



**KLİMİK**

TÜRK KLİNİK MİKROBİYOLOJİ VE  
İNFEKSİYON HASTALIKLARI DERNEĞİ

Bilimle  
Sağlıkla

35 Yıl



# COVID-19 ile TLR9 -1486T/C ve 2458G/A polimorfizmleri arasındaki ilişkinin araştırılması

**Nil ÖZBİLÜM ŞAHİN<sup>1</sup>, Sevgi BALTACI<sup>2</sup>, Burcu BAYYURT<sup>3</sup>, Serdal ARSLAN<sup>4</sup>, Mehmet BAKIR<sup>4</sup>**

Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Moleküler Biyoloji ve Genetik<sup>1</sup>

Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji<sup>2</sup>

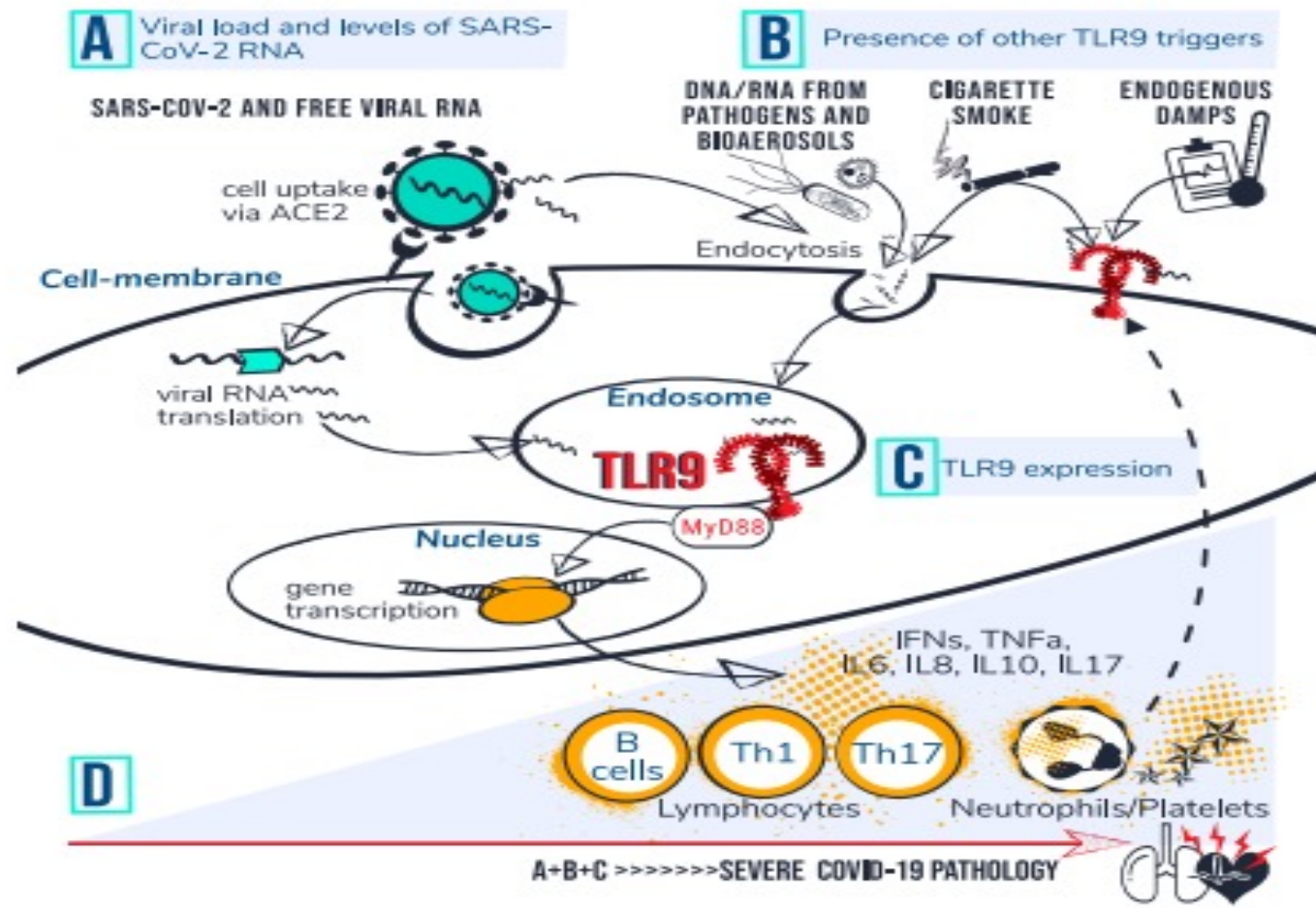
Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Tıbbi Biyoloji<sup>3</sup>

