

MANTARLARDA VİRÜLANS FAKTÖRLERİ

Nilgün ÇERİKÇİOĞLU

Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İSTANBUL
nilguncerik@yahoo.com

ÖZET

Patojenik mikroorganizmalar, konakda çoğalmak ve konağa zarar vermek üzere çeşitli virülans faktörlerine ve mekanizmalarına sahiptirler. Mantarlar keratinaz, kollajenaz, fosfolipaz ve asit proteinaz gibi besin maddelerinin alınımından, konak dokusuna tutunma, dokunun invazyonu ve konak vücudunda yayılma ile bağlantılı hücre dışı enzimler üretirler. Bazı mantarlarda bulunan kapsül önemli bir virülans faktörüdür. Benzer olarak, 37°C'de çoğalabilme yeteneği, dimorfizm gibi faktörler de mantar infeksiyonlarının patogeneğinde önemli rol alabilirler.

Anahtar sözcükler: mantarlar, virülans faktörleri

SUMMARY

Virulence Factors in Fungi

Pathogenic microbes often possess a number of virulence factors and mechanisms that have roles in multiplying and causing harm in host. Fungi produce extracellular enzymes such as keratinases, collagenases, phospholipases and acid proteases that help fungi in nutrient uptake, adherence, tissue invasion and dissemination inside that host. The presence of capsule in some fungi may be an important virulence factor. Similarly, the factors such as the ability to grow at 37°C and dimorphism may have important role in pathogenesis of fungal infections.

Keywords: fungi, virulence factors

Virülans faktörleri, mikroorganizmaların konak savunma sistemleri tarafından elimine edilmelerini önlemek üzere oluşturulan mikrobiyal ürünlerdir. Bu kapsamda, fungal virülans faktörleri işlevlerine göre “kolonizasyonu başlatan ve ilerleten” ve “konağa zarar veren” ürünler olarak sınıflanabilir. Bu faktörlerden bazıları; adezinler, proteazlar, süperoksit dismutaz, fosfolipaz, pigmentler, üreaz, katalaz, toksinler, mannitol, kapsül, hücre duvarı bileşenleridir.

Kolonizasyonu başlatanlar; konak hücreleri ile sıkı bir bağlantı kurar, konak hücrelerini işgal eder, fagositoz ve kompleman gibi doğal savunma sistemlerine direnç sağlar ve özgül bağışık yanıtı kaçmayı kolaylaştırır. Konağa zarar verenler ise bir yandan mantarın dokuda yayılmasına yardımcı olurken, bir yandan da oluşturdukları hasara karşı gelişen sitokin üretimi, inflamasyon gibi immün yanıtlara bağlı olarak doku hasarında artışa yol açarlar⁽⁷⁾.

Bu derlemede, üzerinde en çok çalışılmış

olan virülans faktörleri, en sık izole edilen klinik öneme sahip mantarlar bağlamında anlatılacaktır.

CANDIDA ALBICANS'IN VİRÜLANS FAKTÖRLERİ

1) Adezyon ve adezin molekülleri

C.albicans'ın konak dokularına invazyonu ve disseminasyonunda; öncelikle konak hücre ve dokularındaki çeşitli proteinlere bağlanması gerekmektedir. Yüksek aderens gösteren bu türün içinde, farklı yetenekte kökenler bulunabilir. Maya hücresinin konak hücre yüzeyine tutunmasında, konağın hormonal ve immüno-lojik koşullarının yanı sıra, mantarın yüzey özelliklerinin de önemi vardır^(4,8).

A. Mantar hücre yüzeyinin hidrofobik özelliği:

Hidrokarbonların ve polar olmayan fenil alanin, metionin gibi hidrofobik maddelerin

varlığı, adezinlerle birlikte konak hücre yüzeyine tutunmayı desteklerler⁽⁴⁾.

B. Mantar hücresinin yüzey adezinleri:

Bilinen tüm yüzey adezinleri mantarın hücre duvarı ile bağlantılıdır.

a) Als (agglutinin like sequences) proteinleri:

Bunlar en az 8 adet olduğu bilinen ALS genlerince kodlanan proteinlerdir. Bunların N terminallerindeki kıvrımlarının yapısı immüno-globulin ailesinden olduklarını göstermektedir; C terminalleri ise glikozilfosfatidilinozitol (GPI) yapısında olup, mantar hücre yüzeyine bağlanmadan sorumludur; orta kısımlarında ise serin ve treonin rezidüleri yer alır. Als proteinleri arasında yapısal ortaklık olmasına karşın, işlevleri açısından farklılıklar vardır. Als 1p, 3p ve 5p mantarın hifal formunda bulunup, konak dokusundaki laminin, fibronektin ve kollajene ve de epitel ve endotellere bağlanmada rol alırlar. Als 6p kollajene, Als 9p laminine bağlanmada rol alırken, Als 4p ve 9p sırasıyla kollajene ve laminine bağlanmadan sorumludurlar. Als 5p hücre-hücre agregasyonunda da rol alır. Als 7 nin görevi henüz belirlenmemiştir^(8,9).

