikliği olan farelerde gösterilmiştir. Bazı sentetik imidazokinolinler, enflamatuar sitokinleri, özellikle IFN-a'yı indükleme kabiliyetlerinden dolayı güçlü antiviral ve antitümör özellikler göstermiştir. Bu imidazokinolin bileşiklerinden biri olan Imiquimod, insan papilloma virüsü enfeksiyonunun neden olduğu genital siğillerin tedavisi için onaylanmıştır. TLR7 eksikliği olan farelerin sentetik imidazokinolinlere yanıt vermediği gösterilmiştir (Hemmi *et al.* 2002). TLR ailesi sadece mikrobiyal bileşenleri değil, aynı zamanda klinik olarak yararlı sentetik bileşikleri de tanır ve bu da TLR-aktifleştirici maddeler için bir taramanın klinik uygulamalar için yararlı olacağını düşündürmektedir. TLR aracılı doğal immün aktivasyonu kullanan yeni tedavilerin enfeksiyon, kanser ve alerji gibi çeşitli bozuklukları tedavi etmek için geliştirileceğini tahmin edilmektedir (Goodman 1995, Sarosdy *et al.* 1993).

2.7 TLR2, TLR4 VE TLR9 Tip Virülansı ile Moleküler İlişkisi

İnsan idrar yolunda ürotelyal hücrelerden yapılmış güçlü bariyerlerin varlığına rağmen, bazen üropatojenik mikroorganizmalar idrar yoluna başarılı bir şekilde girebilmektedir. Üropatojenik mikroorganizmaların idrar yoluna girmesiyle, mesane (sistit) ve böbreklerin (nefrit) ürotelyal hücreleri içindeki ilgili TLR'lerin ekspresyonu yoluyla doğuştan gelen immün yanıtlar aktive edilmektedir. Sonuç olarak, ilgili TLR'lerin ekspresyonu, kemokinler, interferonlar, interlökinler, antimikrobiyal maddeler ve proinflamatuar sitokinlerin salınımı dahil olmak üzere farklı kademeli yanıtları tetiklemektedir (Reygaert 2014, Takeuchi and Akira 2010, Botos *et al.* 2011, Spencer *et al.* 2014, Netea *et al.* 2002, Bryant *et al.* 2015, Gluba *et al.* 2010, Behzadi *et al.* 2016).

2.7.1 İdrar yolları enfeksiyonu ve TLR2

TLR2 genellikle TLR1 veya TLR6 ile heterodimer yapılar oluşturmaktadır ve her bir heterodimer kompleksinin kendine has özellikleri ve nitelikleri vardır. Bazı çalışmalar göstermiştir ki, TLR1 ve TLR6 dahil TLR2 ko-reseptörleri, amino asit dizileri arasında %66'ya kadar önemli bir benzerlik söz konusudur. Bununla birlikte, TLR1 ve TLR6'daki ligand aktif bölgeleri, amino asit sekanslarında düşük bir benzerliğe sahiptir ve bu, farklı konformasyonel yapılara yol açabilmektedir. Bu çeşitlilikler, TLR2 heterodimerlerinin mikrobiyal patojenle ilişkili moleküler kalıpları (PAMP'ları) ve ligandları tanımasını sağlar. İlginç bir şekilde, TLR2 homomerleri, insanlarda önemli bir işlevsel özellik göstermemektedir. Bu nedenle, literatürde TLR1-TLR2 ve TLR2-TLR-6 heterodimerleri ayrı alt başlıklarda incelenmektedir. TLR2 proteinleri, Enterobacteriaceae olmayan bakterilere (Leptospira interrogans dahil) ait atipik LPS'yi tanımak için önemli moleküllerdir. Çok çeşitli hedef ligandlar arasında, lipoproteinler, lipoteikoik asit, peptidoglikanlar, HSP'ler (60, 70, 90) ve fungal zimosan, mikrobiyal patojenlerin neden olduğu idrar yolları enfeksiyonlarını tespit etmek ve tanımlamak için önemli moleküllerdir (Takeuchi and Akira 2010, West *et al.* 2006, Takeda *et al.* 2003, *Botos et al.* 2011, Bryant *et al.* 2015, Farhat *et al.* 2008).

TLR1-TLR2'nin heterodimer kompleksi, *Mycoplasma spp, Ureaplasma sp* ve Gram negatif bakterilerdeki triasillenmiş lipoproteinlerin PAMP moleküllerini tespit edebilir ve tanımlayabilir, bunlar arasında *E. coli, Klebsiella pneumoniae* ve *Pseudomonas aeruginosa* gibi idrar yolları enfeksiyonlarına neden olan önemli bakteriler sayılabilmektedir. Dahası, dış zarlarında triasile lipoproteinlere sahip olan diğer Enterobacteriaceae üyeleri, TLR1-TLR2 heterodimerleri tarafından tanınabilmektedir. TLR1, triaçillenmiş lipoproteinlerin lipid moleküllerinden birine bağlanan hidrofobik bir kanalı kapsamaktadır. Bu kanal, TLR1 tarafından tanınacak bir PAMP olarak triasillenmiş bir lipoproteinin varlığını teşvik etmektedir. TLR2 heterodimeri, triaçillenmiş lipoproteinlerin sol moleküllerine bağlanmaktadır. Kritstallografik çalışmalar, TLR1-TLR2 heterodimerlerinde M-şekilli yapıları göstermektedir. Lipoproteinler, lipitlerle birleştirilmiş proteinlerdir. Lipitler normalde kovalent bağlarla proteinlerde NH2 terminal sisteinine bağlanmaktadır. Lipoproteinler, diasile ve

triaçillenmiş olmak üzere iki ana gruba aytılmaktadır. Bu nedenle, TLR1-TLR2 heterodimer kompleksi, Gram negatif bakterilerin neden olduğu idrar yolları enfeksiyonları ve özellikle üropatojenik *E. coli* enfeksiyonları gibi *Enterobacteriaceae* üyeleri ile bağlantılı olarak anahtar bir rol oynamaktadır (Jahandeh *et al.* 2015, West *et al.* 2006, Kang and Lee 2011, Botos *et al.* 2011, Bryant *et al.* 2015, Farhat *et al.* 2008, LoVullo *et al.* 2015, Behzadi and Behzadi 2011, Akira *et al.* 2001, Behzadi and Behzadi 2008).

TLR1-TLR2 heterodimerlerine benzer şekilde, TLR2-TLR6'nın hücre dışı heterodimerleri bir M-form yapısını paylaşmaktadır. TLR2-TLR6 heterodimerleri yapıları içindeki hidrofobik kanala katılmamakta; bu nedenle bu kompleksler, triaçillenmiş lipoproteinleri tanıyamamaktadır. TLR2-TLR6 heterodimerleri, *Mycoplasma spp*'de diasile lipoproteinler, *Ureaplasma spp*, özellikle mayalarda (*Saccharomyces cerevisiae* ve *C. albicans* gibi) mantarlarda zymosan, *Staphylococcus*'da bakteriyel lipoteikoik asit ve gram pozitif bakterilerde peptidoglikanlar ve salgılanan mikrobiyal HSP'ler. De dahil olmak üzere farklı mikrobiyal PAMP'leri tespit edebilmektedir. Ayrıca, TLR2-TLR6 heterodimerleri, 2 kDa mikoplazmal MΦ aktive edici lipoproteinleri (MALP) belirleyebilmektedir. Bununla birlikte, TLR2 proteinleri, bakteriyel lipoproteinlerin türünü ayırt etmekten sorumludur. Yukarıda bahsedilen hedef ligandların tanınması, proinflamatuar sitokinlerin salınmasına yol açabilmektedir. TLR2-TLR6 heterodimerleri, *C. albicans*, *Staphylococcus spp*, *Streptococcus spp.*, *Mycoplasma spp.* ve *Ureaplasma spp*.gibi idrar yolları enfeksiyonuna neden olan önemli bakterileri tanınmasında ve saptanmasında anahtar rol oynamaktadır. Bakteriyel triasile lipoproteinlerin, TLR2-TLR10 heterodimerleri için hedef ligandlar olduğu ve diasile lipoproteinlerin, TLR1-TLR10 heterodimerleri ve TLR10-TLR10 homodimerleri için hedef ligandlar olduğu yapılan bazı çalışmalarda bildirilmektedir. Bununla birlikte, TLR10'un insanın doğuştan gelen bağışıklık sistemindeki rolü net değildir (Höfs *et al.* 2016, West *et al.* 2006, Kang and Lee 2011, Botos *et al.* 2011, Regan *et al.* 2013, Farhat *et al.* 2008, Behzadi and Behzadi 2008).

2.7.2 İdrar yolları enfeksiyonu ve TLR4

TLR4 molekülleri için en önemli hedef ligandlar, LPS (üropatojenik *E. coli* ve diğer Enterobacteriaceae familyasının idrar yolları enfeksiyonlarına neden olan ilgili üyeleri gibi), Tip I ve P fimbriae ve 60, 70 ve 90'lık HSP molekülleridir. TLR4 molekülleri, üropatojenik *E. coli, C. albicans*, vb. bakteriler ile ilgili salınan mikrobiyal HSP'lerin varlığında eksprese edilmektedir. Üropatojenik *E. coli* uşlarının çoğu, tip I fimbriae ve FimH'nin virülans faktörlerini kapsamaktadır. FimH, üropatojenik *E. coli*'ni üroplakin 1'a moleküllerine yapışmasını sağlamaktadır. Üroplakin 1'a molekülleri, insan idrar yolunda mesanenin iç tarafını kaplayan ürotelyal hücrelerin yüzeyinde bulunmaktadır. Bu nedenle, üropatojenik *E. coli* hücrelerinin üroplakin 1'a moleküllerine bağlanması, TLR4 moleküllerini mesaneden yabancı patojenleri ortadan kaldırmak için uyarmaktadır. TLR4 moleküllerinin idrar yolunda böbrekleri ve mesaneyi çevreleyen ürotelyal hücrelerde eksprese edildiği bilinmektedir. İdrar yolları enfeksiyonunun ciddiyeti yani üropatojenik *E. coli* sayısı, TLR4 moleküllerinin ekspresyonunun seviyesini belirlemektedir. Örneğin, asemptomatik bakteriüri enfeksiyonu azalmış hastalarda TLR4 moleküllerinin salgılanma seviyesi, akut ve semptomatik idrar yolu enfeksiyonu olan hastalardan önemli ölçüde daha düşüktür. Sağlıklı bir bağışıklık sistemi, idrar yolunu üropatojenik *E. coli* gibi mikrobiyal patojenlerden bir ila birkaç gün arasında temizleyebilmektedir (Reygaert 2014, Jahandeh *et al.* 2015, Abraham and Miao 2015, West *et al.* 2006, Kang and Lee 2011, Botos *et al.* 2011, Spencer *et al.* 2014, Bryant *et al.* 2015, Gluba *et al.* 2010, Song and Abraham 2008).

Enterobacteriaceae familyası üyeleri gibi Gram negatif bakterilerin dış zarında bulunan LPS molekülleri, TLR4 moleküllerinin ekspresyonunu tetiklemektedir. Aktif ve etkili TLR4 molekülleri, MD-2 (serumda çözünebilen ve / veya sitoplazmik membrana bağlanan ve / veya TLR'ye bağlanan bir ko-reseptör molekülü), LPS bağlayıcı proteinler (serumda çözünür LPSBP) ve CD14. (serumda çözünür ve / veya sitoplazmik membrana bağlanır ve / veya TLR'ye bağlanır) ile iş birliği yapmaktadır. Aslında, bu kompleksin oluşumu, TLR4'ü üropatojenik *E. coli* hücrelerini idrar yolu alanından çıkarmada başarılı kılmaktadır. MD-2 bileşeni, LPS'nin hidrofobik bölümünün TLR4'ün hücre dışı kısmına bağlanmasına aracılık etmektedir. Bununla birlikte, LPS molekülü ile ilgili lipit A'daki

yağ zincirlerinin sayısı, TLR4 molekülleri ekspresyon seviyesini ve sonuç olarak enflamatuar yanıtların seviyesini belirlemektedir. Üropatojenik *E. coli* hücrelerinin mesane ve böbreklerin ürotelyal hücrelerine invazyonu ile TLR4 molekülleri eksprese mdaedilmektedir. Normalde, TLR4 moleküllerinin ürotelyal istilasında, Tip I fimbriae varlığı, TLR4 gibi immünolojik yanıtlara karşı üropatojenik *E. coli* için evrimsel bir araçtır. Bu virülans faktörü, TLR4 savunma sistemine hâkim olabilmekte ve Üriner sistemde üropatojenik *E. coli* hücrelerinin hücre içi ilerlemesini destekleyebilmektedir. Dolayısıyla, UPEC'deki LPS, FimH adhezin, tip I ve P fimbriae dahil olmak üzere bakteriyel bileşenler, konağın idrar yolunda TLR4 indükleyicileri olarak tanınmaktadır. İnvazif üropatojenik *E. coli* hücrelerinin çoğu, TLR4 moleküllerine dirençlidir ve bunların idrar yolu içindeki varlığı, kronik ve / veya karmaşık sistit ve / veya piyelonefrit ile sonuçlanmaktadır. Bu nedenle, doğuştan gelen bağışıklık yanıtlarının bozulması veya işlev bozukluğu, insan vücudunda idrar yolları enfeksiyonunun gelişmesine ve ilerlemesine giden süreci kolaylaştırmaktadır (West *et al.* 2006, Takeda *et al.* 2003, Botos *et al.* 2011, Spencer *et al.* 2014, Gluba *et al.* 2010, Jin and Lee 2008, Song and Abraham 2008).

Üropatjenik *E. coli* hücrelerine ek olarak *C. albicans* mayaları, TLR4 proteinlerinin ekspresyonu yoluyla doğal bağışıklık sistemini tetiklemektedir. TLR4, idrar yolu kadidiyazı gibi kandidiyaz tiplerinde *C. albicans* mayalarına karşı eksprese edilmektedir. TLR4 adaptörlerinin ekspresyonu, O-bağlantılı mannan polimerlerinin doğrusal ve kısa zincirleri aracılığıyla gerçekleştirilmektedir. TLR2'de olanın aksine, TLR4'ün *C. albicans*'a karşı ekspresyonu, proinflamatuar sitokinlerin sekresyonuna yol açmaz ancak tip I interferonların (IFN) salgılanmasını tetikler. Bu bağlamda, fungal fagositoz sürecine katkıda bulunan mannoz reseptörlerinin, TLR4 adaptörlerinin ekspresyonu boyunca zimosanın içselleştirilmesi için bloke edilmektedir. Ayrıca nötrofillerin toplanması ve bazı kemokinlerin salgılanması önemli ölçüde azalmaktadır (Höfs *et al.* 2016, West *et al.* 2006, Takeda *et al.* 2003, Botos *et al.* 2011, Natea *et al.* 2002, Bryant *et al.* 2015, Jin and Lee 2008, Natea *et al.* 2006).

HSP60, HSP70 ve 90 dahil olmak üzere HSP molekülleri, normal ve stresli durumlar altında ökaryotik ve prokaryotik hücreleri destekleyen iyi bilinen şaperokinlerdir. Serbest

bırakılan mikrobiyal HSP'lerin varlığı, konakçının idrar yolunda TLR4 ekspresyonunu tetikleyebilmektedir. Bu şaperokinler hem üropatojenik *E. coli* hem de *C. albicans* hücrelerinde tanınmaktadır. Bununla birlikte, HSP'ler doğal bağışıklığı adaptif bağışıklık mekanizmalarına bağlayabilmektedir (Takeda *et al.* 2003, Botos *et al.* 2011, Medzhitov 2001, Asea 2008).

2.7.3 İdrar yolları enfeksiyonu ve TLR9

TLR9 için uygun hedef ligandlar, mikrobiyal metillenmemiş CpG-DNA'lardır. Dolayısıyla TLR9 molekülleri, bakterilere, mantarlara, virüslere ve protozoaya ait metillenmemiş CpG-DNA motiflerinin varlığında eksprese edilmektedir. Bunlar, kendi yapıları içindeki nükleik yapıları ayırt edebilmektedir. TLR9, sitomegalovirüslere karşı anahtar bir role sahiptir. Sitomegalovirüs enfeksiyonu, böbrek grefti ameliyatlarından sonra böbrek enfeksiyonu olan hastalar için ölümcül olabilir (Takeda *et al.* 2003, Bryant *et al.* 2015, Gluba *et al.* 2010, Jin and Lee 2008, Vandewalle 2008).

3 MATERYAL VE METOT

3.1 Materyal

Bu çalışmada kullanılan genel laboratuvar ekipmanları ve kimyasalları Çizelge 3.1, Çizelge 3.2 ve Çizelge 3.3 de verilmiştir.

3.1.1 Ekipmanlar

Çizelge 3.1 ve Çizelge 3.2, bu çalışma sırasında kullanılan ekipmanların bir listesini göstermektedir.

Çizelge 3.1 Ekipman ve aparat listesi

No.	Ekipman ve aparat	Şirket ve menşe
1	96 iyi örtülü alt plaka (Polistiren)	Kıyı şeridi (ABD)
2	Otoklav	Sakura (Japonya)
3	Santrifüj	Hettich (Almanya)
4	Soğutmalı santrifüjü	Hermle (Çin)
5	Damıtıcı	Elga (İngiltere)
6	Elektrikli fırın	Olimpos (Japonya)
7	Elektroforez sistemi, güç kaynağı	İlerleme (Japonya)
8	GC/MS spektroskopisi	Shemaza 2010 Qpplus
9	Jel belge	APEL (Japonya)
10	Davlumbaz dolabı	Fisher Hamilton (ABD)
11	Hotplate	Takashima (Japonya)
12	Kuluçka makinesi	Yamato (Japonya)
13	İnküböter	Olimpos (Japonya)
14	Micro centrifuge	Beckman coulter (ABD)
15	Mikrodalga	Panasonic (Japonya)
16	Nanodrop	Dihan (Kore)
17	Buzdolabı	Ulusal (Japonya)
18	Spektrofotometre	APEL (Japonya)
19	Termal ısıl döngüleyici	TECHNE, TC-3OOO, Bibby
20	Vorteks	ScienceLtd, (ABD)
21	Su banyosu	Labcoo (Almanya)

Çizelge 3.2 Diğer laboratuvar malzemeleri

No.	Malzemeler	Şirket ve menşe
1	Ependroff tüp	Promeg (ABD)
2	Whatman Filtre kağıtları (0,2 µm)	Schleicher ve Schuel (ABD)
3	Forseps	Olimpos (Japonya)
4	Mikropipet (farklı boyutta).	Marka (Almanya)
5	Düzlem tüpler (10 mL), Petri kapları ve Steril sürüntü	Çin
6	Hacimsel şişesi	Jlassco (Hindistan)

3.1.2 Kimyasal maddeler

Çizelge 3.3 ve Çizelge 3.4, bu çalışma sırasında kullanılan kimyasal malzemelerin bir listesini göstermektedir.