Mersin Üniversitesi Tıbbi Biyoloji<sup>4</sup>

Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji<sup>4</sup>

# GİRİŞ-AMAÇ

- Şiddetli akut solunum sendromu koronavirüs-2 (SARS-CoV-2)'nin birçok farklı mekanizma ile hücre içine girebildiği gösterilmiştir.
- Koronavirüs enfeksiyonuna karşı çeşitli mekanizmalarla immün yanıt oluşmaktadır ve doğal immün yanıtın oluşmasında virüsün lipid, protein ve nükleik asit formundaki (pathogen-associated molecular pattern- PAMP) yapıları önemli rol oynamaktadır.
- Bu yapıların toll-benzeri reseptörler (TLR) tarafından tanınması önemlidir.
- TLR, birçok patojene karşı doğal immün cevabın oluşmasını sağlayan bir transmembran proteindir.
- Aynı zamanda adaptif immün cevabın da aktive olmasını sağlayarak konak immünitesinde çok önemli role sahiptir. Enfeksiyonların gelişmesinde genetik yatkınlıkta belirleyici olduğu düşünülen moleküllerdir.



**FIGURE 1 |** TLR9-Covid-19 hypothesis. Set of circumstances suggested to drive COVID-19 poor outcome via TLR9 encompass; **(A)** viral load and levels of viral RNA; **(B)** presence of other TLR9 triggers, and; **(C)** TLR9 expression levels. **(D)** Individuals with high accumulated levels of A, B and C are proposed to be at risk for developing severe COVID-19 pathology. It is suggested that CpG motifs from SARS-CoV-2 reach TLR9 via ACE mediated viral uptake in the cell followed by RNA translation and transfer of viral CpG-motifs to the endosome. Circulating CpG motifs from virus and other sources could reach TLR9 via endocytosis or directly bind to cell surface at an inflamed site. Dashed line indicates that activation of platelets and neutrophils can increase TLR9 expression levels at cell surface which is suggested to drive a vicious circle of inflammation. Activated TLR9 induces downstream cascades via MyD88, leading to gene transcription, cytokine production and activation of lymphocytes, neutrophils and platelets. The Uncontrolled prolonged activation of TLR9 is suggested to contribute to severe COVID-19 pathophysiology.