Tutunmada önemli rolü olan biyofilm oluşumu sürecinde de, adezyonun bir parçası olarak, Als proteinlerinin eksprese edildiği bildirilmiştir⁽⁸⁾.

b) Hwp (hyphal wall protein) hifal hücre proteinleri:

Hwp 1, hifal hücrelerin yüzeyinde bulunan bir protein olup, N terminali, insan epitel hücrelerinin prolinden zengin kısmı ile benzerlik gösterir. Aynı zamanda hifal yapıların man-noproteinlerini kodlayan Hwp 1p'nin bu kısmı, insan transglutaminazın (TG az) substratı olduğundan, insan yanak epitellerine çok sıkı bağlanmayı sağlar. Hwp 1p'yi kodlayan HWP1 geni devre dışı bırakılan mutant mantarların fare dokularına bağlanma kapasitelerinde azalma saptanmıştır^(8,9).

c) Int 1p yüzey reseptörü:

C.albicans'ın plazma membranı yüzeyinde, insan kompleman reseptörleri 3 ve 4'e benzeyen ve insandaki fibronektin, laminin ve kollajen gibi hücre dışı matriks ligandlarına bağlanan bir reseptör daha tanımlanmıştır. Aynı zamanda dış

sinyallere karşı yanıtta morfolojik değişiklikleri indükleyen bu proteine Int p1 adı verilmiştir^(8,9).

d) Diğer adezinler:

C.albicans'ın maya formundaki hücrelerinin; serum proteinleri olan fibrinojen, plasminojen ve kininojene bağlanmasında rolü olan ve Csh 1p olarak adlandırılan bir yüzey reseptörü tanımlanmıştır. Bu proteinin, maya hücresi yüzey hidrofobluğunu artırdığı ve bu yolla maya-konak bağlantısını kolaylaştırdığı belirlenmiştir⁽⁸⁾.

e) Mannoprotein:

Bu yüzey glikoproteininin ifadesi, yüksek galaktozlu ortamda mayalardaki fibriller yapının artışı ile paralellik gösterir. Bu reseptörler, insan epitel hücreleri yüzeyindeki fukozil ya da glukozamil glikozidler ile bağlantı kurarlar. Bu özellikleri nedeniyle, Lewis antijeni taşıyan insan ağız ve vajen epitellerine tutunup, ileri evrede oral ve vajinal kandidiyaza yol açabilirler.

İnsanlarda monosit, makrofaj, ve dendritik hücrelerde bulunan Toll-benzeri reseptörler (TLR) 2 ve 4, mannoproteinlerle bağlantı kurar. Damar endotellerine tutunarak kan-beyin bariyerini aşan mantarlar, menenjitte yol açarlar⁽⁸⁾.

2) Salınan hidrolitik enzimler

A.Fosfolipazlar:

Bu enzimler, insan hücre membranında bulunan gliserofosfolipidlerin ester bağlarını hidrolize ederler ve epitel hücrelerine tutunmada ve invazyonda önemli role sahiptirler. Özellikle kandan izole edilen kökenlerin çoğunda fosfolipaz aktivitesi saptanmıştır. Fosfolipazlar, hidrolize ettikleri ester bağlarına özgül olarak A,B,C ve D olarak sınıflandırılırlar. Tip B, hem hidrolaz ve hem de lizofosfolipaz-transaçilaz işlevlerine sahiptir ve fosfolipidlerden ve de lizofosfolipidlerden yağ asidi salınmasına yol açar. Aynı zamanda serbest bir yağ asidini lizofosfolipide taşıyarak fosfolipid oluşumunu katalize ederler. Tip B, *C.albicans*'ın hifal formunun uç kısmından izole edilmiştir ve doku invazyonundaki rolü hayvan deneyleri ile de gösterilmiştir^(4,8,9).

B. Salgısal asit proteazlar (SAP):

Karboksil ya da asit proteinaz olarak da adlandırılan aspartik proteazlardır. Bunlar SAP

1-10 genlerince kodlanırlar; işlevleri benzer olmakla beraber moleküler kitleleri, izoelektrik noktaları ve etkinlik gösterebildikleri pH değerleri farklıdır.

SAP genlerinin ekspresyonu transkripsiyonel düzeyde düzenlenir ve yeni oluşmuş bir preproprotein endoplazmik retikulumda bir peptidaz tarafından ve Golgi cihazında bir proteinaz tarafından işlenerek işlevsel hale getirilir.