Çizelge 3.3 Kimyasal maddelerin listesi

No.	Kimyasallar ve Biyolojik malzemeler	Şirket (köken)
1	Mutlak etanol (%99)	Scharlau (İspanya)
2	Asetik asit	BDH-İngiltere
3	Alkol	BDH-İngiltere
4	KH_2PO_4 Potasyum dihidrojen fosfat	CDH – İngiltere
5	KOH	BDH-İngiltere
6	McFarland çözümü	Biomerieux (Fransa)
7	Metanol	BDH-İngiltere
8	Metil kırmızısı	BDH-İngiltere
9	Na_2HPO_4. $2H_2O$	BDH-İngiltere
10	NaCl	BDH-İngiltere
11	NaOH	BDH, Birleşik Krallık
12	Potasyum iyodür	GCC İngiltere
13	Resazurin (Alamer mavisi)	BDH-İngiltere

Çizelge 3.4 PCR ve Elektroforez malzemelerinin listesi

No.	PCR ve Elektroforez malzemeleri	Şirket (köken)
1	Agaroz	Promega (ABD)
2	Bromo fenol mavisi	BDH-İngiltere
3	ddH_2O	Bioneer (Kore)
4	DNA marker (100bp)	Promiga-ABD
5	Ana karışım	Bioneer (Kore)
6	PCR arabelleği	Promega-ABD
7	Primerler	Eurofins Genomics (Almanya)
8	Rade güvenlik jeli	Biyo temel (Kanada)
9	Tris baz, asetik asit ve EDTA (TAE) tamponu-10 X	Biyo temel (Kanada)

3.1.2.1 Külür ortamı

Çizelge 3.5, bu çalışma sırasında kullanılan kültür ortamının bir listesini göstermektedir.

Çizelge 3.5 Kültür ortamı listesi

No.	Kültür ortamı	Şirket (köken)
1	Kanlı agar tabanı	Mikro medya (AB)
2	Beyin-kalp infüzyonu	Mastdiagnostik (ABD)
3	MacConkey ağarı	Mikro medya (AB)
4	Metil kırmızı-Vogesproskauer suyu (MRVP)	Oksoid (İngiltere)
5	Müller-Hinton ağarı	Oksoid (İngiltere)
6	Pepton suyu	Himedia (Hindistan)
7	Simmon sitrat agar	Mikro medya (AB)
8	Luria bertani suyu	Himedia (Hindistan)
9	Tripticas soya suyu	Oksoid (İngiltere)
10	Mueller-Hinton Et suyu (MHB)	Oksoid (İngiltere)
11	üre ağar tabanı	Himedia (Hindistan)
12	(Üçlü Şeker- Demir agar) TSI	Himedia (Hindistan)

3.1.2.2 Kitler

Bu çalışmada kullanılan DNA ekstraksiyonu ve PCR tespit kiti listesi Çizelge 3.6'da gösterilmiştir.

Çizelge 3.6 DNA Ekstraksiyon kiti ve PCR tespit kiti

Kitler	**Kitin şirketleri**		**Şirket ve menşe**
Hızlı bakteriyel genomik DNA izolasyon kiti (biyo gerekli)	Malzeme	**Size**	(Bio basic) Mini Kiti (Kore)
	PB Tamponu	12 mL	
	TE Tamponu	10 mL	
	Evrensel sindirim Tamponu	25 mL	
Polimeraz zincirleme reaksiyonu	Gold multiplex, 20 µL include: Taq DNA polymerase 1U, dNTPs which include: 250 µm of each dATP, dCTP, dGTP, dTTP). (1,5) mm of $MgCl_2$ (Magnesium chloride), (30) mm of KCl, (10) mm of Tris-HCl (pH 9,0), Blue dyes loading dye, Nuclease free water.		Biyoner şirketi (Kore)

3.1.2.3 Antibiyotikler

Bu çalışmada kullanılan antibiyotikler Çizelge 3.7'de listelenmiştir.

Çizelge 3.7 Antibiyotik diskleri

No.	Antibiyotik diski	Sembol	Konsantrasyon µg/disk	Üretici firma
1	Seftriakson	CRO	30	Direk Grubu/İngiltere
2	Seftazidim	CAZ	10	
3	Sefapem	CPM	30	
4	Sefpodoksium	CPD	10	
5	Sefoksitin	Fox	30	

3.2 Yöntemler

3.2.1 Kültür Ortamı Hazırlığı

MacConkey agar, Beyin kalp infüzyonu, Muller hinton agar, Luria bertani suyu, Tripticas soya suyu, Peptone suyu, Muller hinton besiyerleri, Kanlı agar, Simmon's sitrat agar slant, Üre agar bazı ve Triple Sugar Iron (TSI), Üretim şirketi talimatlarına göre hazırlanır. Tüm bileşenlerinin tamamen çözünmesi için su banyosunda kaynatılır ve 121ºC'de 15 dakika 15 pound/inch2 otoklavlanarak sterilize edildikten sonra petri kaplarına dökülür ve kullanılıncaya kadar 4°C'de saklanır.

3.2.2 Reaktifler ve çözelti hazırlama

3.2.2.1 Katalaz reaktifi

Bu reaktif, stok H_2O_2 solüsyonundan (%15) %3 hidrojen peroksit (H_2O_2) olacak şekilde hazırlanır. Bakterilerin katalaz enzimi üretme yeteneğini test etmek için kullanılmıştır. Reaktif koyu renkli şişede tutulmuştur (Mackie 1996).

3.2.2.2 İyot reaktifi

İyot reaktifi, orijinal sabit zamanlı tahlil yöntemi için Sargent tarafından belirtildiği şekilde hazırlanmıştır. İyot reaktifinin 5-iyodanlar kısmı, asetat tamponu (pH 4,0) içinde 40 umol I2 içerir. İyot reaktifi, 95 mL asetat tamponuna (asetik asit ile pH 4,0'an ayarlanmış ve damıtılmış su ile 2 litreye getirilmiş 80 g susuz sodyum asetat) 5 mL stok iyot çözeltisi ilave edilerek hazırlanmaktadır. Stok iyot çözeltisi 0,16 M iyot ve 1,2 M potasyum iyodür içerir (20,3 g iyot ve 100 g potasyum iyodür, 500 mL damıtılmış su içinde çözülmüştür) (Sargent 1968).

3.2.2.3 Kovac reaktifi

10 g Para-dimetil-amino benzaldehit 150 mL izoamil alkol içinde 50°C'de su banyosunda ısıtılarak eritilir ve yavaş yavaş 50 mL HCl ilave edilmektedir. Reaktif küçük miktarlarda hazırlanmıştır ve buzdolabında saklanmıştır; bu reaktif indol testi için kullanılmıştır (Mackie 1996).

3.2.2.4 Voges-proskauer reaktifi

Bu reaktif, %96 etanolde, %40 potasyum hidroksit ve %5 naftolün birleştirilmesiyle hazırlanmıştır. Reaktif koyu renkli bir şişede saklanmıştır ve kullanımdan önce karıştırılmıştır (Mackie 1996).

3.2.2.5 Normal tuzlu çözelti

0.85 g NaCl 90 mL distile suda çözülerek normal salin hazırlanır, pH 7'ye ayarlanmıştır ve hacim 100 ml'ye tamamlanmıştır, tuz tamamen eriyene kadar karıştırılmıştır. Daha sonra çözelti, 121°C'de ve 15 pound/inç^2'lik bir basınçta otoklavlanmıştır. Hazırlanan çözelti seyreltme işleminde kullanılmaktadır (Riffel *et al.* 2003).

3.2.2.6 Fosfat tamponu

Bu çözelti, 1L distile suda NaCl 8g, Na_2HP0_4 1,44gm, KH_2P0_4 0,24gm tuzlarının çözülmesiyle hazırlanır ve pH 7,2'ye ayarlanmıştır (Basu *et al.* 2001).

3.2.2.7 TAE (1X) çözümü

10 mL stok TAE-10x ile 90 mL distile su karıştırılarak 10x'ten 1x'e seyreltilen TAE tamponu, daha sonra DNA jel elektroforezinde kullanılana kadar 4°C 'de tutulmuştur (Abel-Santos *et al.* 2003).

3.2.2.8 Oksidaz reaktifi

500 mg N, N, N, N-tetrametil-P-fenilen-diamin dihidroklorür 50 mL distile suda çözülerek hazırlanır ve oksidaz testinde kullanılmaktadır.

3.2.2.9 Gram boyama

Bu işem için gerekli olan malzemeler aşağıda sıralanmıştır.

- Kristal menekşe solüsyonu.
- Lugol iyot çözeltisi.
- Alkol aseton solüsyonu.
- Safranin solüsyonu.

3.2.3 Numune toplanması

Ramadi kentinden idrar yolları enfeksiyonu olan 50 hastadan ve 45 sağlıklı grubundan olmak üzere 95 adet idrar örneği toplanmıştır.

3.2.4 Bakteriyel izolasyon ve tanımlama

Bakteriyel izolatlar, (Cheesebrough 1998)'e göre konvansiyonel mikrobiyolojik yöntemler (kolonyal morfoloji, Gram boyama ve biyokimyasal testler) ve otomatik vitek2 kompakt sistemi ile teşhis edilmektedir.

3.2.4.1 Morfolojik inceleme

İzolatların MacConky agar, kanlı agar üzerinde kültürlenmesinden sonra yapılmıştır. İlk tanı testleri, koloni şekli, boyutu, renkleri, kokusu, dokusu, kenarları ve laktozu fermente etme yeteneği dahil olmak üzere bakteri üremesinin morfolojik özelliklerine dayanmaktadır.

3.2.4.2 Mikroskobik incelenmesi

Gram boyama

Tanımlamada önemli bir ilk adım, hücrelerin şekli, boyutu, düzeni ve boyaya tepkisi gibi hücre morfolojisinin belirlenmesidir. Tüm bakteri izolatları ışık mikroskobunda incelenir, taze kültüründen yaymalar hazırlanır ve gram boyama ile boyanmaktadır.

3.2.4.3 DNA ekstraksiyonu

Aşağıdaki adımlara göre, genetik izolasyon kullanılarak kandan elde edilmiştir

- 100 mL kan alınmıştır, 20 Rotcinasek eklenmiştir ve 60°C'de su banyosunda 10 dakika inkübe edilmiştir.
- 200 mL GSB çözeltisi eklenmiştir ve her 3 dakikada bir karıştırılarak 10 dakika su banyosunda bekletilmiştir.
- Doğrudan shake ile 200 mL hanol eklenmiştir.

- Tüm içeriği Spin kolonuna transfer edimiştir ve 3000 döngüde bir döngü boyunca santrifüj edilmiştir.
- İlk yıkama çözeltisi kullanılmıştır. 1300 rpm'da 1 dakika santrifüj filtreye 500 mL eklenmiştir.
- İkinci yıkama çözeltisi kullanılmıştır. 1300 devir/dk'da 1 dakika santrifüj filtreye 500 mL eklenmiştir.
- 13000 devir hızda 2 dakika süreyle boş bir santrifüj yapılmıştır
- Clution çözeltisi filtre ortamına eklenmiştir. Ardından 5 dakika beklenmiştir, sonra filtrenin çıkarılan DNA'yı temsil ettiği santrifüj yapılmıştır

DNA Elektroforezi

- 1 gram agarozu 100 mL TBE 1X'te çözündürülmüştür ve tamamen çözülene kadar mikrodalga cihazına alınmıştır, karışımı soğumaya bırakıldıktan sonra ve 5 µL Etilen bromid eklenmiştir.
- Daha sonra agaroz aktarma kabına dökülmüştür, tarak yerine sabitlenmiştir ve karışım katılaşmaya bırakılmıştır
- Katılaşmanın ardından elektroforez tankı uygun miktarda TBE 1X iletim çözeltisiyle doldurulmuştur ve sertleştirilmiş agaroz havuza yerleştirilmiştir, ardından elektroforez 15 dakika boyunca 54 V'de, sonra DNA durumunda 45 dakika boyunca 70 V'a kadar, DNA farkıyla PCR ürününde ise bu ekstraksiyon, her 15 mL DNA için 3 mL'lik Yükleme boyası 6x kullanılarak, agresif çukurlarda, 3 mL'lik bir hızda sabitlenmiştir. (Çizelge 3.8) (Çizelge 3.9)
- Sonuçlar Gel dokümantasyonundan okunmuştur ve cihazın kamerası ile fotoğraflanmıştır. (Çizelge 3.10) (Çizelge 3.11) (Çizelge 3.12) (Çizelge 3.13)

Çizelge 3.8 TLR2- Rs5743708

TLR2a IF	CAGCGCTTCTGCAAGCTTCA	20
TLR2a IR	GGTAGGTCTTGGTGTTCATTATCTGCC	27
TLR2a OF	AACTTTGTGAAGAGTGAGTGGTGCAA	26
TLR2a OR	GGAACCTAGGACTTTATCGCAGCTCT	26
Bağlanma 63		
G aleli için ürün boyutu 169bp Aaleli için ürün boyutu: 122bp İki dış primerin ürün boyutu: 245bp		

Çizelge 3.9 TLR4 Rs121917864

TLR2b IF	CCCTTCAAGTTGTGTCTTCATACGT	25
TLR2b IR	TTGCCAGGAATGAAGTCACG	20
TLR2b OF	GGCCTGTGGTATATGAAAATGATGT	25
TLR2b OR	GTTCATACTTGCACCACTCACTCTTC	26
Bağlanma 60		
C aleli için ürün boyutu: 209bp T aleli için ürün boyutu: 146 bp İki dış primerin ürün boyutu: 310 bp		

Çizelge 3.10 Rs4986790

TLR4a IF	CATACTTAGACTACTACCTCGAGGA	25
TLR4a IR	GTCAAACAATTAAATAAGTCAATAAGAC	28
TLR4a OF	TTCATAAGCTGACTTTAAGAAATAATT	27
TLR4a OR	AACTGTCCAAATTTACAGTTAACTAAT	27
Bağlanma 55		
A aleli için ürün boyutu: 164bp G aleli için ürün boyutu :241bp iki dış primerin ürün boyutu 352bp		

Çizelge 3.11 TLR9 Rs4986791

TLR4b IF	CTCAAAGTGATTTTGGGACCAT	22
TLR4b IR	CTCAGATCTAAATACTTTAGGCGGG	25
TLR4b OF	AAAGACTTTTCTTATAATTTCGGATGG	27
TLR4b OR	GAGAAATGTCAAGGTAAATGAGGTTT	26
Bağlanma 57		
T aleli için ürün boyutu: 193bp C aleli için ürün boyutu: 251bp İki dış primerin ürün boyutu: 397bp		

Çizelge 3.12 Rs352140

TLR9a IF	GGTCCAGGGCCTCCAGTTGA	20
TLR9a IR	GAGCACTCATTCACGGAGCTATCG	24
TLR9a OF	GTACTGCAGAGCTGCTGGGACACT	24
TLR9a OR	AGGCAGTCAATGGCTCCCAGTT	22
Bağlanma 63		
C aleli için ürün boyutu: 182bp A aleli için ürün boyutu: 127bp İki dış primerin ürün boyutu: 265bp		

Çizelge 3.13 Rs5743836

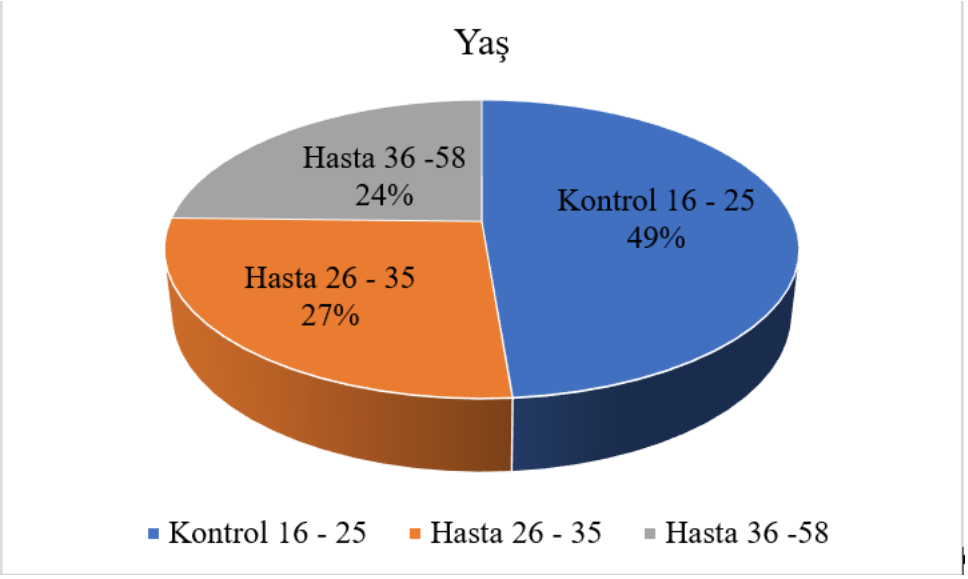
TLR9b IF	GTGCTGTTCCCTCTGCCGGA	20
TLR9b IR	GGTCATATGAGACTTGGGGGAGTGTC	26
TLR9b OF	CACAGTCCACAGATGGCCAACAA	23
TLR9b OR	GTGGGAGGTTTGTAAGAAGGCTGGAT	26
Bağlanma 63		
A aleli için ürün boyutu: 125bp G aleli için ürün boyutu: 181bp İki dış primerin ürün boyutu: 260bp		

4 BULGULAR VE TARTIŞMA

İdrar yolu enfeksiyonu (İYE), dünyanın tüm ülkelerinde yılda yaklaşık 150 milyon insanı etkileyen en yaygın bakteriyel enfeksiyonlardan biridir. İdrar yolu enfeksiyonu, farklı yaş gruplarında, erkek bebeklerde, yaşlı erkeklerde ve her yaştan kadında önemli bir morbidite nedeni olarak kabul edilebilmektedir. Şiddetli sonuçlar arasında sık tekrarlama, küçük çocuklarda böbrek hasarı, sepsisli piyelonefrit, erken doğum ve ayrıca yüksek düzeyde antibiyotik direncine ve *Clostridium* kolite yol açabilen antimikrobiyallerin sürekli kullanımından kaynaklanan komplikasyonlar yer almaktadır (Flores-Mireles *et al.* 2015).