# GİRİŞ-AMAÇ

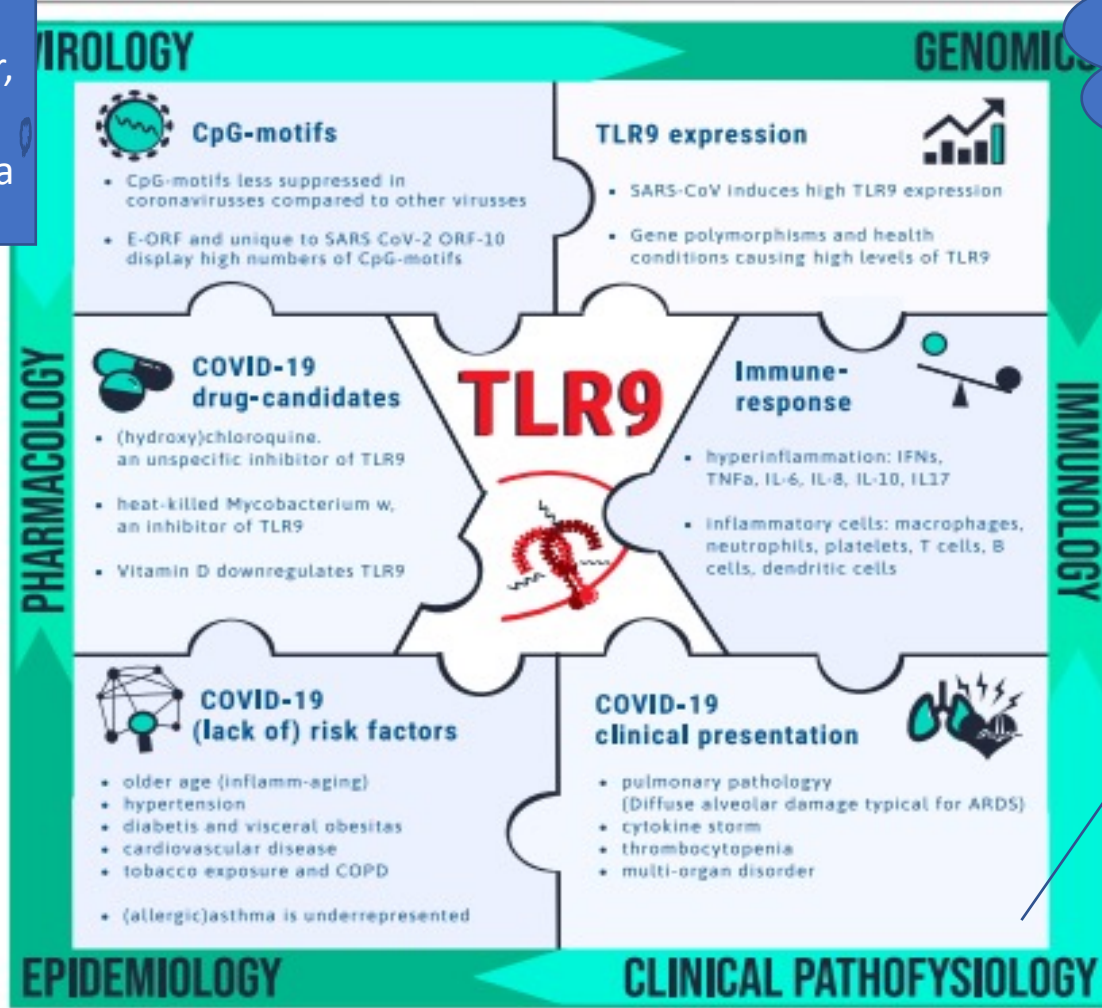
- Tek bir TLR, tek bir mikrobiyolojik yapıya değil birden çok hatta farklı türdeki mikroorganizmalara karşı da reseptör görevi görür. TLR' lerdeki bu çeşitlilik, belli bir enfeksiyöz etkene karşı değişik olguların farklı yanıtlar vermesini de açıklayabilir.
- TLR' lar NF-kB yolağını tetikleyip, aracı moleküller sayesinde IL-1, IL-6, IL-8, IL-12, TNF gibi sitokin ve kemokin salınımını sağlarlar.
- Mikrobiyal DNA' da memeli DNA' sına kıyasla çok yüksek oranda metile olmamış CpG (sitozin-fosfat-guanozin) yapıları bulunmaktadır. Bağışıklık sistemi hücreleri tarafından "tehlike sinyali" olarak algılanan bu yapılar, antijen sunumunda rol alan hücreleri uyarmaktadır. Hemmi ve arkadaşları, bu yapılar için insandaki reseptörün TLR-9 olduğunu göstermişlerdir.