SAP 1-8 hücre dışına salınan tiplerdir. SAP 1, 2 ve 3 mayalarda bulunur ve pH 3.5'da aktif olup erken aderens, invazyon ve kütanöz infeksiyonda rol alırlar.

SAP 4-6 ise hifal formlar tarafından üretilirler; pH: 5-7'de aktiftirler ve kolonizasyonda ve de farklı dokuların invazyonunda etkinlik gösterirler. SAP 8 penetrasyonda rol almaktadır.

Salgısal asit proteinazlar yegane nitrojen kaynağı olarak bir proteinin varlığında salınırlar.

Hidrolize ettikleri konak proteinleri; kollajen, laminin, fibronektin, musin, laktoferrin, α 2-makroglobulin, immünoglobulinler, interlökin 1-1 β , kompleman, albumin ve pıhtılaşma faktörleri öncüleridir. SAP inhibitörü pepstatin varlığında ya da SAP genlerinin çalışmadığı mantarlarda, mantarın virulansı azalmaktadır.

SAP 9 ve 10 ise salgısal olmayan ve GPI kısımları ile mantar hücre yüzeyine bağlı olarak yer alan serin proteazlardır. Bunlar hem maya hem hifal formda bulunurlar. Bu enzimler konak ya da mantar orijinli substratları hidrolize edebilirler; esas görevleri mantar hücresi duvar bütünlüğünü sağlamak ve tomurcukların ana hücreden ayrılmasını sağlamaktır.

SAP 9 ve 10'u kodlayan genler hem sağlıklı taşıyıcılarda hem de oral kandidiyaz sürecinde saptanmış olup, bu verilere dayanarak kodladıkları enzimlerin mantarın çoğalmasında ve ağız boşluğunda varlığını sürdürmesinde rolü olduğu belirtilmiştir.

Metallopeptidazlar da, bu organizmalar tarafından üretilen ve hücre dışı matriks proteinlerini ve serum proteinlerini hidrolize eden hücre dışı enzimlerdir^(1,4,8,9).

3) Biyofilm

Biyofilm, mikrop topluluklarının dış poli-

merik matriks tarafından çevrelendiği; su kanallarına benzer kanalların yer aldığı ve bir yüzeye tutunmuş halde organize bir oluşumdur. Biyofilmin taban kısımlarında mayalar, üst kısımlarında ise hifal formların yer aldığı saptanmıştır. Aderens, biyofilim üreten hücreler için kritik bir özellik olup; hidrofobik ilişkiler, elektrostatik kuvvetler ve adezyon-ligand bağlantıları ile yönlendirilir. Bu süreçte, ALS1, ALS 2, ALS 4, ALS 5 (ALA-1), HW P1 ve EA P1 genleri tarafından kodlanan ve organik, inorganik yüzeylere, hücre dışı matriks proteinlerine, insan endotel ve epitel hücrelerine tutunmada aracılık eden adezinler ve de glikozilfosfatidilbağlantılı hücre duvarı proteinleri (GPI-CWPs) olarak adlandırılan pek çok adezinler rol alır. ALS 3 ise, biyofilm oluşumu için gerekli bir proteindir; *als3/als3* genleri açısından mutant hale getirilen kökenlerin biyofilm üretmedikleri saptanmıştır.

DeneySEL sonuçlara göre ALS ailesi genlerinin ifadesi, planktonik hücrelere oranla biyofilmli oluşturan hücrelerde daha fazladır. Bu da adezinlere bağlı aderens olgusunun, biyofilmde daha kuvvetle gerçekleştiğini göstermektedir.

Yapılan çalışmalarda *sun 3*, *nup 85*, *mds 3* gibi genlerin hem hifal gelişimde hem de biyofilm oluşumunda rolü olduğunu göstermiştir. Ek olarak, *efg1*, *cph1* gibi hifal regülatör genlerin de biyofilm oluşumunda rolü olduğu saptanmıştır; bu genler açısından mutant kökenlerin, yalnızca mayalardan oluşan, tek katmanlı, ince biyofilmler oluşturdukları gözlenmiştir. Dolayısıyla biyofilm oluşumunda hifal yapıların, yapısal bütünlük ve çok katmanlılık açısından temel elemanlar olduğu belirlenmiştir.

Daha ileri çalışmalar, biyofilmi organize eden mikrop topluluklarında, gen ekspresyonlarının düzenlenmesinde Quorum Sensing'in (hücre-hücre konuşması) rolünü ortaya koymuştur. Bu sayede aşırı çoğalma ve besin maddeleri için rekabetin yanı sıra biyofilmin oluştuğu bölgeden uzak bölgelere de disseminasyon ve infeksiyonun kontrolü sağlanmaktadır.