4.1 Yaş

Mevcut çalışmada yaş grubu (16-25 yaş) idrar yolu enfeksiyonu olmayan hücreleri temsil eden grup (%48), hastaların yaşı %38 (26-35) iken %14 (36-58 yaş arası) olan yaş grubudur. Sonuçlara göre, kontrol gruplarına göre en fazla etkilenen yaş grubu (30-55 yaş) oldu. (Şekil 4.1)



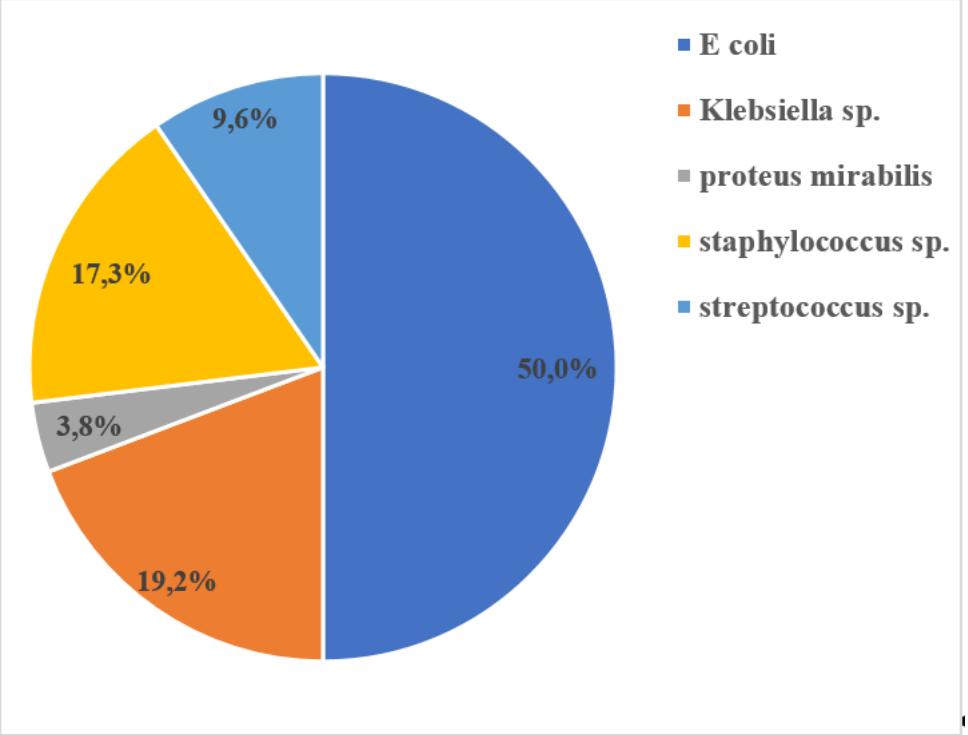
Şekil 4.1 Yaş grubu olarak sınıflandırılan İYE hastası

4.2 Bakterilerin Dağılımı

E. coli en sık tanımlanan Gram negatif bakteridir (26/50, %50). Bunu sırasıyla *Klebsiella pneumoniae* (10/50, %19,2) ve *Proteus mirabilis* (2/50, %3,8) takip etmiştir (Şekil 4.2). Gram pozitif bakterilerden ise *Staphylococcus epidermidis* en sık tespit edilen tür iken (9/50, %17,3) bunu *Streptococcus agalactiae* (5/50m %9.6) takip etmiştir. (Çizelge 4.1)

Çizelge 4.1 Kontrol türleri

E. coli	**negatif-**
Klebsiella sp	**negatif -**
Proteus sp	**negatif -**
Staphylococcus sp	**pozitif +**
Streptococcus spp	**pozitif +**



Şekil 4.2 Bakteri tipi olarak sınıflandırılan İYE hastası

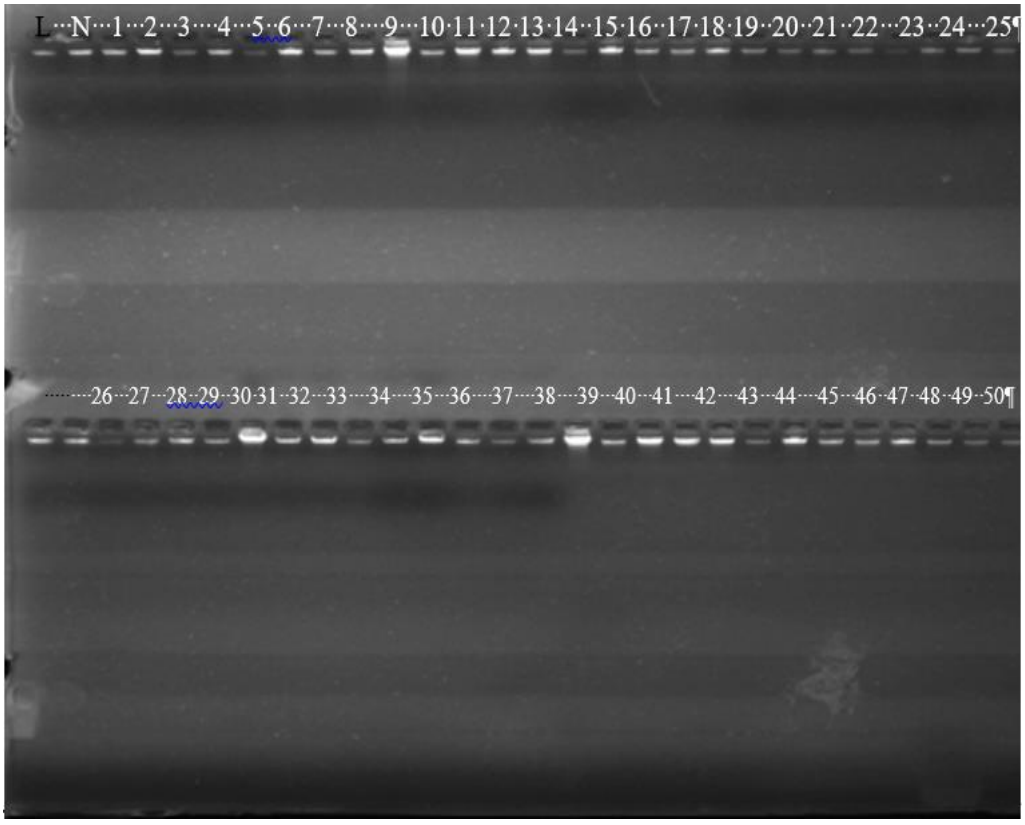
Yapılan çalışmlar, Gram-negatif bakterilerden kaynaklanan enfeksiyon oranının Gram-pozitifinkinden daha yüksek olduğunu göstermiştir. Ayrıca bu çalışma *E. coli*'nin sıklığının türlerin geri kalanına kıyasla daha yüksek olduğunu belirtirken, bunu *Klebsiella pneumoniae* ve *Proteus mirabilis*'in takip ettiğini belirtmiştir. Gram pozitif bakterilere gelince, *Staphylococcus aureus* frekansının daha yüksek olduğu gözlemlenmiştir (Kim *et al.* 2018). İYE'lerin %90'ından fazlasına Gram negatif bakteriler neden olur ve *E. coli* enfeksiyonları %80'e ulaşarak en büyük yüzdeyi oluşturmaktadır (Mazzulli *et al.* 2001).

Önceki bir çalışma, çoğu *Escherichia coli*'nin, İYE'lere neden olabilen yalnızca küçük *E. coli* bakteri grupları olması dışında, konakçının savunma mekanizmaları tarafından günler içinde elimine edildiğini göstermiştir (Rosen *et al.* 2007).

Ek olarak, başka bir çalışma, *Staphylococcus aureus, Staphylococcus epidermidis* ve *Klebsiella pneumonia* gibi idrar yolu enfeksiyonlarına neden olabilecek başka patojenler olduğunu göstermiştir. *Pseudomonas* enfeksiyonu kronik kateterizasyonlu hastalarda daha sık görülmektedir (Gupta *et al.* 2011, Ronald 2002).

4.3 Moleküler Çalışma

Çalışmamızda, farklı yaş gruplarında idrar yolu enfeksiyonu olan hastalardan 50 örnek alınmıştır. Daha sonra idrar örneklerinden bakteriler izole edilip teşhis edilmiştir. İYE'li hastalardan alınan kan örneklerinden DNA izole edilmiştir (Şekil 4.3). Ekstrakte edilen DNA'nın saflığı ve konsantrasyonu ölçülerek ve saflığının 1,6 ile 1,9 arasında değiştiği ve ekstrakte edilen DNA konsantrasyonunun 60 ile 185ng arasında olduğu bulunmuştur. Tetra ARMS-PCR tekniği, rs121917864, rs4986790 ve s352140 allel genotipi için kullanılmıştır ve bunların mevcut bakterilerle karşılaştırılmasını sağlamıştır.



Şekil 4.3 Kandan ekstrakte edilen genomik DNA'nın %2'lik agaroz jelde 45 dakika boyunca elektroforezi

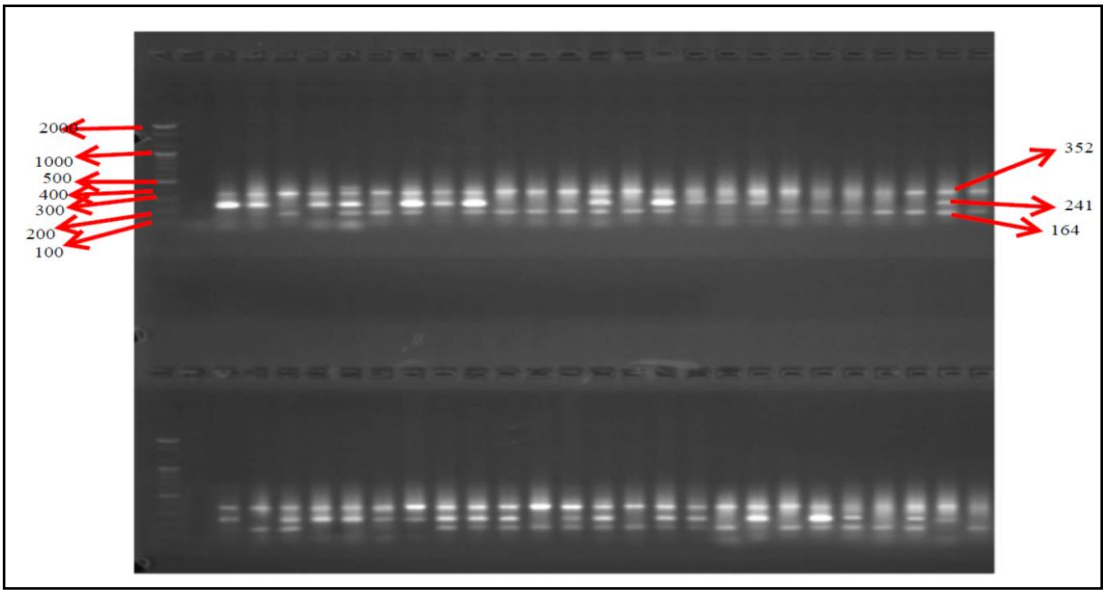
4.4 RS121917864

Tetra ARMS-PCR tekniği, hem vakalarda hem de kontrol numunelerinde rs121917864 genotipi için kullanılmıştır (Şekil 4.4 ve Şekil 4.5). Çizelge 4.2 istatistiksel analiz sonuçlarının, hem vakalarda hem de kontrol numunelerinde CT genotip sıklığında P≤0,05 düzeyinde anlamlı bir farklılık olduğunu, vaka numunelerinde CT genotipleme sıklığının %42 olduğu durumlarda, kontrol numunelerinde oranın %13 olduğunu göstremektedir. Sonuçlar, TT genotipi için, vaka örneklerinde sıklığın %14, kontrol örneklerinde %0 olduğu durumlarda önemli bir farklılık olduğunu ortaya koymaktadır. Çizelge 4.2'de gösterildiği gibi, CT ve TT genotipleri için P-değeri 0,0006 ve 0,02 olarak bulunmuştur. Buna bağlı olarak her iki genotip için olasılık oranı sırasıyla 17,67 ve 483,00'e kadar olan güven aralığında 6,204 ve 26,33 olarak karşımıza çıkmaktadır.

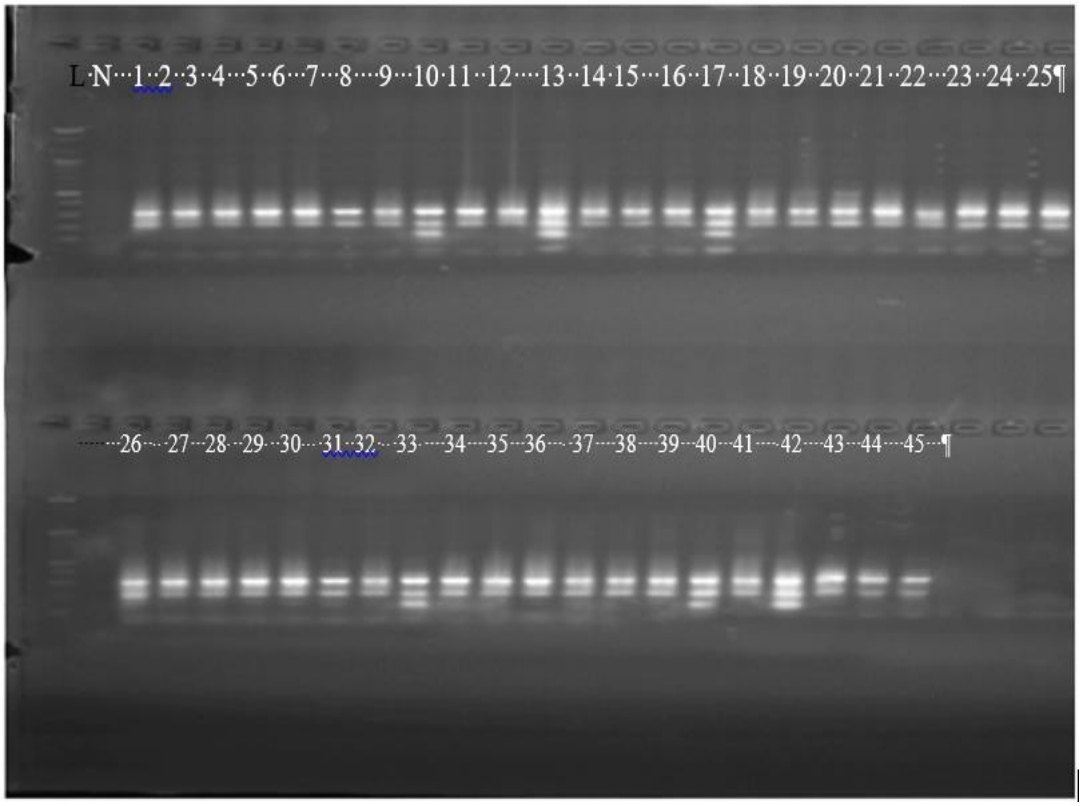
Çizelge 4.2 İdrar yolu enfeksiyonu hastaları ve kontrol grupları arasında rs121917864 genotipleri arasındaki ilişkinin istatistiksel değerlendirmeleri

Genotip Frekansı (%) rs121917864					
Genotip	**Kontrol n=45**	**Vaka n=50**	**P-değeri**	**Olasılık oranı**	**95% Cl**
CC	39 (87%)	22 (44%)	----	1,0	----
CT	6 (13%)	21 (42%)	0,0006 **	6,2045	2,1776 to 17,6783
TT	0 (0%)	7 (14%)	0,0275 *	26,33	1,4357 to 483,006
Chi-squared	0,2296 NS	0,2959 NS			
P değeri	0,8915	0,8625			
Allele Frekansı (%)					
Allele	**Kontrol n=90**	**Vaka n=100**	**P-değeri**	**Olasılık oranı**	**95% Cl**
C	0,93 (84)	0,65 (65)	<0,0001**	7,538	2,991 to 19,00
T	0,07 (6)	0,35 (35)			

NS=Anlamlı değil, * p değerinde anlamlı ≤ 0,05, ** p değerinde anlamlı ≤ 0,01



Şekil 4.4 PCR Tetra Arms ürününün agaroz jel elektroforezi (rs121917864) (L:ladder, N: negatif kontrol 1,5 saat boyunca %2 agaroz üzerinde 1-50 hasta numunesi



Şekil 4.5 PCR Tetra Arms ürününün agaroz jel elektroforezi (rs121917864) (L:ladder, N: negatif kontrol 1,5 saat boyunca %2 agaroz üzerinde 1-45 kontrol numunesi

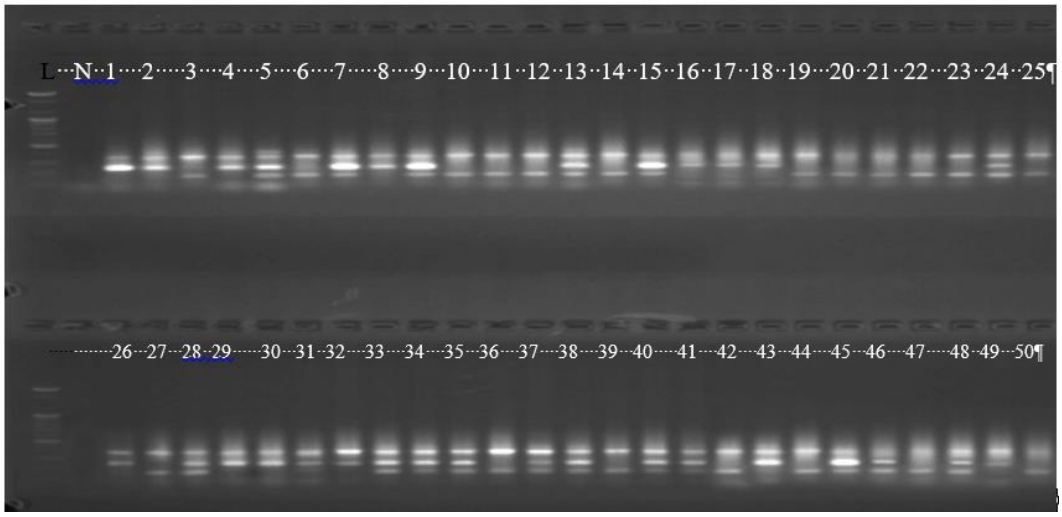
4.5 Rs4986790

Tetra ARMS-PCR tekniği, hem vakalarda hem de kontrol numunelerinde rs4986790 genotipi için kullanılmıştır (Şekil 4.6, Şekil 4.7). Çizelge 4.3 istatistiksel analiz sonuçlarını göstermektedir. Buna göre, hem vakalarda hem de kontrol numunelerinde GG genotipi sıklığında P ≤0,05 düzeyinde anlamlı bir farklılıklar bulunmuştur. GG genotipleme sıklığının vaka numunelerinde %28 olduğu durumlarda, kontrol numunelerinde oran % 2 olarak tespit edilmiştir. Sonuçlar, AG genotiplemesi için, vaka örneklerinde sıklığın %34, kontrol örneklerinde %49 olduğu durumlarda önemli bir fark olmadığını göstermiştir. AG ve GG genotipleri için P-değeri 0,8 ve 0,01, her iki genotip için 2,16 ve 135,00'e kadar olan güven aralığında olasılık oranı sırasıyla 0,89 ve 16,21 olarak ortaya çıkmıştır.