# GİRİŞ-AMAÇ

- Yapılan çalışmalarda,TLR-9' da polimorfizmin HIV de hızlı progresyona neden olduğu saptanmıştır. Başka bir çalışmada romatoid artritte gelişen inflamasyona bağlı olarak sentezlenen ve salınan endojen TLR ligandları, hastalığın hasar verici ve kalıcı etkisiyle ilişkilendirilmiştir.
- TLR9, akciğer ve burun mukozasındaki epitel hücreleri, kaslar, beyin, dendritik hücreler, B hücreleri, monosit, makrofaj, nötrofil, megakaryosit, trombosit, T lenfositleri ve NK hücreleri dahil olmak üzere farklı hücre tiplerinde eksprese edilir.
- TLR9 reseptörünün, COVID-19 patogenezinde önemli bir rolü olabileceği düşünülmektedir.
- TLR9 aktivasyonu ile oluşan inflamasyon solunum yollarında akut solunum sıkıntısı sendromunun ve sepsisin gelişmesinde önemli rol oynar.

Diğer virüslere kıyasla koronavirüslerde CpG motifleri daha az baskılanır, E-ORF ve SARS CoV-2'ye özgü ORF-10, yüksek sayıda CpG motifi içerir

SARS CoV-2, yüksek TLR9 ekspresyon gen polimorfizmlerini ve yüksek TLR 9 seviyelerine neden olan durumu indükler



-İleri yaş  
-Hipertansiyon  
-Diyabet ve visseral obezite  
-Kardiyovasküler hastalık  
-sigara kullanımı ve KOAH

-Pulmoner patoloji  
-Sitokin fırtınası  
-Trombositopeni  
-multi organ yetmezliği

**FIGURE 2 |** Clues pointing toward drug target TLR9 for COVID-19. Unravelling the mechanism by which SARS-CoV-2 is causing disease is needed for identification of vulnerable patients and for drug target identification. Pieces of the complex puzzle are being filled in by insight from various disciplines including virology, genomics, immunology, clinical pathophysiology, epidemiology and pharmacology. It is proposed that TLR9 could fill in a blank spot worthwhile for further investigation. The bullet points summarize the wide spectrum of observations that can be explained via the TLR9 COVID-19 hypothesis.

# GİRİŞ-AMAÇ

- Bu çalışmada COVID-19 ve TLR9 -1486T/C ve 2458G/A polimorfizmleri arasındaki ilişkinin araştırılması amaçlanmıştır.

# YÖNTEM

- Çalışmaya Eylül 2020-Aralık 2020 tarihleri arasında Sivas Numune Hastanesi'nde takip edilen ve COVID-19 PCR testi pozitif olan 18 yaş ve üzeri 150 kişi alındı.
- Kontrol grubu olarak ise 18 yaş ve üstü COVID-19 için PCR testi negatif sağlıklı 171 kişi alındı.
- Alınan kan örneklerinden genetik materyal DNA izole edildi, daha sonra BIORAD PCR cihazında polimeraz zincir reaksiyonu - restriksiyon fragment uzunluk polimorfizmi (PCR-RFLP) yöntemi kullanılarak TLR9 -1486T/C ve 2458G/A polimorfizmleri incelendi.
- Sonuçlar Ki-kare testi ile değerlendirildi.



# BULGULAR

## COVID-19 hastalarında ve sağlıklı kontrollerde TLR9 (-1486T/C ve 2458G/A) polimorfizmleri için alel ve genotip frekansları

- TLR9 -1486T/C polimorfizminin COVID-19 hastalığı ile ilişkili olduğu gözlemlendi.
- Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında hasta olgularda TLR9 -1486T/C TC genotip ( $p=0,001$ ) ve CC genotip ( $p=0,021$ ) frekanslarının istatistiksel olarak anlamlı olduğunu bulundu.
- TLR9 -1486T/C polimorfizminde C allel frekansı istatistiksel olarak anlamlı tespit edilirken, TLR9 2458G/A polimorfizminde istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki gözlenmemiştir.