Kandidalarda bu hücre-hücre sinyal iletişimi farnesol ve tirosol molekülleri tarafından sağlanır. Farnesol hifal yapılaşmayı ve biyofilmi inhibe ederken; tirosol ise germ tüp ve hif gelişimini teşvik eder. Bu iki ürünü kodlayan genler

morfogenetik otoregülatör işlev görmektedir.

İlk adım olarak dokulara aderensi gerçekleştiren biyofilm, konak savunma sistemini kıran kateter gibi biyomateryallerde de oluşturulur. Özellikle bağışıklık sistemi zayıflamış hastalarda, biyofilmden çıkan planktonik hücrelerin hematojen yayılımı sonucu derin-doku infeksiyonları, kandidemi ve septisemi ortaya çıkabilir. Diş plakları da aslında biyofilm olup, çürüklerin ve oral kandidiyazın gelişiminden sorumludur.

Bu dokulardaki yüksek glukoz konsantrasyonu, serum ve diğer proteinler de biyofilm oluşumunu teşvik ederler.

Biyofilm; dimorfizm, fenotipik dönüşüm gibi virülans faktörlerinin ve konak savunma sistemlerine ve antifungal ilaçlara karşı duyarlılıkta azalma gibi olumsuz fenotiplerin ortaya çıkışında çok önemli kaynak oluşturur^(4,9).

4) Morfogenez

C.albicans ve *Candida dubliniensis* için morfogenez tek hücreli maya formundan hif ve yalancı hif olarak adlandırılan filamantöz formlara geçişin tanımıdır. Bu geçiş, N-asetil glukozamin, serum, bazı aminoasitler ve biyotin varlığında ve de nötral pH, 37°C-40°C, % 5.5 CO₂ varlığı gibi çevresel koşullarda kolaylaşır.

Hifal formdan maya forma dönüş ise daha düşük ısılarda, asidik pH'da, serum yokluğunda ve yüksek konsantrasyonda glukoz varlığında gerçekleşir.

Mayadan hifal forma dönüşümde, pek çok genin düzenleyici rol aldığı bilinmektedir. Bunlar arasında PHR1, ECE1, HYR1, RBF1, CHS2, CHS3, morfogenez sürecinde farklı zamanlarda eksprese edilmektedir. Özellikle RBF1 maya-hif geçişinde temel rolü olan gendir. Benzer olarak CL A4 geninin eksprese edilmediği mantarlarda hifal oluşumun bozulduğu ve deneysel fare infeksiyonlarında mantarın virülansının azaldığı gözlenmiştir. EFG-1 geninin ürünü olan 6HLH proteini hem transkripsiyonal aktivatör hem de repressör olarak davranabilmekte ve yalancı ve gerçek hif morfogenezinde rol almaktadır; bu proteinin kodlanmadığı mutantlarda germ tüp ve hif üretiminin başarısız olduğu gösterilmiştir. EFG1 yolağında adenil siklaz ve protein kinaz proteinleri pozitif etkili transkripsiyonel faktör-

ler olarak davranırken; tup 1 ve Rbp1 ise negatif regülatörler olarak davranmaktadırlar. Uygun çevre koşullarında gen aktivasyonu sonucu maya hücresinin içinde cAMP cGMP ve diğer bazı iyonların miktarlarında değişiklik oluşarak, bir iyon akımı ortaya çıkmakta ve hifal uzama gerçekleşmektedir. Ters koşullarda ise, daha plastik bir duvar oluşur ve buradan dışarı doğru balonlaşma olur ve tomurcuk meydana gelir. Mayalar dokuda yayılım için uygun iken; hifler dokuda ileri hasar ve invazyon için uygundur.

Örneğin maya hücreleri makrofajlar tarafından fagosite edildiğinde, hif üretilir ve çalışan hifal proteazlar makrofajların ölümüne yol açar. Aynı faktörler, hiflerin nötrofiller tarafından öldürülmesini de engeller. Ek olarak hifal hücreler endoteller tarafından fagositozu indükleyerek, kandida hücrelerinin kan dolaşımından kaçmasını sağlarlar. Hifal hücrelerde artan miktarda SOD (süper oksit dismutaz) ekspresyonuna bağlı olarak fagositik hücrelerdeki oksidatif patlamaya bağlı ölüm engellenir.

Hifal hücreler, ALS adezinlerinin ekspresyonuna bağlı olarak konak dokusuna daha kuvvetle tutunurlar ve daha etkin invazyona yol açarlar^(4,8,9).

5) Fenotipik dönüşüm

C.albicans'daki fenotipik dönüşüm, çeşitli fenotipik ve metabolik parametreleri ve SAP geni regülasyonu gibi bir seri virülans özelliklerini de etkiler. Fenotipik dönüşüm, kandidaların konaktaki çevresel koşullara uyumunu kolaylaştırır.