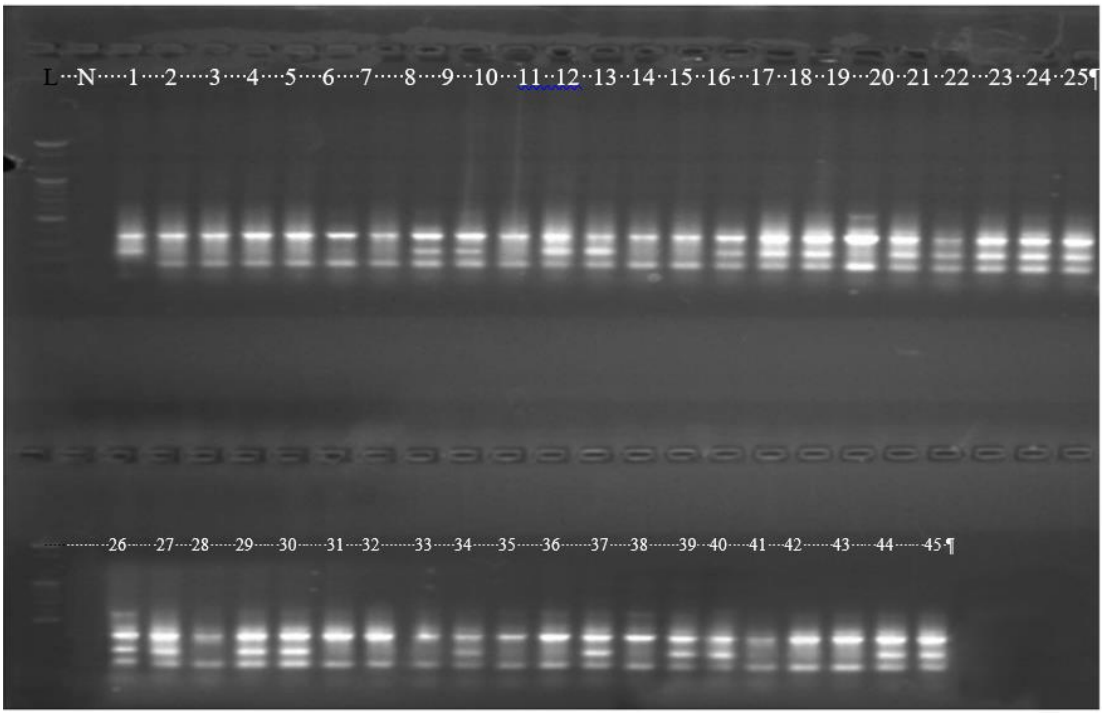
Çizelge 4.3 İdrar yolu enfeksiyonu hastaları ve kontrol grupları arasında rs4986790 genotipleri arasındaki ilişkinin istatistiksel değerlendirmeleri

Genotip Frekansı (%) rs4986790					
Genotip	**Kontrol n=45**	**Vaka n=50**	**P-değeri**	**Olasılık oranı**	**95% Cl**
AA	22 (49%)	19 (38%)	----	1.0	----
AG	22 (49%)	17 (34%)	0,8047 NS	0,8947	0,3705-2,1608
GG	1 (2%)	14 (28%)	0,01 *	16,2105	1,9465-135,0014
Chi-squared	2,813 NS	4,903 NS			
P değeri	0,2451	0,0862			
Allele Frekansı (%)					
Allele	**Kontrol n=90**	**Vaka n=100**	**P-değeri**	**Olasılık oranı**	**95% Cl**
A	0,73 (66)	0,55 (55)	0,0087 **	2,250	1,221-4,146
G	0,27 (24)	0,45 (45)			

NS=Anlamlı değil, * p değerinde anlamlı ≤ 0,05, ** p değerinde anlamlı ≤ 0,01



Şekil 4.6 PCR Tetra Arms ürününün agaroz jel elektroforezi (rs4986790) (L:ladder, N: negatif kontrol 1,5 saat boyunca %2 agaroz üzerinde 1-50 hasta numunesi)



Şekil 4.7 PCR Tetra Arms ürününün agaroz jel elektroforezi (rs4986790) (L:ladder, N: negatif kontrol 1,5 saat boyunca %2 agaroz üzerinde 1-45 kontrol numunesi)

TLR4 molekülleri esas olarak idrar yolundaki böbrekleri ve mesaneyi kaplayan üriner epitel hücrelerinde eksprese edilmektedir. TLR4 partiküllerinin ekspresyon seviyesi, UTI'nin şiddetinden etkilenir. Asemptomatik bakteriüri enfeksiyonu azalmış hastalarda TLR4 partiküllerinin salgılanma seviyesinin, akut ve asemptomatik idrar yolu enfeksiyonu olan hastalarda TLR4 partiküllerinin salgılanma seviyesinden çok daha düşük olduğu durumlardadır. Ayrıca sağlıklı bir bağışıklık sistemi, UPEC gibi mikrobiyal patojenlerin idrar yollarını bir günden birkaç güne kadar temizleme yeteneğine sahiptir (Behzadi and Behzadi 2016). TLR4, gram-negatif bakterilerin moleküler modelinin tanınması için spesifiktir (Latha *et al.* 2011).

987 kadın üzerinde yapılan bir Kafkas çalışmasında TLR4_A896G polimorfizminin rUTI'ye karşı koruma ile ilişkili olduğu, ancak piyelonefrit ile ilişkili olmadığı bulunmuştur (Hawn *et al.* 2009). Çalışma ayrıca 896AG/GG genotiplerinin, 896GG genotipiyle karşılaştırıldığında rUTI'den korunma ile ilişkili olduğunu bulmuştur. Önceki çalışmalar, Macar çocuklarda TLR4_A896G polimorfizmi ile idrar yolu enfeksiyonuna duyarlılık arasında bir ilişki olduğunu göstermektedir (Karoly *et al.* 2007).

TLR'lerin sistit ve piyelonefritin patogenezini etkileyebileceği çeşitli potansiyel mekanizmalar mevcuttur. Mesane ve böbrek epitel hücrelerinde TLR aracılı bir sinyal kusuru varsa, *Escherichia coli*'nin ilk tanınması gecikebilir ve sinyal yollarının aktivasyonu gecikebilmektedir. Ek olarak, mesaneye toplanan nötrofiller veya monositler, yanıtları değiştirebilir ve İYE'lere karşı artan bir duyarlılığa yol açabilir. Alternatif veya ek olarak, TLR'ler dendritik hücre olgunlaşmasını düzenleyebilir ve *Escherichia coli* antijenlerine T hücresi tepkilerinin aktivasyonunu ve korunmasını etkileyebilmektedir (Hawn *et al.* 2009).

Önceki çalışmalar, TLR4_A896G polimorfizminin moleküler ve hücresel düzeyde sinyal iletimini düzenlemek için hareket ettiğini göstermiştir. Bazı çalışmalarda in vivo azalmış bronşiyal yanıta ek olarak TLR4_A896G SNP ile LPS'ye yanıt olarak azalmış in vitro sinyal arasında bir ilişki olduğu bulunmuştur (Misch and Hawn 2008).

İnsan TLR4 kodlama ve indükleyici bölgelerindeki SNP'ler, Gram-negatif enfeksiyon, sepsis, bronşiolit RSV, yaygın kandidiyazis (Van der Graaf *et al.* 2006) ve inflamatuar bağırsak hastalığı gibi bazı enfeksiyöz ve inflamatuar hastalıkların görülme sıklığının artmasıyla bağlantılıdır (Medvedev 2013). Aynı zamanda, kan transfüzyonları, ateroskleroz (Kiechl *et al.* 2002) ve romatoid artrit (Radstake *et al.* 2004) gelişme riskinin azalmasıyla ilişkilendirilmiştir. Hafif veya şiddetli İYE'si olan İsveçli hastaların TLR4 promotör bölgesinde 8 mutasyon ifade ettiği (Ragnarsdóttir *et al.* 2010), bu mutasyonların 3'ünün miyokard enfarktüsü hastalarında mevcut olduğu (De Staercke *et al.* 2007), sistemik yanıtlılık (Michel *et al.* 2007) ve İYE'li hastalarda doğuştan gelen bağışıklık tepkilerini değiştirmiştir (Ragnarsdóttir *et al.* 2010).

Ayrıca, (Nachtigall *et al.* 2014) yoğun bakım ünitelerine yatırılan hastalarda rs4986790 polimorfizminin şiddetli sepsis veya septik şokun başlama zamanını etkileyebileceği bildirilmiştir (Nachtigall *et al.* 2014) Bu polimorfizmin Gram negatif bakterilerin neden olduğu septik şokla da ilişkili olduğu bulunmuştur (Lorenz *et al.* 2002).

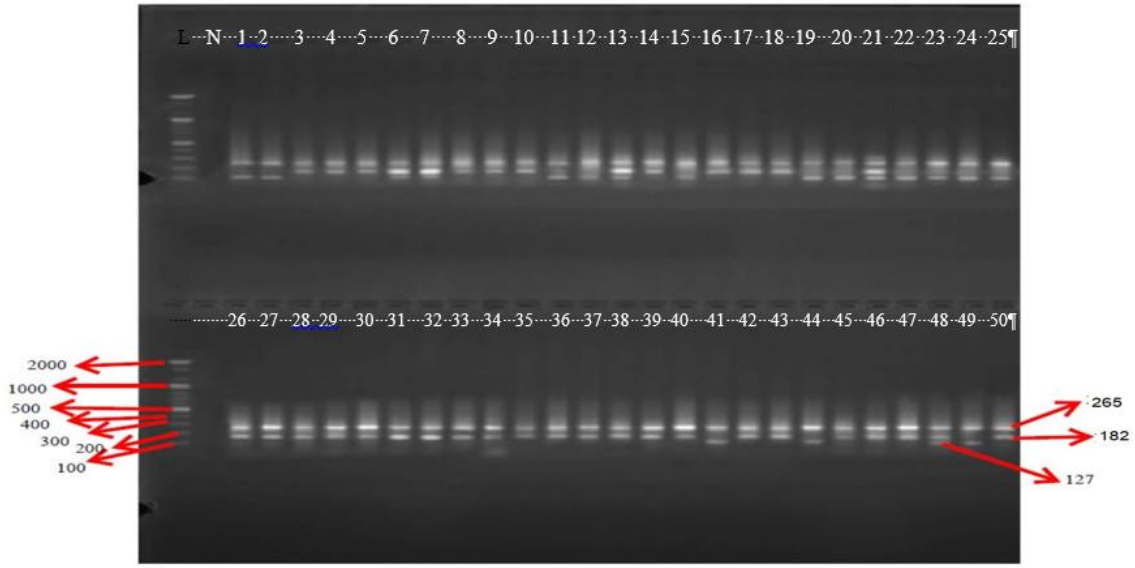
4.6 Rs352140

Tetra ARMS-PCR tekniği, hem vakalarda hem de kontrol numunelerinde rs352140 genotipi için kullanılmıştır (Şekil 4.8, Şekil 4.9). Çizelge 4.4, istatistiksel analiz sonuçlarının, hem vakalarda hem de kontrol numunelerinde AA genotip sıklığında P ≤0,05 düzeyinde önemli bir farklılık olduğunu göstermektedir. GG genotipleme sıklığını vaka numunelerinde %28, kontrol numunelerinde ise %4 olarak tespit edilmiştir. Sonuçlar, AG genotiplemesi için, vaka örneklerinde sıklığın %10, kontrol örneklerinde ise %9 olduğunu ve önemli bir fark olmadığını ifade etmektedir. CA ve AA genotipleri için P değeri 0,5 ve 0,006, her iki genotip için de olasılık oranı sırasıyla 6,35 ve 41,69'a kadar olan güven aralığında 1,5 ve 8,8 olarak bulunmuştur.

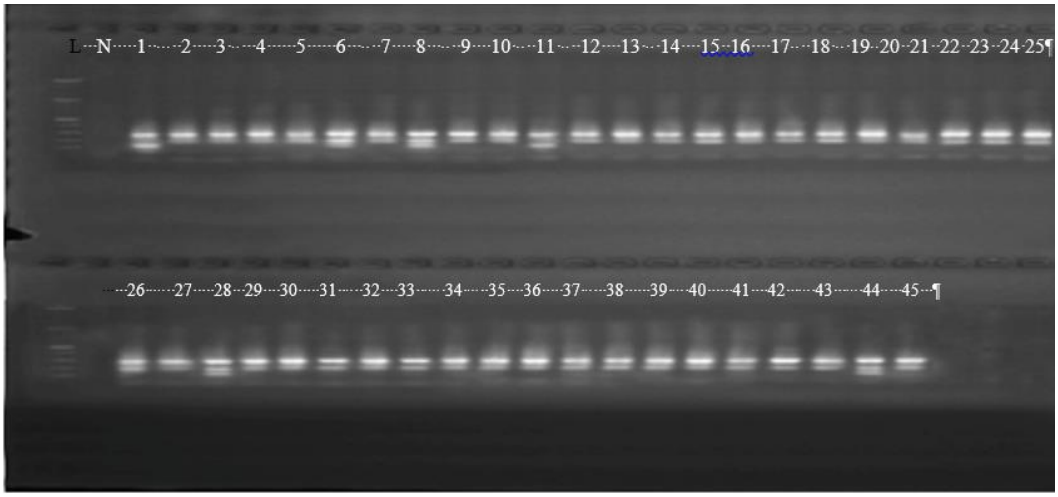
Çizelge 4.4 İdrar yolu enfeksiyonu hastaları ve kontrol grupları arasında rs352140 genotipleri arasındaki ilişkinin istatistiksel değerlendirmeleri

Genotip Frekansı (%) rs352140					
Genotip	**kontrol n=45**	**Vaka n=50**	**P-değeri**	**Olasılık oranı**	**95% Cl**
CC	39 (87%)	31 (62%)	----	1,0	----
CA	4 (9%)	5 (10%)	0,5253 NS	1,5726	0,389 to 6,357
AA	2 (4%)	14 (28%)	0,0061 **	8,8065	1,8601 to 41,6939
Chi-squared	9,161 *	29,94 **			
P değeri	0,0103	<0,0001			
Allele Frekansı (%)					
Allele	**Kontrol n=90**	**Vaka n=100**	**P-değeri**	**Olasılık oranı**	**95% Cl**
C	0,91 (82)	0,67 (67)	<0,0001 **	5,049	2,186 to 11,66
A	0,09 (8)	0,33 (33)			

NS=Anlamlı değil, * p değerinde anlamlı ≤ 0,05, ** p değerinde anlamlı ≤ 0,01



Şekil 4.8 Agaroz jel elektroforesis of PCR Tetra Arms product (rs352140) (L:ladder, N: negatif kontrol 1,5 saat boyunca %2, agaroz Üzerinde 1-50 hasta numunesi)



Şekil 4.9 PCR Tetra Arms ürününün agaroz jel elektroforezi (rs352140) (L:ladder, N: negatif kontrol 1,5 saat boyunca %2 agaroz üzerinde 1-45 kontrol numunesi)

T- ve B-lenfositleri, sınırlı bir TLR kümesini ifade eder (örneğin, TLR2, TLR7 ve TLR9). TLR9, bakteri, virüs ve mantar DNA'sında bulunan hipometillenmiş CpG motiflerini tanmaktadir (Medvedev 2013).

İmmün ve immün olmayan hücrelerde bulunan TLR9 reseptörü, bakteri DNA'sında bol miktarda bulunan metillenmemiş CpG oligonükleotidini tanır. Bu CpG formları,

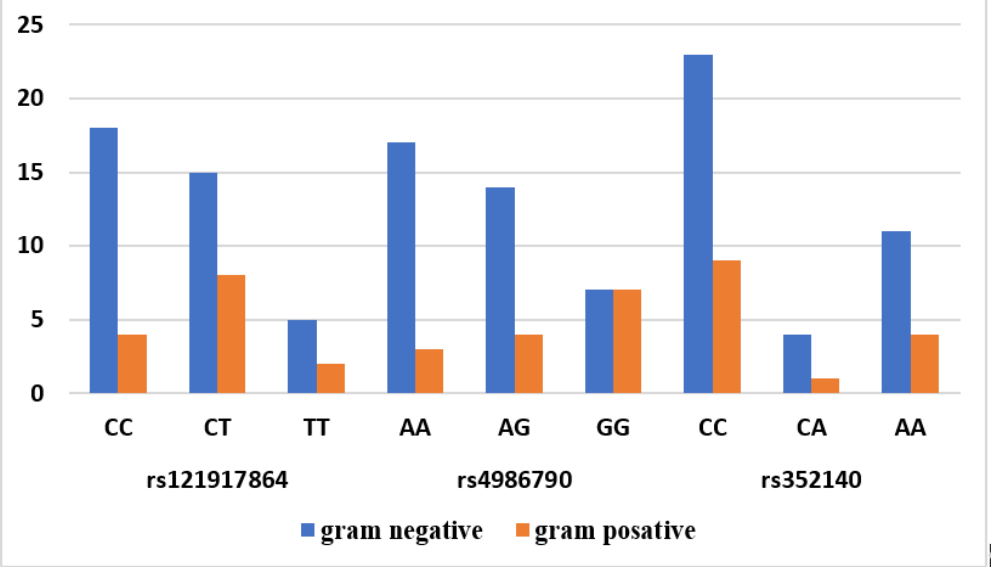
otoantijenlere karşı doğuştan gelen bağışıklık sisteminin aktivasyonunu önleyen koruyucu bir mekanizma olabilen omurgalı genomlarında metillenmektedir (Triantafilou *et al.* 2013). Bakteriyel DNA'yı tanıyan TLR9 genindeki ortak bir SNP'de (rs352140) bir varyant T alelinin varlığı, yeni doğanlarda artan plasental inflamasyon ile ilişkilidir (Karody *et al.* 2016).

Daha ileri araştırmalar, Toll benzeri reseptör 9 polimorfizminin (TLR9 rs352140) bakteriyel menenjit riski ile yakından ilişkili olduğunu ileri sürmüştür (Xue *et al.* 2020).

TLR7 ve TLR9, TLR4 ve TLR1 sinyal modülü aracılığıyla tip I IFN'leri aktive eder, bu daha sonra TRAF6 ile etkileşime girerek NF-κB'nin aktivasyonuna ve proinflamatuar sitokinlerin üretimine yol açar veya TRAF3 ve IKK-a'yı aktive ederek IFN düzenleyicisinin indüklenmesine yol açar (Honda *et al.* 2004, Uematsu *et al.* 2005). TLR9 genlerindeki varyasyonlar, viral ve bakteriyel enfeksiyonlarla hastaların terapötik müdahalelere karşı tepkiler göstermiştir (Medvedev 2013).

4.7 Gram Leke Olarak Sınıflandırılan Bakteriyel Enfeksiyonlu Genotipler

Elde ettiğimiz sonuçlar, yabani genotipin tüm SNP'lerde idrar yolu enfeksiyonuna en sık rastlanan genotip olduğunu göstermiştir. Oysa homozigot genotip, hem rs121917864 hem de rs4986790'da en az görülen genotip iken, rs352140 Gram-negatif bakterilerde en az görülen genotip olarak karşımıza çıkmaktadır. Gram pozitif bakterilerde ise en yüksek enfeksiyon oranlarının rs121917864 homozigot genotipinde, mutasyona uğramış rs4986790 genotipinde ve s352140 yabani genotipinde olduğu, en düşük enfeksiyon oranlarının ise mutasyona uğramış rs121917864 ve rs121917864 genotipinde olduğu tespit edilmiştir. rs4986790'ın yabani genotipi ve homozigot genotip s352140 ile uyumluluk göstermiştir (Şekil 4.10).