TLR9-1486T/C	Hasta (%)	Kontrol (%)	P değeri	Olasılıklar oranı (Güven aralığı)
Alel				
T	238 (79.33)	227 (66.37)		
C	62(20.67)	115 (33.63)	<0.001*	0.514 (0.359-0.736)
Genotip				
TT	105(70)			
TC	28(18.67)	55 (32.16)	0.001*	0.417 (0.244-0.713)
CC	17(11.33)	30 (17.55)	0.021*	0.464 (0.240-0.898)
TLR9-2458G/A				
Alel				
G	127 (42.33)	164 (47.95)		
A	173 (57.67)	178 (52.05)	0.154	1.255 (0.919-1.715)
Genotip				
GG	22 (14.67)	33 (19.30)		
GA	83 (55.33)	98 (57.31)	0.444	1.270 (0.688-2.347)
AA	45 (30)	40 (23.39)	0.134	1.688 (0.849-3.355)

\*:  $p < 0.05$



# TARTIŞMA ve SONUÇ

HYPOTHESIS AND THEORY article

Front. Pharmacol., 15 January 2021 | <https://doi.org/10.3389/fphar.2020.601685>



## TLR9 and COVID-19: A Multidisciplinary Theory of a Multifaceted Therapeutic Target

 Gillina F. G. Bezemer<sup>1,2\*</sup> and  Johan Garssen<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>Utrecht Institute of Pharmaceutical Sciences, Faculty of Science, Utrecht University, Utrecht, Netherlands

<sup>2</sup>Impact Station, Hilversum, Netherlands

<sup>3</sup>Department of Immunology, Nutricia Research BV, Utrecht, Netherlands

- TLR 9'un SARS-CoV2'ye karşı savunmadaki rolü ve ağır COVID-19 patolojisinde abartılı TLR 9 aktivasyonu
- COVID-19'da TLR 9 aktivasyonu ile hastalığın ilerlemesi arasındaki bağlantı doğrudan açık değil
- İnsanda TLR9 fonksiyon artışına yol açan genetik mutasyonlar immün aracılı hastalık ve yoğun bakım kaynaklı enfeksiyon görülme sıklığı daha yüksek
- TLR9'un COVID-19 patolojisinde konumu, çoklu organ komplikasyonlarını açıklayabilir
- Yüksek TLR9 ekspresyon düzeyleri genetik yatkınlıktan kaynaklanabilir
- Covid-19'un etnik gruplar arasındaki olumsuz sonuçlarına ilişkin farklılıklar da kısmen genetik yatkınlıktan kaynaklanabilir.
- TLR9'un ARDS ve ALI'nin gelişimine katkıda bulunabileceğine dair kanıtlar vardır

# TARTIŞMA ve SONUÇ

- TLR 9 olarak adlandırılan patojen tanıma reseptörünün, COVID-19 patogenezinde çok önemli bir rolü olduğu düşünülmektedir.
- TLR 9'un şiddetli COVID-19 'lu hastalarda gözlemlenen belirtileri açıklayabilecek bir etki mekanizmasının olduğu bildirilmektedir.
- Ayrıca TLR 9'un, COVID-19'un geç evrelerini geliştirme riski taşıyan hassas hastalarda hiperinflamasyonu ve trombotik komplikasyonları azaltmayı amaçlayan bir "inhibisyon" hedefi olarak kabul edilebileceği önerilmektedir.

# TARTIŞMA ve SONUÇ

- Bulgularımız COVID-19 karşı duyarlılık ve hastalık seyri üzerine TLR9 -1486T/C polimorfizminin önemli rolünün olabileceğini düşündürmektedir.
- Bulguların daha da aydınlatılabilmesi için çok daha fazla hasta popülasyonunu içeren çalışmalara ihtiyaç olduğu düşünülmektedir.

TEŐEKKÜRLER