C.albicans kolonileri düzgün, halka, yıldız, çizgili, şapka, buruşuk, tüylü gibi morfolojik değişimler gösterirler. Bu dönüşüm, stres altında iken kendiliğinden gelişir ve hücre yüzeyi özelliklerinde ve kolonilerin görüntülerinde ve de metabolik, biyokimyasal ve moleküler özelliklerinde değişiklikler ortaya çıkar; tüm bu değişimler infeksiyon sürecinde daha virülan ve etkin olmak üzere düzenlenmektedir.

Maya-hif geçişinden farklı olarak, fenotipik dönüşüm sürecinde, aynı çevresel koşullar altında aynı popülasyondaki bazı hücreler birbirinden değişik fenotipler seçerler. Kolonilerdeki fenotipik dönüşüm, 10⁻²-10⁻³ gibi yüksek sıklıkta ortaya çıkmaktadır. Bu sürecin moleküler temeli

henüz tam aydınlatılamamıştır. Muhtemelen kromozomal yeniden düzenlenmeler ve SIR-2 benzeri regülasyon, fenotipik dönüşümde rol almaktadır. Halihazırda, en iyi çalışılmış olan dönüşüm, kolonilerdeki WO-1 (White-opaque) (beyaz-opak) fenotipidir. Bu süreçte beyaz, oval ve düzgün koloniler, gri ve buruşuk kolonilere dönüşmektedir.

Mikroskopik olarak, beyaz hücreler oval iken, opak hücreler uzamış ve fasulye şeklinde görünürler. WO sistemindeki gen ekspresyonlarını incelemelerinde opak hücrelerde OPA1 (SAP1) ve SAP3; beyaz hücrelerde ise SAP3, WH 11 ve EFG 1 ürünleri saptanmıştır.

Opak hücreler SAP 1 ve 3 üretir ve daha az virülandır ve deride kolonize olmaya eğilimlidirler, beyaz hücreler ise SAP 2 üretirler ve hayvan deneylerinde sistemik infeksiyonlara yol açtıkları gözlenmiştir.

İn vivo koşullarda bu fenomenin, konak fizyolojisindeki değişimlere ve anatomik bölgeye hızlı adaptasyon, immün sistem saldırılarına ve antifungal tedaviye karşı erken yanıt gibi olgularla ilgili olması söz konusudur. HIV(+) hastaların ağız lezyonlarından izole kökenlerle yapılan bir çalışmada, kökenlerde yüksek sıklıkta fenotipik dönüşüm saptanmış; bunun yanı sıra, kökenlerin tedavi öncesi dönemde 5FC, vorikonazol, flukonazol ve amfoterisin B ye karşı in vitro direnç geliştirdikleri gözlenmiştir. Özellikle "stipple" (noktalı) fenotipte, ERG 11 geninin aşırı ekspresyonuna bağlı flukonazol direnci geliştiği saptanmıştır. Bu da, fenotipik dönüşüm sürecinde ilaçlara dirençle ilintili genlerin de transkripsiyonunun düzenlendiğini göstermektedir⁽¹³⁾.

Farelerle yapılan deneysel infeksiyon çalışmalarında, beyaz hücrelerin lökositler için kemoatraktan madde ürettikleri, opak hücrelerin ise böyle bir davranış göstermedikleri gözlenmiştir. Çalışmada, opak hücrelerin doğal bağışık yanıt tarafından daha zayıf tanınmalara karşın, lökositlerce oluşturulan oksidatif strese karşı daha duyarlı oldukları da saptanmıştır⁽¹¹⁾.

C.albicans kökenlerindeki özgül fenotipik kararsızlıkların, genotipi etkilemeksizin koloni fenotipinde dönüşüme yol açtığı, in vitro koşullarda gösterilmiştir. Bu fenomen, rekürrent vulvo-vajinit epizodlarında da gösterilmiştir.

Bu olguda, yeni fenotiplerin, bir önceki fenotipe özgül immüreaktif hücreler tarafından tanınmayarak varlıklarını sürdürebildikleri ileri sürülmüştür⁽¹²⁾.