Şekil 4.10 Gram pozitif ve negatif olarak sınıflandırılan bakteriyel enfeksiyonlu genotipler

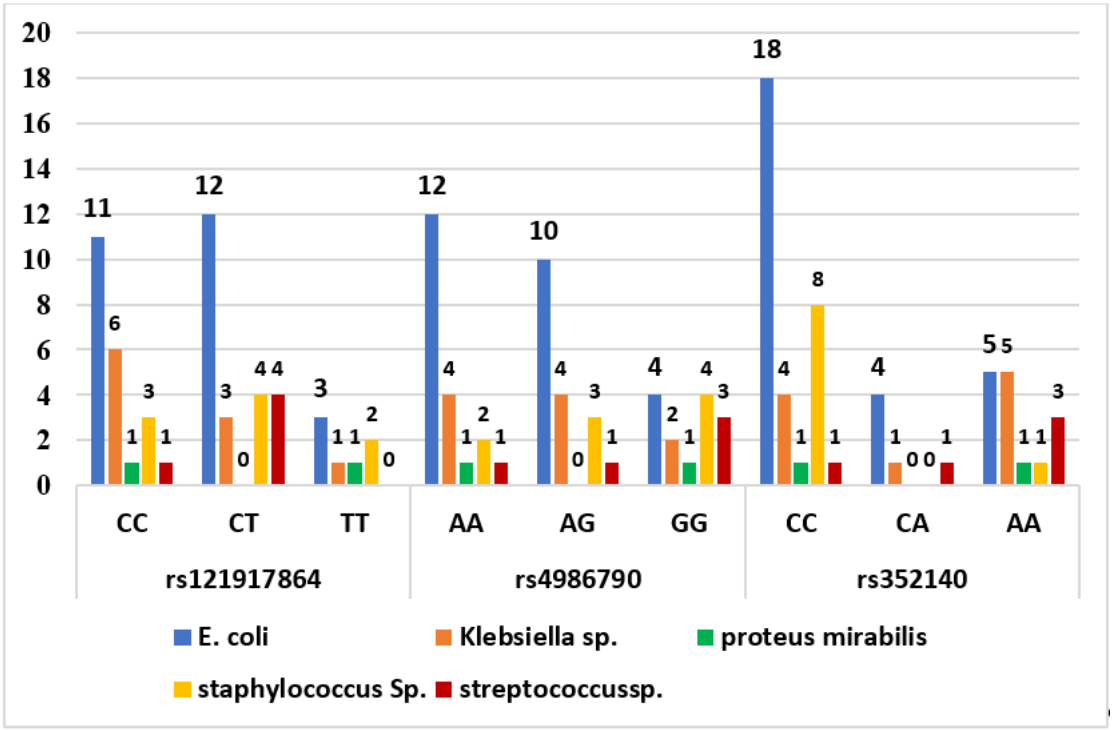
4.8 Bakteri Türü Olarak Sınıflandırılan Bakteriyel Enfeksiyonlu Genotipler

Bakteriyel türler, genotipe göre bölünmüştür (Şekil 4.11). Rs121917864 SNP için, *E. coli* frekansı homozigot CT genotipinde en yüksek iken, en düşük frekans mutasyona uğramış TT genotiptinde tespit edilmiştir. *Klebsiella pneumoniae*'de en yüksek frekans yabani CC genotipinde, en düşük frekans ise mutasyona uğramış genotipte bulunmuştur. *Proteus mirabilis*'e gelince, hem yabani hem de mutasyona uğramış genotipte frekansı eşit iken homozigot genotip kaybolmuştur. Yani, *Staphylococcus saprophyticus* homozigot genotipte en yüksek frekansa, mutasyona uğramış genotipte en düşük frekansa sahip olmuştur. Son olarak, *Streptococcus agalactiae* homozigot genotipte en yüksek frekans görülürken mutasyona uğramış genotipte tamamen kaybolmaktadır.

Rs4986790 SNP'de, *E. coli*'nin frekansı yabani genotipte (AA) en yüksek iken, mutant genotipte (GG) frekans en düşüktür. *Klebsiella pneumoniae*'de en yüksek frekans yabani ve homozigot genotipte (AG), en düşük frekans ise mutasyona uğramış genotipte bulunmuştur. *Proteus mirabilis*'e gelince, frekans hem yabani hem de mutasyona uğramış genotipte eşit ve homozigot genotipte kaybolmuştur. *Staphylococcus sp.* ise mutasyona uğramış genotipte en yüksek, yabani genotipte ise en düşük frekansa sahiptir. Son olarak,

Streptococcus sp. en yüksek frekans mutasyona uğramış genotipte, en düşük frekans ise hem yabani hem de homozigot genotipte tesğit edilmiştir.

Rs352140 allelik polimorfizminde, *E. coli*'nin frekansı yabani CC genotipinde en yüksek iken, homozigot CA genotipinde en düşüktür. *Klebsiella sp.*'de en yüksek frekans mutasyona uğramış genotipte (AA), en düşük frekans ise homozigot genotipte olarak sıralanmaktadır. *Proteus mirabilis*'e gelince, frekans hem yabani hem de mutasyona uğramış genotipte eşit ve homozigot genotipte kaybolmuştur. S*taphylococcus sp.* yabani genotipte en yüksek frekans bulunurken homozigot genotipte kaybolmuştur. Son olarak, *Streptococcus* sp.'de en yüksek frekans mutasyona uğramış genotipte en düşük frekans ise hem yabani hem de homozigot genotipte tespit edilmiştir.



Şekil 4.11 Bakteri türleri olarak sınıflandırılan bakteriyel enfeksiyonlu genotipler

5 SONUÇ VE ÖNERİLER

Yapılan çalışmalar, cinsel olarak aktif kadınlarda İYE'lerin daha sık olduğunu göstermiştir (Rowe and Juthani-Mehta 2013). Orta yaşta özellikle menopoza giren kadınlarda idrar yolu enfeksiyonu insidansı azalmakta, ancak yaşlılarda artmaktadır (Eriksson *et al.* 2010). Daha önceki araştırmalar, 65 yaş üstü kadınların %10'undan fazlasının idrar yolu enfeksiyonu geçirdiğini göstermektedir hatta 85 yaş üstü kadınlarda bu oran yaklaşık %30'a çıkmaktadır (Eriksson *et al.* 2010, Rowe and Juthani-Mehta 2013).

Liu *et al.* 2022 tarafından yapılan çalışmada 16-25 yaş aralığında, bağırsaklardan izole edilen mikroorganizma yüzdesi %44, 26-30 yaş aralığında %23, 36-45 yaş aralığında %19, 46-55 yaş aralığında ise %11 olarak tespit edilmiştir. Bu sonuçlar elde etmiş olduğumuz sonuçlar ile uyumluluk göstermiştir. (Clementz *et al.* 2022) tarafından yapılan çalışmada izole edilen mikroorganizma yüzdesi 16-25 yaş aralığında %25, 26-35 yaş aralığında %40, 36-45 yaş aralığında %25 ve 46-55 yaş aralığında %10 olarak ifade edilmiştir. (Clementz *et al.* 2022) tarafından sunulan bu sonuçlar çalışmamızda elde ettiğimiz sonuçlar ile benzerlik göstermemiştir. Bunun nedeni; başta izolasyon olmak üzere, iklim koşulları ve farklı çevre koşulları olarak sıralanmaktadır. Aynı zamanda mikroorganizma gelişimi laboratuvar ekipmanlarına, farklı izolasyon ve teşhis yöntemlerine de bağlıdır.

(Yi *et al.* 2021) tarafından yapılan çalışmada, CT genotipine sahip rs1291 için P değerinin 0,0009 olduğunu ve TT genotipi için ise 0,0299 olduğu belirtilmiştir. Buna bağlı olarak CT genotipinde önemli farklılıklar tespit edilmiştir. Bu çalışma ile bizim çalışmamızdaki CT (P değeri 0,0006) ve TT genotipi için (P değeri 0,0275) P değerleri uyumluluk göstermektedir. Bunun yanı sıra (Zhang *et al.* 2021) tarafından yapılan çalışmada elde edilen P değerlerinde (CT genotipi için P değeri 0,0090 ve TT genotipi için P değeri 0,052) önemli farklılıklar bulunmuştur ve bu sonuçlar bizim çalışmamız ile uyumluluk göstermemiştir. Bu durumun izolasyon kaynağı ve çevre koşullarından kaynaklı olabileceği düşünülmektedir.

TLR-2, lipopeptitler, peptidoglikanlar ve glikosilfosfatidilinositol (GPI)-bağlı proteinler ve zimosan dahil olmak üzere çok sayıda yaygın bakteri formunu tanımaktadır. TLR-2'deki sinonim olmayan iki SNP insan hastalıklarıyla bağlantılıdır (Akira *et al* 2001). Arg677'yi TRP (Arg677Trp) ile değiştiren 2029 nükleotidinde (rs121917864) C>T iletimi, Afrika ve Asya popülasyonlarında, Vlax-Roma hariç hem Avrupa hem de Avrupa dışı popülasyonlarda mevcut değildir. Bu da polimorfizmin Güney Asya'ya göç ettikten sonra Hint-Aryan halklarında ortaya çıkmış olabileceğini göstermektedir (Ioana *et al.* 2012). In vitro, bu SNP'nin NF-B aktivasyonunu ve *Mycobacterium leprae* ve *Mycobacterium tuberculosis* tarafından üretimini engellediğini göstermiştir (Kang *et al*. 2002). Korelilerde ve Tunuslularda bu SNP sırasıyla cüzzam 46 ve tüberküloza maruz kalma ile ilişkilendirilmiştir. Bu aleli taşıyan hastaların, IFN yolunun aktivasyonu ve yutma sırasında patojenlere karşı adjuvan tip 1 (Th1) T yanıtının indüklenmesi için gerekli olan mikobakteriler için uyarıcı olan düşük serum IL-12 seviyeleri sergilediklerine ilişkin verilerle uyumludur (Skevaki *et al.* 2015).

Yapılan çalışmalar, TLR2 SNP'lerinin enfeksiyona duyarlılık üzerindeki etkisini vurgulamıştır (Medvedev 2013). Pediatrik genetik çalışma, TLR2 polimorfizmi ile İYE duyarlılığı arasında bir ilişki olduğunu bildirmiştir (Tabel *et al.* 2007).

Bir lipopeptit tarafından indüklenen sinyalleşmenin azalmasına neden olan bir değişken olan TLR2_G2258A polimorfizmi, kadınlarda asemptomatik bakteri geliştirme riskinin artmasıyla ilişkilendirilmiştir (Hawn *et al.* 2009). Bu veriler, TLR2 SNP'lerinin, asemptomatik idrar yolu enfeksiyonlarının (İYE'ler) gelişmesinden önce in vivo olarak insan mesanesine erken bağışıklık tepkilerine katkıda bulunabileceğini göstermektedir. TLR2 polimorfizmi, Japon popülasyonunda agresif periodontitise karşı koruma ile ilişkilendirilmiştir (Takahashi *et al.* 2011). Buna karşılık, başka bir çalışmada TLR2 SNP'lerin taşınması ile genelleştirilmiş agresif periodontitis arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunamamıştır (Emingil *et al.* 2007). TLR2 polimorfizminin kronik hepatit C hastalarında viral yükler ve hepatosellüler karsinoma duyarlılık üzerindeki etkisi tespit edilmiştir (Nischalke *et al.* 2012).

TLR2 polimorfizminin geniş ölçekte incelenmesi, çeşitli bulaşıcı hastalıklarla önemli ilişkilerin ortaya çıkmasına neden olmuştur. TLR2 polimorfizminin karaciğer transplantasyonu sonrası CMV hastalığı (Kang *et al.* 2012, Kijpittayarit *et al.* 2007), bebeklerde nazofaringeal bakteri kolonizasyonu (Vuononvirta *et al.* 2011) ve daha yüksek enfeksiyon oranları için bir risk faktörü olduğu gösterilmiştir. Gram pozitif enfeksiyonlar gelişen karaciğer nakli alıcılarında görülen semptom septik şoktur (Lee *et al*. 2006). Bu durum, cerrahi yoğun bakım ünitesindeki kritik hastalardaki ciddi enfeksiyon riskinin daha yüksek olmasıyla ilişkilendirilmiştir (Ahmad-Nejad *et al.* 2011). Raporlar, TLR2 polimorfizmlerinin birçok etnik kökene sahip tüberkülozlu hastalarda daha yüksek frekanslarda meydana geldiğini ve bozulmuş sinyalleşme yetenekleriyle bağlantılı olduğunu göstermiştir (Medvedev 2013). Türk çocuklarında yapılan çalışmalar TLR2 polimorfizminin enfeksiyondan tüberküloza kadar olan gelişim hızını etkilediğini göstermektedir (Dalgic *et al.* 2011).

Toll benzeri reseptörler (TLR'ler), doğuştan gelen bağışıklık sisteminde önemli bir rol oynayan tek yollu protein membran reseptörleridir. Tipik olarak makrofajlar ve dendritik hücreler gibi sentinel hücrelerde ifade edilen bu reseptörler, bakterilerden türetilen yapısal olarak korunmuş molekülleri, bu mikroplar, deri veya bağırsağın mukoza zarı gibi fiziksel engellere nüfuz ettiğinde tanır ve bu, bağışıklık hücresi tepkilerini aktive etmektedir (Vijay 2018).

(Mazzulli *et al.* 2001) yapmış oldukları çalışmada, İYE'lerin %90'ının Gram pozitif bakterilerden kaynaklandığını ve *Escherichia coli* ile enfeksiyon oranının %80 olduğunu belirtmiştir. Başka bir çalışma Vlax-Roma hariç, Avrupa toplumlarında homozigot allel ve mutasyona uğramış rs121917864 SNP allelinin ortadan kalktığını göstermiştir (Mazzulli *et al.* 2001). Arap toplumlarında Avrupa toplumlarına kıyasla Gram negatif bakterilerin neden olduğu idrar yolu enfeksiyonu oranları azalmıştır. Bunun nedeni Arap toplumlarında homozigot allel ve mutasyona uğramış allelin bulunması, Gram negatif bakterilere, özellikle *Escherichia coli*'ye karşı bir koruma faktörü olarak değerlendirilebilir. Arap toplumlarında yüzde 90'dan Avrupa toplumlarına göre yüzde 73'e, *Escherichia coli* enfeksiyonu ise Arap toplumlarında yüzde 80'den yüzde 50'ye düşmüştür.

(Teräsjärvi *et al.* 2020) tarafından yapılan çalışmada, rs4986790 SNP'yi Gram-negatif bakterilerle ilişkilendirilmiş ve homozigot ve mutasyona uğramış genotipin Gram-negatif bakteri geliştirme riskini önemli ölçüde artırabileceğini göstermiştir. Bu durum polimorfizm ilişkisi ile açıklanmaktadır. TLR4, sağlıklı deneklerde LPS gibi bir TLR4 bağlayıcısına verilen yanlış bir yanıtın, uygun olmayan bir bağışıklık yanıtına yol açabileceğini göstermiştir. Bu, Gram negatif bakterilerin tekrar tekrar kolonizasyon riskini arttırmasından kaynaklanmaktadır (Teräsjärvi *et al.* 2020).

Tüm bu elde edilen veriler değerlendirildiğinde, Irak'ta İYE enfeksiyonunda en baskın bakteri türü *E. coli* olarak tespit edilmiştir ve bunu *Klebsiella sp*. izlemektedir. Enfeksiyon için etkili yaş 15-24 arasında değişmektedir. Rs121917869'un heterozigot ve mutant genotipi, rs4986790'ın mutant tipi ve rs352140'ın mutant genotipi, bakteriyel enfeksiyonda en etkili genotipler olarak bulunmuştur. Yabani tip, incelenen tüm SNP'lerde İYE için en sık görülen genotiptir. Çalışılan TLR genlerinde İYE ile enfeksiyon açısından insanı koruyan bir genotip bulunmamıştır. İYE enfeksiyonunda Gram negatif bakteriler daha baskın olarak karşımıza çıkmıştır. Bunlara ek olarak Rs121917864'teki CT genotipi insanları birçok genotip enfeksiyondan koumaktadır. Özellikle Rs4986790'daki AG genotipi insanları *Proteus* sp. enfeksiyonundan korumaktadır.

KAYNAKLAR

Abel-Santos, E., Scott, C. P., & Benkovic, S. J. 2003. Use of inteins for the in vivo production of stable cyclic peptide libraries in E. coli. In E. coliGene Expression Protocols (pp. 281-294). Humana Press.

Abraham, S. N., & Miao, Y. 2015. The nature of immune responses to urinary tract infections. Nature Reviews Immunology, 15(10): 655-663.

Ahmad-Nejad, P., Denz, C., Zimmer, W., Wacker, J., Bugert, P., Weiss, C., & Neumaier, M. 2011. The presence of functionally relevant toll-like receptor polymorphisms does not significantly correlate with development or outcome of sepsis. Genetic testing and molecular biomarkers, 15(9): 645-651.

Ahmad-Nejad, P., Häcker, H., Rutz, M., Bauer, S., Vabulas, R. M., & Wagner, H. 2002. Bacterial CpG-DNA and lipopolysaccharides activate Toll-like receptors at distinct cellular compartments. European journal of immunology, 32(7): 1958-1968.

Akashi, S., Nagai, Y., Ogata, H., Oikawa, M., Fukase, K., Kusumoto, S., & Miyake, K. 2001. Human MD-2 confers on mouse Toll-like receptor 4 species-specific lipopolysaccharide recognition. International immunology, 13(12): 1595-1599.

Akashi, S., Shimazu, R., Ogata, H., Nagai, Y., Takeda, K., Kimoto, M., & Miyake, K. 2000. Cutting edge: cell surface expression and lipopolysaccharide signaling via the toll-like receptor 4-MD-2 complex on mouse peritoneal macrophages. The Journal of Immunology, 164(7): 3471-3475.

Akira, S., Takeda, K., & Kaisho, T. 2001. Toll-like receptors: critical proteins linking innate and acquired immunity. Nature immunology, 2(8): 675-680.

Alexopoulou, L., Holt, A. C., Medzhitov, R., & Flavell, R. A. 2001. Recognition of double-stranded RNA and activation of NF-κB by Toll-like receptor 3. Nature, 413(6857): 732-738.

Alexopoulou, L., Thomas, V., Schnare, M., Lobet, Y., Anguita, J., Schoen, R. T., & Flavell, R. A. 2002. Hyporesponsiveness to vaccination with Borrelia burgdorferi OspA in humans and in TLR1-and TLR2-deficient mice. Nature medicine, 8(8): 878-884.

Aliprantis, A. O., Yang, R. B., Mark, M. R., Suggett, S., Devaux, B., Radolf, J. D., & Zychlinsky, A. 1999. Cell activation and apoptosis by bacterial lipoproteins through toll-like receptor-2. Science, 285(5428): 736-739.

Aliprantis, A. O., Yang, R. B., Weiss, D. S., Godowski, P., & Zychlinsky, A. 2000. The apoptotic signaling pathway activated by Toll-like receptor-2. The EMBO journal, 19(13): 3325-3336.

Amna, M. A., Chazan, B., Raz, R., Edelstein, H., & Colodner, R. 2013. Risk factors for non-Escherichia coli community-acquired bacteriuria. Infection, 41(2): 473-477.

Anger, J. T., Saigal, C. S., Wang, M., Yano, E. M., & Urologic Diseases in America Project. 2008. Urologic disease burden in the United States: veteran users of Department of Veterans Affairs healthcare. Urology, 72(1): 37-41.

Asai, T., Tena, G., Plotnikova, J., Willmann, M. R., Chiu, W. L., Gomez-Gomez, L., & Sheen, J. 2002. MAP kinase signalling cascade in Arabidopsis innate immunity. Nature, 415(6875): 977-983.

Asea, A. 2008. Heat shock proteins and toll-like receptors. Toll-like receptors (TLRs) and innate immunity, 111-127.

Asea, A., Rehli, M., Kabingu, E., Boch, J. A., Baré, O., Auron, P. E., & Calderwood, S. K. 2002. Novel signal transduction pathway utilized by extracellular HSP70: role of toll-like receptor (TLR) 2 and TLR4. Journal of Biological Chemistry, 277(17): 15028-15034.

Asselin-Paturel, C., Boonstra, A., Dalod, M., Durand, I., Yessaad, N., Dezutter-Dambuyant, C., & Trinchieri, G. 2001. Mouse type I IFN-producing cells are immature APCs with plasmacytoid morphology. Nature immunology, 2(12): 1144-1150.

Baker, B., Zambryski, P., Staskawicz, B., & Dinesh-Kumar, S. P. 1997. Signaling in plant-microbe interactions. Science, 276(5313): 726-733.

Balachandran, S., Roberts, P. C., Brown, L. E., Truong, H., Pattnaik, A. K., Archer, D. R., & Barber, G. N. 2000. Essential role for the dsRNA-dependent protein kinase PKR in innate immunity to viral infection. Immunity, 13(1): 129-141.

Basu, S., Binder, R. J., Ramalingam, T., & Srivastava, P. K. 2001. CD91 is a common receptor for heat shock proteins gp96, hsp90, hsp70, and calreticulin. Immunity, 14(3): 303-313.

Bauer, S., Kirschning, C. J., Häcker, H., Redecke, V., Hausmann, S., Akira, S., & Lipford, G. B. 2001. Human TLR9 confers responsiveness to bacterial DNA via species-specific CpG motif recognition. Proceedings of the national academy of sciences, 98(16): 9237-9242.

Behzadi, E., & Behzadi, P. 2016. The role of toll-like receptors (TLRs) in urinary tract infections (UTIs). Central European journal of urology, 69(4): 404.

Behzadi, P., & Behzadi, E. 2008. The microbial agents of urinary tract infections at central laboratory of Dr. Shariati Hospital, Tehran, Iran. Turk Klin Tip Bilim, 28(4): 445.

Behzadi, P., & Behzadi, E. 2011. A study on apoptosis inducing effects of UVB irradiation in Pseudomonas aeruginosa. Roum Arch Microbiol Immunol, 70(2): 74-77.

Behzadi, P., Behzadi, E., & Ranjbar, R. 2016. IL-12 family cytokines: general characteristics, pathogenic microorganisms, receptors, and signalling pathways. Acta microbiologica et immunologica Hungarica, 63(1): 1-25.

Bent, S., Nallamothu, B. K., Simel, D. L., Fihn, S. D., & Saint, S. 2002. Does this woman have an acute uncomplicated urinary tract infection?. Jama, 287(20): 2701-2710.

Botos, I., Segal, D. M., & Davies, D. R. 2011. The structural biology of Toll-like receptors. Structure, 19(4): 447-459.

Brightbill, H. D., Libraty, D. H., Krutzik, S. R., Yang, R. B., Belisle, J. T., Bleharski, J. R., & Modlin, R. L. 1999. Host defense mechanisms triggered by microbial lipoproteins through toll-like receptors. Science, 285(5428): 732-736.

Brown, P., Ki, M., & Foxman, B. 2005. Acute pyelonephritis among adults. Pharmacoeconomics, 23(11): 1123-1142.

Bryant, C. E., Gay, N. J., Heymans, S., Sacre, S., Schaefer, L., & Midwood, K. S. 2015. Advances in Toll-like receptor biology: Modes of activation by diverse stimuli. Critical reviews in biochemistry and molecular biology, 50(5): 359-379.

Bulut, Y., Faure, E., Thomas, L., Karahashi, H., Michelsen, K. S., Equils, O., & Arditi, M. 2002. Chlamydial heat shock protein 60 activates macrophages and endothelial cells through Toll-like receptor 4 and MD2 in a MyD88-dependent pathway. The Journal of Immunology, 168(3): 1435-1440.

Byrd-Leifer, C. A., Block, E. F., Takeda, K., Akira, S., & Ding, A. 2001. The role of MyD88 and TLR4 in the LPS-mimetic activity of Taxol. European journal of immunology, 31(8): 2448-2457.

Cai, T., Mazzoli, S., Mondaini, N., Meacci, F., Nesi, G., D'Elia, C., & Bartoletti, R. 2012. The role of asymptomatic bacteriuria in young women with recurrent urinary tract infections: to treat or not to treat?. Clinical infectious diseases, 55(6): 771-777.

Caljouw, M. A., den Elzen, W. P., Cools, H. J., & Gussekloo, J. 2011. Predictive factors of urinary tract infections among the oldest old in the general population. A population-based prospective follow-up study. BMC medicine, 9(1): 1-8.

Campos, M. A., Almeida, I. C., Takeuchi, O., Akira, S., Valente, E. P., Procópio, D. O., & Gazzinelli, R. T. 2001. Activation of Toll-like receptor-2 by glycosylphosphatidylinositol anchors from a protozoan parasite. The Journal of Immunology, 167(1): 416-423.

Cheesebrough, T. R. 1998. Cohen v. Brown: I am Woman, Hear Me Score. Vill. Sports & Ent. LJ, 5: 295.

Chu, W. M., Ostertag, D., Li, Z. W., Chang, L., Chen, Y., Hu, Y., & Karin, M. 1999. JNK2 and IKKβ are required for activating the innate response to viral infection. Immunity, 11(6): 721-731.

Chuang, T. H., & Ulevitch, R. J. 2000. Cloning and characterization of a sub-family of human toll-like receptors: hTLR7, hTLR8 and hTLR9. European cytokine network, 11(3): 372-8.

Chuang, T. H., & Ulevitch, R. J. 2001. Identification of hTLR10: a novel human Toll-like receptor preferentially expressed in immune cells. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Gene Structure and Expression, 1518(1-2): 157-161.

Clementz, B. A., Parker, D. A., Trotti, R. L., McDowell, J. E., Keedy, S. K., Keshavan, M. S., & Tamminga, C. A. 2022. Psychosis biotypes: replication and validation from the B-SNIP Consortium. Schizophrenia bulletin, 48(1): 56-68.

Craig, J. C., Simpson, J. M., Williams, G. J., Lowe, A., Reynolds, G. J., McTaggart, S. J., & Roy, L. P. 2009. Antibiotic prophylaxis and recurrent urinary tract infection in children. New England Journal of Medicine, 361(18): 1748-1759.

Da Silva Correia, J., Soldau, K., Christen, U., Tobias, P. S., & Ulevitch, R. J. 2001. Lipopolysaccharide is in close proximity to each of the proteins in its membrane

receptor complex: transfer from CD14 to TLR4 and MD-2. Journal of Biological Chemistry, 276(24): 21129-21135.

Dalgic, N., Tekin, D., Kayaalti, Z., Soylemezoglu, T., Cakir, E., Kilic, B., & Odabasi, M. 2011. Arg753Gln polymorphism of the human Toll-like receptor 2 gene from infection to disease in pediatric tuberculosis. Human immunology, 72(5): 440-445.

De Staercke, C., Lally, C., Austin, H., Winston, C., Dowling, N., Williams, B., & Hooper, W. C. 2007. The lack of association between four point mutations in the promoter region of the toll-like 4 receptor gene and myocardial infarction. Thrombosis research, 119(1): 105-110.

Detmers, P. A., Thieblemont, N., Vasselon, T., Pironkova, R., Miller, D. S., & Wright, S. D. 1996. Potential role of membrane internalization and vesicle fusion in adhesion of neutrophils in response to lipopolysaccharide and TNF. The Journal of Immunology, 157(12): 5589-5596.

Drekonja, D. M., Rector, T. S., Cutting, A., & Johnson, J. R. 2013. Urinary tract infection in male veterans: treatment patterns and outcomes. JAMA internal medicine, 173(1): 62-68.

Du, X., Poltorak, A., Wei, Y., & Beutler, B. 2000. Three novel mammalian toll-like receptors: gene structure, expression, and evolution. European cytokine network, 11(3): 362-71.

Dwyer, P. C., Bono, J. E., Snyder, M., Nov, O., & Berson, Y. 2013. Sources of volunteer motivation: Transformational leadership and personal motives influence volunteer outcomes. Nonprofit management and Leadership, 24(2): 181-205.

Dybdahl, B., Wahba, A., Lien, E., Flo, T. H., Waage, A., Qureshi, N., & Sundan, A. 2002. Inflammatory response after open heart surgery: release of heat-shock protein 70 and signaling through toll-like receptor-4. Circulation, 105(6): 685-690.

Eaves-Pyles, T. D., Wong, H. R., Odoms, K., & Pyles, R. B. 2001. Salmonella flagellin-dependent proinflammatory responses are localized to the conserved amino and carboxyl regions of the protein. The Journal of Immunology, 167(12): 7009-7016.

Elkins, K. L., Rhinehart-Jones, T. R., Stibitz, S., Conover, J. S., & Klinman, D. M. 1999. Bacterial DNA containing CpG motifs stimulates lymphocyte-dependent protection of mice against lethal infection with intracellular bacteria. The Journal of Immunology, 162(4): 2291-2298.

Emingil, G., Berdeli, A., Baylas, H., Saygan, B. H., Gürkan, A., Köse, T., & Atilla, G. 2007. Toll-like receptor 2 and 4 gene polymorphisms in generalized aggressive periodontitis. Journal of periodontology, 78(10): 1968-1977.

Eriksson, I., Gustafson, Y., Fagerström, L., & Olofsson, B. 2010. Prevalence and factors associated with urinary tract infections (UTIs) in very old women. Archives of gerontology and geriatrics, 50(2): 132-135.

Evans, D. A., Williams, D. N., Laughlin, L. W., Miao, L., Warren, J. W., Hennekens, C. H., & Taylor, J. O. 1978. Bacteriuria in a population-based cohort of women. Journal of Infectious Diseases, 138(6): 768-773.

Farhat, K., Riekenberg, S., Heine, H., Debarry, J., Lang, R., Mages, J., & Ulmer, A. J. 2008. Heterodimerization of TLR2 with TLR1 or TLR6 expands the ligand spectrum but does not lead to differential signaling. Journal of leukocyte biology, 83(3): 692-701.

Flores-Mireles, A. L., Walker, J. N., Caparon, M., & Hultgren, S. J. 2015. Urinary tract infections: epidemiology, mechanisms of infection and treatment options. Nature reviews microbiology, 13(5): 269-284.

Foxman, B., Barlow, R., D'Arcy, H., Gillespie, B., & Sobel, J. D. 2000. Urinary tract infection: self-reported incidence and associated costs. Annals of epidemiology, 10(8): 509-515.

Foxman, B., Gillespie, B., Koopman, J., Zhang, L., Palin, K., Tallman, P., & Marrs, C. F. 2000. Risk factors for second urinary tract infection among college women. American journal of epidemiology, 151(12): 1194-1205.

Foxman, B., Manning, S. D., Tallman, P., Bauer, R., Zhang, L., Koopman, J. S., & Marrs, C. F. 2002. Uropathogenic Escherichia coli are more likely than commensal E. coli to be shared between heterosexual sex partners. American journal of epidemiology, 156(12): 1133-1140.

Gallucci, S., & Matzinger, P. 2001. Danger signals: SOS to the immune system. Current opinion in immunology, 13(1): 114-119.

Girardin, S. E., Tournebize, R., Mavris, M., Page, A. L., Li, X., Stark, G. R., & Philpott, D. J. 2001. CARD4/Nod1 mediates NF-κB and JNK activation by invasive Shigella flexneri. EMBO reports, 2(8): 736-742.

Gluba, A., Banach, M., Hannam, S., Mikhailidis, D. P., Sakowicz, A., & Rysz, J. 2010. The role of Toll-like receptors in renal diseases. Nature Reviews Nephrology, 6(4): 224-235.

Gómez-Gómez, L., & Boller, T. 2000. FLS2: an LRR receptor–like kinase involved in the perception of the bacterial elicitor flagellin in Arabidopsis. Molecular cell, 5(6): 1003-1011.

Goodman, M. G. 1995. A new approach to vaccine adjuvants. Vaccine Design, 581-609.

Gordon, L. B., Waxman, M. J., Ragsdale, L., & Mermel, L. A. 2013. Overtreatment of presumed urinary tract infection in older women presenting to the emergency department. Journal of the American Geriatrics Society, 61(5): 788-792.

Gupta, K., Hooton, T. M., Naber, K. G., Wullt, B., Colgan, R., Miller, L. G., & Soper, D. E. 2011. International clinical practice guidelines for the treatment of acute uncomplicated cystitis and pyelonephritis in women: a 2010 update by the Infectious Diseases Society of America and the European Society for Microbiology and Infectious Diseases. Clinical infectious diseases, 52(5): e103-e120.

Habich, C., Baumgart, K., Kolb, H., & Burkart, V. 2002. The receptor for heat shock protein 60 on macrophages is saturable, specific, and distinct from receptors for other heat shock proteins. The Journal of Immunology, 168(2): 569-576.

Hajjar, A. M., Ernst, R. K., Tsai, J. H., Wilson, C. B., & Miller, S. I. 2002. Human Toll-like receptor 4 recognizes host-specific LPS modifications. Nature immunology, 3(4): 354-359.

Hajjar, A. M., O'Mahony, D. S., Ozinsky, A., Underhill, D. M., Aderem, A., Klebanoff, S. J., & Wilson, C. B. 2001. Cutting edge: functional interactions between toll-like receptor (TLR) 2 and TLR1 or TLR6 in response to phenol-soluble modulin. The Journal of Immunology, 166(1): 15-19.

Harmanli, O. H., Cheng, G. Y., Nyirjesy, P., Chatwani, A., & Gaughan, J. P. 2000. Urinary tract infections in women with bacterial vaginosis. Obstetrics & Gynecology, 95(5): 710-712.

Hawn, T. R., Scholes, D., Li, S. S., Wang, H., Yang, Y., Roberts, P. L., & Hooton, T. M. 2009. Toll-like receptor polymorphisms and susceptibility to urinary tract infections in adult women. PloS one, 4(6): e5990.

Hayashi, F., Smith, K. D., Ozinsky, A., Hawn, T. R., Yi, E. C., Goodlett, D. R., & Aderem, A. 2001. The innate immune response to bacterial flagellin is mediated by Toll-like receptor 5. Nature, 410(6832): 1099-1103.

Haynes, L. M., Moore, D. D., Kurt-Jones, E. A., Finberg, R. W., Anderson, L. J., & Tripp, R. A. 2001. Involvement of toll-like receptor 4 in innate immunity to respiratory syncytial virus. Journal of virology, 75(22): 10730-10737.

Hemmi, H., Kaisho, T., Takeuchi, O., Sato, S., Sanjo, H., Hoshino, K., & Akira, S. 2002. Small anti-viral compounds activate immune cells via the TLR7 MyD88–dependent signaling pathway. Nature immunology, 3(2): 196-200.

Hemmi, H., Takeuchi, O., Kawai, T., Kaisho, T., Sato, S., Sanjo, H., & Akira, S. 2000. A Toll-like receptor recognizes bacterial DNA. Nature, 408(6813): 740-745.

Hirji, I., Guo, Z., Andersson, S. W., Hammar, N., & Gomez-Caminero, A. 2012. Incidence of urinary tract infection among patients with type 2 diabetes in the UK General Practice Research Database (GPRD). Journal of Diabetes and its Complications, 26(6): 513-516.

Hirschfeld, M., Kirschning, C. J., Schwandner, R., Wesche, H., Weis, J. H., Wooten, R. M., & Weis, J. J. 1999. Cutting edge: inflammatory signaling by Borrelia burgdorferi lipoproteins is mediated by toll-like receptor 2. The Journal of Immunology, 163(5): 2382-2386.

Hirschfeld, M., Weis, J. J., Toshchakov, V., Salkowski, C. A., Cody, M. J., Ward, D. C., & Vogel, S. N. 2001. Signaling by toll-like receptor 2 and 4 agonists results in differential gene expression in murine macrophages. Infection and immunity, 69(3): 1477-1482.

Hoffmann, J. A., Kafatos, F. C., Janeway Jr, C. A., & Ezekowitz, R. A. B. 1999. Phylogenetic perspectives in innate immunity. Science, 284(5418): 1313-1318.

Honda, K., Yanai, H., Mizutani, T., Negishi, H., Shimada, N., Suzuki, N., & Taniguchi, T. 2004. Role of a transductional-transcriptional processor complex involving MyD88 and IRF-7 in Toll-like receptor signaling. Proceedings of the National Academy of Sciences, 101(43): 15416-15421.

Hooton, T. M., Bradley, S. F., Cardenas, D. D., Colgan, R., Geerlings, S. E., Rice, J. C., & Nicolle, L. E. 2010. Diagnosis, prevention, and treatment of catheter-associated urinary tract infection in adults: 2009 International Clinical Practice Guidelines

from the Infectious Diseases Society of America. Clinical infectious diseases, 50(5): 625-663.

Hooton, T. M., Scholes, D., Hughes, J. P., Winter, C., Roberts, P. L., Stapleton, A. E., & Stamm, W. E. 1996. A prospective study of risk factors for symptomatic urinary tract infection in young women. New England journal of medicine, 335(7): 468-474.

Hoshino, K., Takeuchi, O., Kawai, T., Sanjo, H., Ogawa, T., Takeda, Y., & Akira, S. 1999. Cutting edge: Toll-like receptor 4 (TLR4)-deficient mice are hyporesponsive to lipopolysaccharide: evidence for TLR4 as the Lps gene product. The Journal of Immunology, 162(7): 3749-3752.

Höfs, S., Mogavero, S., & Hube, B. 2016. Interaction of Candida albicans with host cells: virulence factors, host defense, escape strategies, and the microbiota. Journal of microbiology, 54(3): 149-169.

Hugot, J. P., Chamaillard, M., Zouali, H., Lesage, S., Cézard, J. P., Belaiche, J., & Thomas, G. 2001. Association of NOD2 leucine-rich repeat variants with susceptibility to Crohn's disease. Nature, 411(6837): 599-603.

Inohara, N., Koseki, T., Del Peso, L., Hu, Y., Yee, C., Chen, S., & Núñez, G. 1999. Nod1, an Apaf-1-like activator of caspase-9 and nuclear factor-κB. Journal of Biological Chemistry, 274(21): 14560-14567.

Inohara, N., Ogura, Y., Chen, F. F., Muto, A., & Nuñez, G. 2001. Human Nod1 confers responsiveness to bacterial lipopolysaccharides. Journal of Biological Chemistry, 276(4): 2551-2554.

Ioana, M., Ferwerda, B., Plantinga, T. S., Stappers, M., Oosting, M., McCall, M., & Netea, M. G. 2012. Different patterns of Toll-like receptor 2 polymorphisms in populations of various ethnic and geographic origins. Infection and immunity, 80(5): 1917-1922.

Jahandeh, N., Ranjbar, R., Behzadi, P., & Behzadi, E. 2015. Uropathogenic Escherichia coli virulence genes: invaluable approaches for designing DNA microarray probes. Central European journal of urology, 68(4): 452.

Jiang, Q., Akashi, S., Miyake, K., & Petty, H. R. 2000. Cutting edge: lipopolysaccharide induces physical proximity between CD14 and Toll-like receptor 4 (TLR4) prior to nuclear translocation of NF-κB. The Journal of Immunology, 165(7): 3541-3544.

Jin, M. S., & Lee, J. O. 2008. Structures of the toll-like receptor family and its ligand complexes. Immunity, 29(2): 182-191.

Johnson, G. B., Brunn, G. J., Kodaira, Y., & Platt, J. L. 2002. Receptor-mediated monitoring of tissue well-being via detection of soluble heparan sulfate by Toll-like receptor 4. The Journal of Immunology, 168(10): 5233-5239.

Kadowaki, N., Ho, S., Antonenko, S., de Waal Malefyt, R., Kastelein, R. A., Bazan, F., & Liu, Y. J. 2001. Subsets of human dendritic cell precursors express different toll-like receptors and respond to different microbial antigens. The Journal of experimental medicine, 194(6): 863-870.

Kang, J. Y., & Lee, J. O. 2011. Structural biology of the Toll-like receptor family. Annual review of biochemistry, 80(1): 917-941.

Kang, S. H., Abdel-Massih, R. C., Brown, R. A., Dierkhising, R. A., Kremers, W. K., & Razonable, R. R. 2012. Homozygosity for the toll-like receptor 2 R753Q single-nucleotide polymorphism is a risk factor for cytomegalovirus disease after liver transplantation. Journal of Infectious Diseases, 205(4): 639-646.