6) Ploidi ve eşeyli çoğalma

C.albicans diploid bir organizmadır; eşeyli çoğalmayı denetleyen MTL (Mating Type Locus) gen bölgesine sahiptir; bu bölge sıklıkla heterozigot olup, α/a allellerini içerir. WO-1 (beyaz/opak) fenotipik dönüşümü gösteren kökenlerde özellikle opak hücreler, MTL açısından (a/a) veya (α/α) olarak homozigot MTL gen bölgesine sahiptirler Böyle kökenlerde özellikle insan derisinde çaprazlaşmalar sonucu $\alpha/\alpha/\alpha/\alpha$ tetraploid yavrular oluşabilir; bunlar virülansı düşük ve hızla vücuttan temizlenen formlardır; kalan hücreler ise mayoz dışı kısıtlı rekombinasyon (paraseksüel çoğalma) yolu ile kromozom kaybına uğrarlar ve varlıklarını diploid ya da anöplid yeni hücrelerle sürdürürler.

Opak formlarda α/α homozigot hücreler tarafından üretilen α feromonunun, beyaz hücrelerde biyofilm üretimini indüklediği belirtilmiştir.

Azollere karşı dirençli *C.albicans* kökenlerinde MTL bölgesinde homozigot alleller yer almaktadır ve bu durum ERG 11 direnç genlerinin MTL ile bağlantılı olduğunu göstermiştir⁽³⁾.

CRYPTOCOCCUS NEOFORMANS'IN VİRULANS FAKTÖRLERİ

1) Dimorfizm

Bu mantarın tabiatta bulunan küçük (1.8-3.0 μm) bazidiosporları, 37°C'de mayalara dönüşebildiği gibi, 24°C'de dikaryotik hifal form oluşturabilir.

2) Kapsül üretimi

Kapsül; mantarın dokuyu invazyonu sürecinde rehidrate olmasını takiben üretilen glukuronoksilo manan (GXM) yapısında ve hücre duvarı ile glukon köprüleri aracılığı ile bağlantı kuran bir yapıdır. Farklı *C.neoformans* serotiplerinde, antijenik farklılıklar sergiler. Kapsül sentezinde CAP 59 ve CAP 64 olmak üzere en az iki gen görev alır. Kapsül negatif yüklüdür; kapsüllü organizmanın makrofajlar, nötrofiller ve

monositler tarafından fagosite edilmesi ve öldürülmesi zordur.

Kapsül aynı zamanda kopleman depleksiyonundan, antikor yanıtınlığından ve monosit ve makrofajlardan INF α , IL-1B ve IL-6 gibi sitokinlerin salımınındaki regülasyon bozukluğundan sorumludur. Kapsül, lökositlerin imflamasyon bölgesine göç etmesini de engeller⁽⁸⁾.

3) Melanogenez

Melanin, grimsi, kahverengi veya siyah bir pigment olup mantarın çevresel değişikliklere uyumu için üretilir. Melanin, mantarın akciğerden kaçışını sağlar. *C.neoformans*, tirozinaz enzimi üretmediği için, melanin üretmek üzere çevreden difenolik bileşikleri kazanmak zorundadır. Oluşan melaninin rengi, difenolik ürünün kimyasal özelliklerine bağlıdır. Örneğin 2,3 veya 3,4 konumunda hidrosil grupları içeren O-difenollerden sentezlenen melanin koyu renklidir. Melanin sentezinde; mantarın hücre duvarında yer alan lakkaz (fenoloksidaz) enzimi difenollerin dopakinonlara çevrilmesini katalize eder; bu bileşik ise melanine polimerize olur.

Merkezi sinir sistemi enfeksiyonu sürecinde *C.neoformans*; dopamin, norepinefrin ve epinefrin gibi nörotransmitterleri lakkaz aracılığı ile melanine dönüştürür. Melanin bir antioksidan olarak, mantarı reaktif oksijen türevlerinden korur. Melanin negatif yüklü bir bileşiktir ve başta amfoterisin B olmak üzere antifungal ilaçları bağlayarak onları etkisiz kılar ve mantarı antikor aracılı fagositozdan korur⁽⁸⁾.

Melanin, ortamdaki demir, bakır, kalsiyum, magnezyum gibi iyonları da bağlayarak, mantarın üremesini kolaylaştırır. Melaninler kolay çözünmeyen bileşikler olup, mantarın hücre duvarı bütünlüğünü de korurlar⁽²⁾.

4) Eşeyli çoğalma

C.neoformans, eşeyli evresinde bazidiosporları ile çoğalır. Mantarın eşeyli çoğalma evresinde taksonomik ismi "*Filobasidiella neoformans*"dır. *C.neoformans*, haploiddir ve genomunda a ve α olmak üzere iki MAT (Mating Type) bölgesi içerir. Bu mantarda eşeyli çoğalma, genellikle a ve α zıt tipleri arasındaki çaprazlaşmalarla gerçekleşir. Bu süreçte oluşan füzyonu takiben geniş bir taban (bazidium) meydana

gelmekte ve a/ α diploid formunda mayoz bölünme ve takiben 4 adet haploid a ve α yavru lar (bazidiosporlar) oluşmaktadır. Bunlar enfektif sporlardır. Mantarların A, B, C, D, AD serotipleri ile birlikte değerlendirildiğinde, A α kökenleri enfeksiyonlardan en sık izole edilen kökenlerdir. Bu kökenler yüksek düzeyde lakkaz ve üreaz üreterek, MSS'de daha fazla yayılmaktadırlar. *C.neoformans* kökenlerinde diploid (örneğin aAD α) hibrid hücrelerin, haploidlere oranla büyük olmaları nedeniyle kan-beyin bariyerini aşamadıkları ve bu nedenle MSS'ne ulaşamadıkları belirtilmiştir⁽³⁾.

5) Mannitol üretimi

MSS enfeksiyonunda, *C.neoformans* tarafından üretilen heksitol-D-mannitol, meningoensefalit gelişimini kolaylaştıran bir etmendir. Mannitol, ortamdaki sıvının ozmolalitesinde artışa yol açarak beyin ödemeine katkıda bulunur ve de mantarın nötrofiller tarafından üretilen oksijen metabolitleri tarafından öldürülmesini de engeller⁽⁸⁾.

6) Üreaz

C.neoformans beyin mikrovasküler endotellerine tutunduktan sonra, mantar hücrelerinin ürettiği üreazın mikrokapiller sekestrasyonu sağlayarak kan-beyin bariyerinin aşılmasını kolaylaştırdığı ileri sürülmüştür.

7) Fosfolipazları ve lizofosfolipazlar

Fosfolipaz, *C.neoformans*'a bağlı akciğer enfeksiyonlarında önemli bir yere sahiptir. Mikroorganizmanın akciğer epitellerine tutunmasında; konak hücre harabiyetini takiben hücrelere penetrasyonda rol alır. Bu enzim, makrofajlar içine alınan mantarların hücre membranının yenilenmesinde ve duvar bütünlüğünün korunmasında ve dolayısıyla konak hücrelerindeki mantarların canlılığının sürdürülmesinde öneme sahiptir. Nitekim, fosfolipaz türevlerini kodlayan plb 1 geni mutantlarının virülansında azalmanın yanısıra, makrofajların içinde çoğalamadıkları da gösterilmiştir.

8) Süperoksit dismutaz, peroksidazlar, glutatyon redüktaz

Mantar hücreleri tarafından üretilen bu

enzimler, fagositler içindeki oksidatif öldürülme mekanizmalarından korunmada rol alırlar.

9) Fenotipik dönüşüm

Düzgün formdan mukoid forma dönüşebilen kolonilerin, akciğer infeksiyonu sürecinde konak immün yanıtını modifiye ettikleri belirlenmiştir.

10) Kalsinörin

Kalsinörin, fosfoserin-fosfotreonine özgül bir fosfataz olup, konak proteinlerini defosforile ederek, mantarın konak dokusunda çoğalmasına katkıda bulunur.

11) Demir kazanımı ile ilgili enzimler

C.neoformans, kan dolaşımından çalarak yüzeyine bağladığı demir iyonlarını önce redüktaz aracılığı ile ferröz forma indirger; bunu takiben ürettiği permeaz ile, bu iyonlar mantar hücresi içine alınırlar. Bu süreç mantarın çoğalması ve yayılmasında önemlidir⁽⁸⁾.

ASPERGILLUS TÜRLERİNİN VİRÜLANS FAKTÖRLERİ

Aspergillus fumigatus

1) Sporlar (konidya)

A.fumigatus konidyumları havada 1-100/m³ yoğunluğunda bulunan ve küçük (2-3 µm) sporlardır. İnfeksiyon sporların solunum yolu ile kazanılmasıyla başlar. Özellikle bağışıklık sistemi çökmüş olan hastalarda, alınan sporların vücuttan atılmaması nedeniyle invazif pulmoner infeksiyon, yaygın infeksiyonlar ya da MSS infeksiyonları ortaya çıkabilir.

2) Adezinler

Yapılan son araştırmalara göre, mantar hücre duvarında yeni saptanan antijenik bir yapı olan galaktozaminogalakтан, koruyucu olmanın tam tersine, immunosupresif olarak davranmaktadır. Bu yapısal komponent özellikle nötrofillerde apoptozu indüklemektedir. Hücre duvarına kuvvetle bağlı olan ve kan dolaşımına salınmayan bu madde, mantarın spordan germ tüpün oluşturulduğu aktif dönemde, hücre duvarında yer alır⁽⁶⁾.

3) Melanin üretimi

A.fumigatus sporlarının hücre duvarında bulunan dihidroksinaftalen (DHN) melanin, yeşil-koyu gri renk oluşturur. Melanin; ultraviyole ışınlarına, enzimatik lizise, aşırı ısı derecelerine ve infeksiyon sırasında reaktif oksijen türevlerine karşı koruyuculuk sağlar⁽⁸⁾.