Kang, T. J., Lee, S. B., & Chae, G. T. 2002. A polymorphism in the toll-like receptor 2 is associated with IL-12 production from monocyte in lepromatous leprosy. Cytokine, 20(2): 56-62.

Karody, V., Reese, S., Kumar, N., Liedel, J., Jarzembowski, J., & Sampath, V. 2016. A toll-like receptor 9 (rs352140) variant is associated with placental inflammation in newborn infants. The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine, 29(13): 2210-2216.

Karoly, E., Fekete, A., Banki, N. F., Szebeni, B., Vannay, A., Szabo, A. J., & Reusz, G. S. 2007. Heat shock protein 72 (HSPA1B) gene polymorphism and Toll-like receptor (TLR) 4 mutation are associated with increased risk of urinary tract infection in children. Pediatric research, 61(3): 371-374.

Kawasaki, K., Akashi, S., Shimazu, R., Yoshida, T., Miyake, K., & Nishijima, M. 2000. Mouse toll-like receptor 4· MD-2 complex mediates lipopolysaccharide-mimetic signal transduction by Taxol. Journal of Biological Chemistry, 275(4): 2251-2254.

Kawasaki, K., Gomi, K., & Nishijima, M. 2001. Cutting edge: Gln22 of mouse MD-2 is essential for species-specific lipopolysaccharide mimetic action of taxol. The Journal of Immunology, 166(1): 11-14.

Kazemier, B. M., Schneeberger, C., De Miranda, E., Van Wassenaer, A., Bossuyt, P. M., Vogelvang, T. E., & Geerlings, S. E. 2012. Costs and effects of screening and treating low risk women with a singleton pregnancy for asymptomatic bacteriuria, the ASB study. BMC pregnancy and childbirth, 12(1): 1-5.

Ki, M., Park, T., Choi, B., & Foxman, B. 2004. The epidemiology of acute pyelonephritis in South Korea, 1997–1999. American Journal of Epidemiology, 160(10): 985-993.

Kiechl, S., Lorenz, E., Reindl, M., Wiedermann, C. J., Oberhollenzer, F., Bonora, E., & Schwartz, D. A. 2002. Toll-like receptor 4 polymorphisms and atherogenesis. New England Journal of Medicine, 347(3): 185-192.

Kijpittayarit, S., Eid, A. J., Brown, R. A., Paya, C. V., & Razonable, R. R. 2007. Relationship between Toll-like receptor 2 polymorphism and cytomegalovirus disease after liver transplantation. Clinical Infectious Diseases, 44(10): 1315-1320.

Kim, S. Y., Park, Y., Kim, H., Kim, J., Koo, S. H., & Kwon, G. C. 2018. Rapid screening of urinary tract infection and discrimination of gram-positive and gram-negative bacteria by automated flow cytometric analysis using Sysmex UF-5000. Journal of clinical microbiology, 56(8): e02004-17.

Krieg, A. M., & Wagner, H. 2000. Causing a commotion in the blood: immunotherapy progresses from bacteria to bacterial DNA. Immunology today, 21(10): 521-526.

Krieg, A. M., Love-Homan, L., Yi, A. K., & Harty, J. T. 1998. CpG DNA induces sustained IL-12 expression in vivo and resistance to Listeria monocytogenes challenge. The Journal of Immunology, 161(5): 2428-2434.

Kurt-Jones, E. A., Popova, L., Kwinn, L., Haynes, L. M., Jones, L. P., Tripp, R. A., & Finberg, R. W. 2000. Pattern recognition receptors TLR4 and CD14 mediate response to respiratory syncytial virus. Nature immunology, 1(5): 398-401.

Latha, M., Vaidya, S., Movva, S., Chava, S., Govindan, S., Govatati, S., & Kodati, V. L. 2011. Molecular pathogenesis of endometriosis; Toll-like receptor-4 A896G (D299G) polymorphism: a novel explanation. Genetic Testing and Molecular Biomarkers, 15(3): 181-184.

Laupland, K. B., Ross, T., Pitout, J. D. D., Church, D. L., & Gregson, D. B. 2007. Community-onset urinary tract infections: a population-based assessment. Infection, 35(3): 150-153.

Lee, H. K., Dunzendorfer, S., Soldau, K., & Tobias, P. S. 2006. Double-stranded RNA-mediated TLR3 activation is enhanced by CD14. Immunity, 24(2): 153-163.

Lehner, M. D., Morath, S., Michelsen, K. S., Schumann, R. R., & Hartung, T. 2001. Induction of cross-tolerance by lipopolysaccharide and highly purified lipoteichoic acid via different Toll-like receptors independent of paracrine mediators. The Journal of Immunology, 166(8): 5161-5167.

Levy, D. E. 2002. Whence interferon? Variety in the production of interferon in response to viral infection. The Journal of experimental medicine, 195(4): F15-F18.

Lewis, S. S., Knelson, L. P., Moehring, R. W., Chen, L. F., Sexton, D. J., & Anderson, D. J. 2013. Comparison of Non–Intensive Care Unit (ICU) versus ICU Rates of Catheter-Associated Urinary Tract Infection in Community Hospitals. Infection Control & Hospital Epidemiology, 34(7): 744-747.

Lien, E., Means, T. K., Heine, H., Yoshimura, A., Kusumoto, S., Fukase, K., & Golenbock, D. T. 2000. Toll-like receptor 4 imparts ligand-specific recognition of bacterial lipopolysaccharide. The Journal of clinical investigation, 105(4): 497-504.

Lien, E., Sellati, T. J., Yoshimura, A., Flo, T. H., Rawadi, G., Finberg, R. W., & Golenbock, D. T. 1999. Toll-like receptor 2 functions as a pattern recognition receptor for diverse bacterial products. Journal of Biological Chemistry, 274(47): 33419-33425.

Liu, I., Stein, E., Tan, B., & Richter, C. P. 2022. Using Machine Learning to Recognize Chronic Rhinosinusitis.

Lorenz, E., Mira, J. P., Frees, K. L., & Schwartz, D. A. 2002. Relevance of mutations in the TLR4 receptor in patients with gram-negative septic shock. Archives of internal medicine, 162(9): 1028-1032.

LoVullo, E. D., Wright, L. F., Isabella, V., Huntley, J. F., & Pavelka Jr, M. S. 2015. Revisiting the Gram-negative lipoprotein paradigm. Journal of bacteriology, 197(10): 1705-1715.

Mackie, G. 1996. Ending footbinding and infibulation: A convention account. American sociological review, 999-1017.

Marrs, C. F., Zhang, L., & Foxman, B. 2005. Escherichia coli mediated urinary tract infections: are there distinct uropathogenic E. coli (UPEC) pathotypes?. FEMS microbiology letters, 252(2): 183-190.

Massari, P., Henneke, P., Ho, Y., Latz, E., Golenbock, D. T., & Wetzler, L. M. 2002. Cutting edge: Immune stimulation by neisserial porins is toll-like receptor 2 and MyD88 dependent. The Journal of Immunology, 168(4): 1533-1537.

Mazzulli, T., Skulnick, M., Small, G., Marshall, W., Hoban, D. J., Zhanel, G. G., & Low, D. E. 2001. Susceptibility of community Gram-negative urinary tract isolates to mecillinam and other oral agents. Canadian journal of infectious diseases, 12(5): 289-292.

Means, T. K., Lien, E., Yoshimura, A., Wang, S., Golenbock, D. T., & Fenton, M. J. 1999. The CD14 ligands lipoarabinomannan and lipopolysaccharide differ in their requirement for Toll-like receptors. The Journal of Immunology, 163(12): 6748-6755.

Means, T. K., Wang, S., Lien, E., Yoshimura, A., Golenbock, D. T., & Fenton, M. J. 1999. Human toll-like receptors mediate cellular activation by Mycobacterium tuberculosis. The Journal of Immunology, 163(7): 3920-3927.

Medvedev, A. E. 2013. Toll-like receptor polymorphisms, inflammatory and infectious diseases, allergies, and cancer. Journal of Interferon & Cytokine Research, 33(9): 467-484.

Medzhitov, R. 2001. Toll-like receptors and innate immunity. Nature Reviews Immunology, 1(2): 135-145.

Medzhitov, R., Preston-Hurlburt, P., & Janeway, C. A. 1997. A human homologue of the Drosophila Toll protein signals activation of adaptive immunity. Nature, 388(6640): 394-397.

Melzer, M., & Welch, C. 2013. Outcomes in UK patients with hospital-acquired bacteraemia and the risk of catheter-associated urinary tract infections. Postgraduate medical journal, 89(1052): 329-334.

Michel, O., LeVan, T. D., Stern, D., Dentener, M., Thorn, J., Gnat, D., & Rylander, R. 2003. Systemic responsiveness to lipopolysaccharide and polymorphisms in the toll-like receptor 4 gene in human beings. Journal of allergy and clinical immunology, 112(5): 923-929.

Misch, E. A., & Hawn, T. R. 2008. Toll-like receptor polymorphisms and susceptibility to human disease. Clinical science, 114(5): 347-360.

Miyake, K., Yamashita, Y., Ogata, M., Sudo, T., & Kimoto, M. 1995. RP105, a novel B cell surface molecule implicated in B cell activation, is a member of the leucine-rich repeat protein family. The Journal of Immunology, 154(7): 3333-3340.

Mulvey, M. A., Schilling, J. D., Martinez, J. J., & Hultgren, S. J. 2000. Bad bugs and beleaguered bladders: interplay between uropathogenic Escherichia coli and innate host defenses. Proceedings of the National Academy of Sciences, 97(16): 8829-8835.

Muzio, M., Bosisio, D., Polentarutti, N., D'amico, G., Stoppacciaro, A., Mancinelli, R., & Mantovani, A. 2000. Differential expression and regulation of toll-like receptors (TLR) in human leukocytes: selective expression of TLR3 in dendritic cells. The Journal of Immunology, 164(11): 5998-6004.

Nachtigall, I., Tamarkin, A., Tafelski, S., Weimann, A., Rothbart, A., Heim, S., & Spies, C. 2014. Polymorphisms of the toll-like receptor 2 and 4 genes are associated with faster progression and a more severe course of sepsis in critically ill patients. Journal of international medical research, 42(1): 93-110.

Nagai, Y., Akashi, S., Nagafuku, M., Ogata, M., Iwakura, Y., Akira, S., & Miyake, K. 2002. Essential role of MD-2 in LPS responsiveness and TLR4 distribution. Nature immunology, 3(7): 667-672.

Nakano, H., Yanagita, M., & Gunn, M. D. 2001. CD11c+ B220+ Gr-1+ cells in mouse lymph nodes and spleen display characteristics of plasmacytoid dendritic cells. The Journal of experimental medicine, 194(8): 1171-1178.

Netea, M. G., Van der Graaf, C. A., Vonk, A. G., Verschueren, I., Van der Meer, J. W., & Kullberg, B. J. 2002. The role of toll-like receptor (TLR) 2 and TLR4 in the host defense against disseminated candidiasis. Journal of Infectious Diseases, 185(10): 1483-1489.

Netea, M. G., Van Deuren, M., Kullberg, B. J., Cavaillon, J. M., & Van der Meer, J. W. 2002. Does the shape of lipid A determine the interaction of LPS with Toll-like receptors?. Trends in immunology, 23(3): 135-139.

Nicolle, L. E. 2009. Urinary tract infections in the elderly. Clinics in geriatric medicine, 25(3): 423-436.

Nicolle, L. E., Harding, G. K., Preiksaitis, J., & Ronald, A. R. 1982. The association of urinary tract infection with sexual intercourse. Journal of Infectious Diseases, 146(5): 579-583.

Nischalke, H. D., Coenen, M., Berger, C., Aldenhoff, K., Müller, T., Berg, T., & Spengler, U. 2012. The toll-like receptor 2 (TLR2)-196 to-174 del/ins polymorphism affects viral loads and susceptibility to hepatocellular carcinoma in chronic hepatitis C. International Journal of Cancer, 130(6): 1470-1475.

Ogata, H., Su, I. H., Miyake, K., Nagai, Y., Akashi, S., Mecklenbräuker, I., & Tarakhovsky, A. 2000. The toll-like receptor protein RP105 regulates lipopolysaccharide signaling in B cells. The Journal of experimental medicine, 192(1): 23-30.

Ogura, Y., Bonen, D. K., Inohara, N., Nicolae, D. L., Chen, F. F., Ramos, R., & Cho, J. H. 2001. A frameshift mutation in NOD2 associated with susceptibility to Crohn's disease. Nature, 411(6837): 603-606.

Ohashi, K., Burkart, V., Flohé, S., & Kolb, H. 2000. Cutting edge: heat shock protein 60 is a putative endogenous ligand of the toll-like receptor-4 complex. The Journal of Immunology, 164(2): 558-561.

Okamura, Y., Watari, M., Jerud, E. S., Young, D. W., Ishizaka, S. T., Rose, J., & Strauss, J. F. 2001. The extra domain A of fibronectin activates Toll-like receptor 4. Journal of Biological Chemistry, 276(13): 10229-10233.

Opitz, B., Schröder, N. W., Spreitzer, I., Michelsen, K. S., Kirschning, C. J., Hallatschek, W., & Schumann, R. R. 2001. Toll-like receptor-2 mediates Treponema glycolipid and lipoteichoic acid-induced NF-κB translocation. Journal of biological chemistry, 276(25): 22041-22047.

Ozinsky, A., Underhill, D. M., Fontenot, J. D., Hajjar, A. M., Smith, K. D., Wilson, C. B., & Aderem, A. 2000. The repertoire for pattern recognition of pathogens by the innate immune system is defined by cooperation between toll-like receptors. Proceedings of the National Academy of Sciences, 97(25): 13766-13771.

Paulsen, V. S., Blencke, H. M., Benincasa, M., Haug, T., Eksteen, J. J., Styrvold, O. B., & Stensvåg, K. 2013. Structure-activity relationships of the antimicrobial peptide arasin 1—and mode of action studies of the N-terminal, proline-rich region. PLos one, 8(1): e53326.

Pickard, R., Lam, T., Maclennan, G., Starr, K., Kilonzo, M., McPherson, G., & N'dow, J. 2012. Types of urethral catheter for reducing symptomatic urinary tract infections in hospitalised adults requiring short-term catheterisation: multicentre randomised controlled trial and economic evaluation of antimicrobial-and antiseptic-impregnated urethral catheters (the CATHETER trial). Health Technology Assessment.

Pitout, J. D. 2012. Extraintestinal pathogenic Escherichia coli: a combination of virulence with antibiotic resistance. Frontiers in microbiology, 3, 9.

Poltorak, A., He, X., Smirnova, I., Liu, M. Y., Huffel, C. V., Du, X., & Beutler, B. 1998. Defective LPS signaling in C3H/HeJ and C57BL/10ScCr mice: mutations in Tlr4 gene. Science, 282(5396): 2085-2088.

Poltorak, A., Ricciardi-Castagnoli, P., Citterio, S., & Beutler, B. 2000. Physical contact between lipopolysaccharide and toll-like receptor 4 revealed by genetic complementation. Proceedings of the National Academy of Sciences, 97(5): 2163-2167.

Qureshi, S. T., Larivière, L., Leveque, G., Clermont, S., Moore, K. J., Gros, P., & Malo, D. 1999. Endotoxin-tolerant mice have mutations in Toll-like receptor 4 (Tlr4). The Journal of experimental medicine, 189(4): 615-625.

Radstake, T. R. D. J., Franke, B., Hanssen, S., Netea, M. G., Welsing, P., Barrera, P., Joosten, L. A. B., van Riel, P. L. C. M., & van den Berg, W. B. 2004. The toll-like receptor 4 Asp299Gly functional variant is associated with decreased rheumatoid arthritis disease susceptibility but does not influence disease severity and/or outcome. Arthritis & Rheumatism, 50(3): 999–1001.

Ragnarsdóttir, B., & Svanborg, C. 2012. Susceptibility to acute pyelonephritis or asymptomatic bacteriuria: host–pathogen interaction in urinary tract infections. Pediatric Nephrology, 27(11): 2017-2029.

Ragnarsdóttir, B., Jönsson, K., Urbano, A., Grönberg-Hernandez, J., Lutay, N., Tammi, M., & Svanborg, C. 2010. Toll-like receptor 4 promoter polymorphisms: common TLR4 variants may protect against severe urinary tract infection. PloS one, 5(5): e10734.

Ramos, N. L., Sekikubo, M., Dzung, D. T. N., Kosnopfel, C., Kironde, F., Mirembe, F., & Brauner, A. 2012. Uropathogenic Escherichia coli isolates from pregnant women in different countries. Journal of clinical microbiology, 50(11): 3569-3574.

Rassa, J. C., Meyers, J. L., Zhang, Y., Kudaravalli, R., & Ross, S. R. 2002. Murine retroviruses activate B cells via interaction with toll-like receptor 4. Proceedings of the National Academy of Sciences, 99(4): 2281-2286.

Regan, T., Nally, K., Carmody, R., Houston, A., Shanahan, F., MacSharry, J., & Brint, E. 2013. Identification of TLR10 as a key mediator of the inflammatory response to Listeria monocytogenes in intestinal epithelial cells and macrophages. The Journal of Immunology, 191(12): 6084-6092.

Regenbogen, S. E., Read, T. E., Roberts, P. L., Marcello, P. W., Schoetz, D. J., & Ricciardi, R. 2011. Urinary tract infection after colon and rectal resections: more common than predicted by risk-adjustment models. Journal of the American College of Surgeons, 213(6): 784-792.

Reygaert, W. C. 2014. Journal of Clinical & Cellular Immunology.

Riffel, A., Lucas, F., Heeb, P., & Brandelli, A. 2003. Characterization of a new keratinolytic bacterium that completely degrades native feather keratin. Archives of Microbiology, 179(4): 258-265.

Rock, F. L., Hardiman, G., Timans, J. C., Kastelein, R. A., & Bazan, J. F. 1998. A family of human receptors structurally related to Drosophila Toll. Proceedings of the National Academy of Sciences, 95(2): 588-593.

Ronald, A. 2002. The etiology of urinary tract infection: traditional and emerging pathogens. The American journal of medicine, 113(1): 14-19.

Rosen, D. A., Hooton, T. M., Stamm, W. E., Humphrey, P. A., & Hultgren, S. J. 2007. Detection of intracellular bacterial communities in human urinary tract infection. PLoS medicine, 4(12): e329.

Rowe, T. A., & Juthani-Mehta, M. 2013. Urinary tract infection in older adults. Aging health, 9(5): 519-528.

Saliba, R., Zahar, J. R., El Allaoui, F., Carbonnelle, E., & Lescat, M. 2020. Impact of freeze/thaw cycles and single freezing at− 80° C on the viability of aerobic bacteria from rectal swabs performed with the ESwabTM system. Diagnostic Microbiology and Infectious Disease, 96(3): 114895.

Salo, J., Uhari, M., Helminen, M., Korppi, M., Nieminen, T., Pokka, T., & Kontiokari, T. 2012. Cranberry juice for the prevention of recurrences of urinary tract infections in children: a randomized placebo-controlled trial. Clinical Infectious Diseases, 54(3): 340-346.

Salvador, E., Wagenlehner, F., Köhler, C. D., Mellmann, A., Hacker, J., Svanborg, C., & Dobrindt, U. 2012. Comparison of asymptomatic bacteriuria Escherichia coli isolates from healthy individuals versus those from hospital patients shows that long-term bladder colonization selects for attenuated virulence phenotypes. Infection and immunity, 80(2): 668-678.

Sargent, M. G. 1968. Rapid fixed-time assay for penicillinase. Journal of bacteriology, 95(4): 1493-1494.

Sarosdy, M. F., Hutzler, D. H., Yee, D., & Von Hoff, D. D. 1993. In vitro sensitivity testing of human bladder cancers and cell lines to TP-40, a hybrid protein with selective targeting and cytotoxicity. The Journal of urology, 150(6): 1950-1955.

Sasu, S., LaVerda, D., Qureshi, N., Golenbock, D. T., & Beasley, D. 2001. Chlamydia pneumoniae and chlamydial heat shock protein 60 stimulate proliferation of human vascular smooth muscle cells via toll-like receptor 4 and p44/p42 mitogen-activated protein kinase activation. Circulation research, 89(3): 244-250.

Schappert, S. M., & Rechtsteiner, E. A. 2011. Ambulatory medical care utilization estimates for 2007. Vital and Health Statistics. Series 13, Data from the National Health Survey, (169): 1-38.

Scholes, D., Hooton, T. M., Roberts, P. L., Gupta, K., Stapleton, A. E., & Stamm, W. E. 2005. Risk factors associated with acute pyelonephritis in healthy women. Annals of internal medicine, 142(1): 20-27.

Schromm, A. B., Lien, E., Henneke, P., Chow, J. C., Yoshimura, A., Heine, H., & Golenbock, D. T. 2001. Molecular genetic analysis of an endotoxin nonresponder mutant cell line: a point mutation in a conserved region of MD-2 abolishes endotoxin-induced signaling. The Journal of experimental medicine, 194(1): 79-88.

Schwandner, R., Dziarski, R., Wesche, H., Rothe, M., & Kirschning, C. J. 1999. Peptidoglycan-and lipoteichoic acid-induced cell activation is mediated by toll-like receptor 2. Journal of Biological Chemistry, 274(25): 17406-17409.

Shimazu, R., Akashi, S., Ogata, H., Nagai, Y., Fukudome, K., Miyake, K., & Kimoto, M. 1999. MD-2, a molecule that confers lipopolysaccharide responsiveness on Toll-like receptor 4. The Journal of experimental medicine, 189(11): 1777-1782.

Siegal, F. P., Kadowaki, N., Shodell, M., Fitzgerald-Bocarsly, P. A., Shah, K., Ho, S., & Liu, Y. J. 1999. The nature of the principal type 1 interferon-producing cells in human blood. Science, 284(5421): 1835-1837.

Skevaki, C., Pararas, M., Kostelidou, K., Tsakris, A., & Routsias, J. G. 2015. Single nucleotide polymorphisms of Toll-like receptors and susceptibility to infectious diseases. Clinical & Experimental Immunology, 180(2): 165-177.

Smaill, F. M., & Vazquez, J. C. 2019. Antibiotics for asymptomatic bacteriuria in pregnancy. Cochrane database of systematic reviews, (11).

Smiley, S. T., King, J. A., & Hancock, W. W. 2001. Fibrinogen stimulates macrophage chemokine secretion through toll-like receptor 4. The Journal of Immunology, 167(5): 2887-2894.

Song, J., & Abraham, S. N. 2008. TLR-mediated immune responses in the urinary tract. Current opinion in microbiology, 11(1): 66-73.

Spencer, J. D., Schwaderer, A. L., Becknell, B., Watson, J., & Hains, D. S. 2014. The innate immune response during urinary tract infection and pyelonephritis. Pediatric Nephrology, 29(7): 1139-1149.

Tabel, Y. I. L. M. A. Z., Berdeli, A., & Mir, S. 2007. Association of TLR2 gene Arg753Gln polymorphism with urinary tract infection in children. International journal of immunogenetics, 34(6): 399-405.

Takahashi, M., Chen, Z., Watanabe, K., Kobayashi, H., Nakajima, T., Kimura, A., & Izumi, Y. 2011. Toll-like receptor 2 gene polymorphisms associated with aggressive periodontitis in Japanese. The open dentistry journal, 5: 190.

Takeda, K., Kaisho, T., & Akira, S. 2003. Toll-like receptors. Annual review of immunology, 21: 335.

Takeuchi O, Hoshino K, Akira S. 2000. Cutting Edge: TLR2-deficient and MyD88-deficient mice are highly susceptible to Staphylococcus aureus infection. J. Immunol. 165:5392–96

Takeuchi, O., & Akira, S. 2010. Pattern recognition receptors and inflammation. Cell, 140(6): 805-820.

Takeuchi, O., Hoshino, K., Kawai, T., Sanjo, H., Takada, H., Ogawa, T., & Akira, S. 1999. Differential roles of TLR2 and TLR4 in recognition of gram-negative and gram-positive bacterial cell wall components. Immunity, 11(4): 443-451.

Takeuchi, O., Kaufmann, A., Grote, K., Kawai, T., Hoshino, K., Morr, M., & Akira, S. 2000. Cutting edge: preferentially the R-stereoisomer of the mycoplasmal lipopeptide macrophage-activating lipopeptide-2 activates immune cells through a toll-like receptor 2-and MyD88-dependent signaling pathway. The Journal of Immunology, 164(2): 554-557.

Takeuchi, O., Kawai, T., Sanjo, H., Copeland, N. G., Gilbert, D. J., Jenkins, N. A., & Akira, S. 1999. TLR6: A novel member of an expanding toll-like receptor family. Gene, 231(1-2): 59-65.

Takeuchi, O., Sato, S., Horiuchi, T., Hoshino, K., Takeda, K., Dong, Z., & Akira, S. 2002. Cutting edge: role of Toll-like receptor 1 in mediating immune response to microbial lipoproteins. The Journal of Immunology, 169(1): 10-14.

Teräsjärvi, J. T., Toivonen, L., Vuononvirta, J., Mertsola, J., Peltola, V., & He, Q. 2020. TLR4 Polymorphism, Nasopharyngeal Bacterial Colonization, and the development of childhood asthma: A prospective birth-cohort study in Finnish children. Genes, 11(7): 768.

Terlizzi, M. E., Gribaudo, G., & Maffei, M. E. 2017. UroPathogenic Escherichia coli (UPEC) infections: virulence factors, bladder responses, antibiotic, and non-antibiotic antimicrobial strategies. Frontiers in microbiology, 8: 1566.

Termeer, C., Benedix, F., Sleeman, J., Fieber, C., Voith, U., Ahrens, T., & Simon, J. C. 2002. Oligosaccharides of Hyaluronan activate dendritic cells via toll-like receptor 4. The Journal of experimental medicine, 195(1): 99-111.

Triantafilou, K., Triantafilou, M., & Dedrick, R. L. 2001. A CD14-independent LPS receptor cluster. Nature immunology, 2(4): 338-345.

Triantafilou, M., De Glanville, B., Aboklaish, A. F., Spiller, O. B., Kotecha, S., & Triantafilou, K. 2013. Synergic activation of toll-like receptor (TLR) 2/6 and 9 in response to Ureaplasma parvum & urealyticum in human amniotic epithelial cells. PloS one, 8(4): e61199.

Uçkay, I., Sax, H., Gayet-Ageron, A., Ruef, C., Mühlemann, K., Troillet, N., & Pittet, D. 2013. High proportion of healthcare-associated urinary tract infection in the

absence of prior exposure to urinary catheter: a cross-sectional study. Antimicrobial resistance and infection control, 2(1): 1-10.

Uematsu, S., Sato, S., Yamamoto, M., Hirotani, T., Kato, H., Takeshita, F., & Akira, S. 2005. Interleukin-1 receptor-associated kinase-1 plays an essential role for Toll-like receptor (TLR) 7-and TLR9-mediated interferon-α induction. The Journal of experimental medicine, 201(6): 915-923.

Underhill, D. M., Ozinsky, A., Hajjar, A. M., Stevens, A., Wilson, C. B., Bassetti, M., & Aderem, A. 1999. The Toll-like receptor 2 is recruited to macrophage phagosomes and discriminates between pathogens. Nature, 401(6755): 811-815.

Underhill, D. M., Ozinsky, A., Smith, K. D., & Aderem, A. 1999. Toll-like receptor-2 mediates mycobacteria-induced proinflammatory signaling in macrophages. Proceedings of the National Academy of Sciences, 96(25): 14459-14463.

Vabulas, R. M., Ahmad-Nejad, P., da Costa, C., Miethke, T., Kirschning, C. J., Häcker, H., & Wagner, H. 2001. Endocytosed HSP60s use toll-like receptor 2 (TLR2) and TLR4 to activate the toll/interleukin-1 receptor signaling pathway in innate immune cells. Journal of Biological Chemistry, 276(33): 31332-31339.

Vabulas, R. M., Ahmad-Nejad, P., Ghose, S., Kirschning, C. J., Issels, R. D., & Wagner, H. 2002. HSP70 as endogenous stimulus of the Toll/interleukin-1 receptor signal pathway. Journal of Biological Chemistry, 277(17): 15107-15112.

Van der Graaf, S., Nisisako, T., Schroën, C. G. P. H., Van Der Sman, R. G. M., & Boom, R. M. 2006. Lattice Boltzmann simulations of droplet formation in a T-shaped microchannel. Langmuir, 22(9): 4144-4152.

Vandewalle, A. 2008. Toll-like receptors and renal bacterial infections. Chang Gung Med J, 31(6): 525-537.

Vigil, P. D., Alteri, C. J., & Mobley, H. L. 2011. Identification of in vivo-induced antigens including an RTX family exoprotein required for uropathogenic Escherichia coli virulence. Infection and immunity, 79(6): 2335-2344.

Vijay, K. 2018. Toll-like receptors in immunity and inflammatory diseases: Past, present, and future. International immunopharmacology, 59: 391-412.

Viriyakosol, S., Tobias, P. S., Kitchens, R. L., & Kirkland, T. N. 2001. MD-2 binds to bacterial lipopolysaccharide. Journal of Biological Chemistry, 276(41): 38044-38051.

Visintin, A., Mazzoni, A., Spitzer, J. A., & Segal, D. M. 2001. Secreted MD-2 is a large polymeric protein that efficiently confers lipopolysaccharide sensitivity to Toll-like receptor 4. Proceedings of the National Academy of Sciences, 98(21): 12156-12161.

Visintin, A., Mazzoni, A., Spitzer, J. H., Wyllie, D. H., Dower, S. K., & Segal, D. M. 2001. Regulation of Toll-like receptors in human monocytes and dendritic cells. The Journal of Immunology, 166(1): 249-255.

Vuononvirta, J., Toivonen, L., Gröndahl-Yli-Hannuksela, K., Barkoff, A. M., Lindholm, L., Mertsola, J., & He, Q. 2011. Nasopharyngeal bacterial colonization and gene polymorphisms of mannose-binding lectin and toll-like receptors 2 and 4 in infants. PLoS One, 6(10): e26198.

Wagner, H. 1999. Bacterial CpG DNA activates immune cells to signal infectious danger. Advances in immunology, 73: 329-368.

Wagner, H. 2001. Toll meets bacterial CpG-DNA. Immunity, 14(5): 499-502.

Warren, J. W., Platt, R., Thomas, R. J., Rosner, B., & Kass, E. H. 1978. Antibiotic irrigation and catheter-associated urinary-tract infections. New England Journal of Medicine, 299(11): 570-573.

Werts, C., Tapping, R. I., Mathison, J. C., Chuang, T. H., Kravchenko, V., Saint Girons, I., & Ulevitch, R. J. 2001. Leptospiral lipopolysaccharide activates cells through a TLR2-dependent mechanism. Nature immunology, 2(4): 346-352.

West, A. P., Koblansky, A. A., & Ghosh, S. 2006. Recognition and signaling by toll-like receptors. Annual review of cell and developmental biology, 22(1): 409-437.

Wirth, T., Falush, D., Lan, R., Colles, F., Mensa, P., Wieler, L. H., & Achtman, M. 2006. Sex and virulence in Escherichia coli: an evolutionary perspective. Molecular microbiology, 60(5): 1136-1151.

Wooten, R. M., Ma, Y., Yoder, R. A., Brown, J. P., Weis, J. H., Zachary, J. F., & Weis, J. J. 2002. Toll-like receptor 2 is required for innate, but not acquired, host defense to Borrelia burgdorferi. The Journal of Immunology, 168(1): 348-355.

Wyllie, D. H., Kiss-Toth, E., Visintin, A., Smith, S. C., Boussouf, S., Segal, D. M., & Dower, S. K. 2000. Evidence for an accessory protein function for Toll-like receptor 1 in anti-bacterial responses. The Journal of Immunology, 165(12): 7125-7132.

Xue, H., Peng, H., Li, J., Li, M., & Lu, S. 2020. TLR9 Rs352140 polymorphism contributes to a decreased risk of bacterial meningitis: evidence from a meta-analysis. Epidemiology & Infection, 148.

Yang, R. B., Mark, M. R., Gurney, A. L., & Godowski, P. J. 1999. Signaling events induced by lipopolysaccharide-activated toll-like receptor 2. The Journal of Immunology, 163(2): 639-643.

Yang, Y. L., Reis, L. F., Pavlovic, J., Aguzzi, A., Schäfer, R., Kumar, A., & Weissmann, C. 1995. Deficient signaling in mice devoid of double-stranded RNA-dependent protein kinase. The EMBO journal, 14(24): 6095-6106.

Yi, J., Shen, Y., Yang, Y., Shen, C., Liu, B., Qiao, L., & Wang, Y. 2021. Direct MALDI-TOF profiling of gingival crevicular fluid sediments for periodontitis diagnosis. Talanta, 225: 121956.

Yoshimura, A., Lien, E., Ingalls, R. R., Tuomanen, E., Dziarski, R., & Golenbock, D. 1999. Cutting edge: recognition of Gram-positive bacterial cell wall components by the innate immune system occurs via Toll-like receptor 2. The Journal of Immunology, 163(1): 1-5.

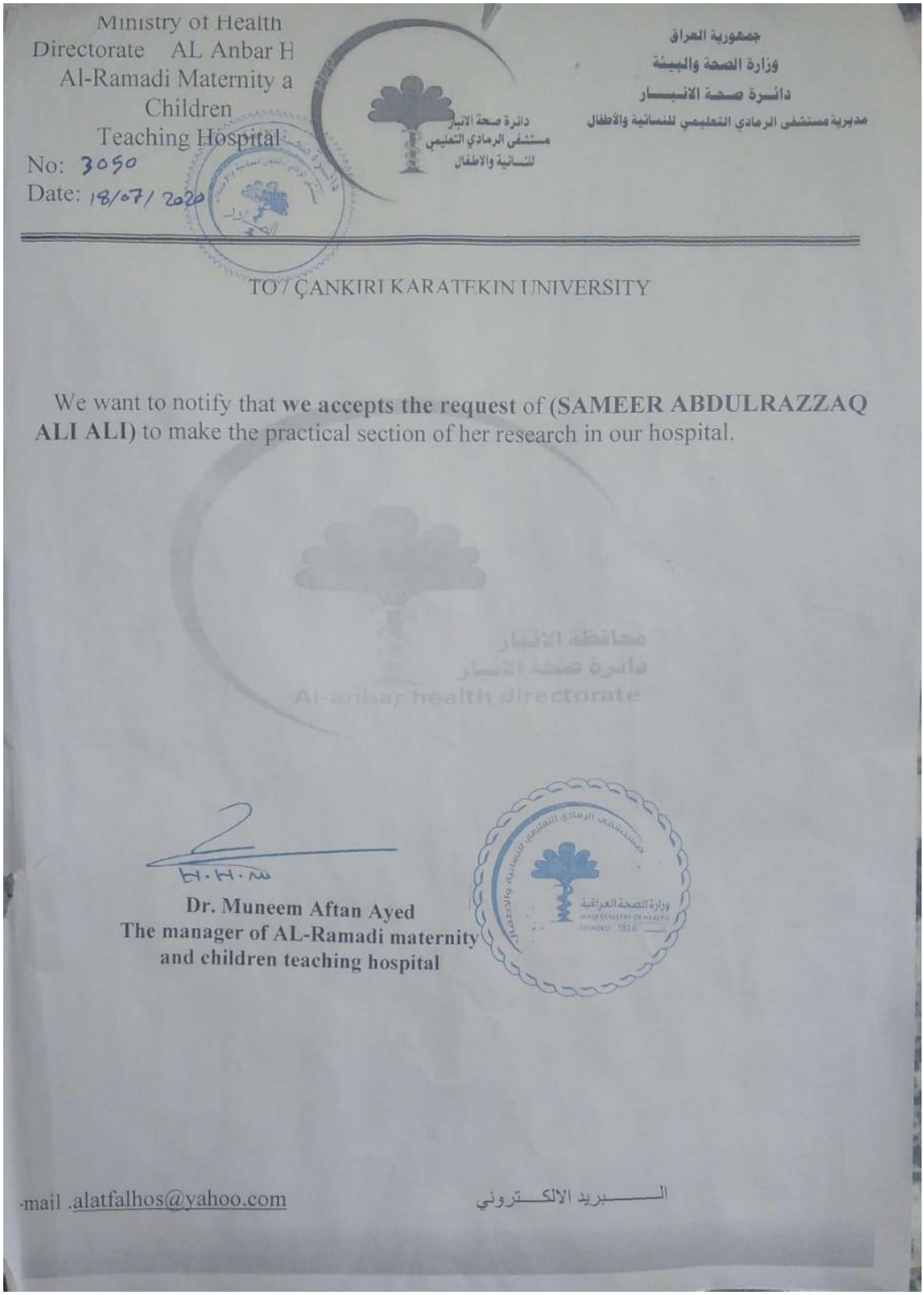
Zhang, D., Huang, C., Liu, C., & Xu, Y. 2022. Weakly Supervised Video Anomaly Detection via Transformer-Enabled Temporal Relation Learning. IEEE Signal Processing Letters.

Zimmermann, S., Egeter, O., Hausmann, S., Lipford, G. B., Röcken, M., Wagner, H., & Heeg, K. 1998. Cutting edge: CpG oligodeoxynucleotides trigger protective and curative Th1 responses in lethal murine leishmaniasis. The Journal of Immunology, 160(8): 3627-3630.

EKLER

EK 1. Hastaneden etik kuralı ve izin mektubu

EK 1. Hastaneden etik kuralı ve izin mektubu



Ministry of Health
Directorate AL Anbar H
Al-Ramadi Maternity a
Children
Teaching Hospital
No: 3050
Date: 18/07/2020

جمهورية العراق
وزارة الصحة والبيئة
دائرة صحة الانبار
مديرية مستشفى الرمادي التعليمي للنسائية والأطفال

دائرة صحة الانبار
مستشفى الرمادي التعليمي
للنسائية والاطفال

TO / ÇANKIRI KARATEKIN UNIVERSITY

We want to notify that **we accepts the request** of **(SAMEER ABDULRAZZAQ ALI ALI)** to make the practical section of her research in our hospital.

محافظة الانبار
دائرة صحة الانبار
Al-anbar health directorate

Dr. Muneem Aftan Ayed
The manager of AL-Ramadi maternity and children teaching hospital

وزارة الصحة العراقية
IRAQI MINISTRY OF HEALTH
FOUNDED 1920

E-mail .alatfalhos@yahoo.com

البريد الالكتروني

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı ve Soyadı : Sameer Abdulrazzaq ALI ALI

Eğitim

Yüksek Lisans	Çankırı Karatekin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı	2020-Halen
Lisans	AL-Anbar Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü	1994-1998