4) Salınan hidrolitik enzimler

Fosfolipazlar, konak hücrelerine tutunma ve hücrelerin penetrasyonunda rol alır. Çalışmalar, özellikle klinik izolatlarda fosfolipaz C'nin etkin olduğunu göstermiştir. Serin proteazlar, elastinolitik aktivite ile akciğerdeki elastini hidrolize ederek infeksiyon sürecinde rol alırlar. Ayrıca; kollajen, fibrin ve fibronojeni de hidrolize ederler⁽⁸⁾.

5) Gliotoksin

Hifal gelişim sürecinde üretilir. Dokudaki çeşitli proteinlere disülfid köprüsü aracılığı ile bağlanır. Toksin, birlikte inkübe edildiği astrosit ve nöronların mitokondriyal aktivitelerinde düşüşe yol açmıştır.

Mikrogilialar ve yüksek konsantrasyondaki gliotoksin ile yapılan çalışmada, canlı hücrelerin sayısı büyük ölçüde düşmüştür. Bir başka çalışma da ise, gliotoksinin astrosit ve nöronlarda apoptozu indüklediği gösterilmiştir. Gliotoksin, subtoksik konsantrasyonlarında ise, astrositlerin fagositik aktivitelerini baskılamıştır⁽⁶⁾.

6) Rektikotosin

Ökaryotik hücre ribozomlarının 28S rRNA bölgesindeki fosfodiester bağımlı koparmaktadır.

7) Endotoksinler

Fumitremorgin, fumağilin, fumagatin ve helvolik asit gibi endotoksinler, infeksiyon sürecinde pirojenik, sitotoksik ve şoka yol açan etkinliklere sahiptirler⁽⁸⁾.

8) Diğer virülans faktörleri

A.fumigatus konidyalı "rodlet katmanı" denilen hidrofobik proteinlerle kaplıdır. Bu katman konak albüminine ve kollajene bağlanmadan sorumludur.

A.fumigatus'un ürettiği süper oksit dismu-

taz (SOD), reaktif oksijen faktörlerine karşı çok koruyucudur.

Bu mantar tarafından üretilen katalaz türevi katA, konidyalarda da bulunur. Hücre duvarı katalazları ile beraber bu enzimler, mantarı çevredeki reaktif oksijen türevlerine karşı korur.

Aspergillus terreus

Fulminan ve yaygın infeksiyon etkeni olarak giderek önem kazanan bu tür, amfoterisin B'ye karşı dirençli kökenleri içermektedir.

Bu türün ürettiği iki çeşit konidyada vardır; PC; fiyalidik konidyadır ve konidyoforda yer alır; AC ise aksesuar konidyadır ve in vitro koşullarda ve de invazif infeksiyonda oluşmaktadır. Bu konidyalar arasında yüzeysel farklılıklar vardır, PC'ler kalın melanin tabakası ile kaplıdır; AC'de ise melanin katmanı yoktur. PC; 2-4 µm, AC ise 4-7 µm boyutunda yani daha büyüktür. AC, 2. saatte germ tüp oluşturabilir, PC oluşturamaz. Çalışmaların sonuçlarına göre:

1. AC'ler PC'lere göre daha yüksek adrens kapasitesine sahiptir.
2. AC'nin metabolizması PC'nin metabolizmasına göre daha uzun süre yüksek düzeyde aktif kalır.
3. AC membran ergosterolü PC'ninkine göre çok azdır; bu durum amfoterisin B'ye direnci açıklayabilir⁽⁵⁾.

MUCOR CIRCINELLOIDES'İN VİRÜLANS FAKTÖRLERİ

Yeni güncellenen, bir zigomikoz etkenidir ve immünokompromize hastalarda fırsatçı infeksiyonlara yol açabilmektedir. Bu mantarın eşeyli tipleri (-) ve (+) olarak tanımlanmıştır. (-) çaprazlaşma tipinin sporları 12.3 ±2.7 µm iken, (+) çaprazlaşma tipinin sporları 4.7±0.9 olarak saptanmıştır. Makrofajlar ile yapılan çalışmalarda, küçük sporlardaki izotropik gelişimin, hifal forma geçişi geciktirdiği gözlenmiştir.

Büyük sporlar ise makrofajlar içinde kısa zamanda germ tüp ve takiben hif oluşturmaktadır ve makrofajların ölümüne yol açmaktadır.

Spor boyutlarındaki farklılığın yanı sıra, sporların melanin içeriğinin ve yüzeysel farklılıklarının da virülans ile ilişkileri üzerinde araştırmalar sürmektedir⁽¹⁰⁾.

KAYNAKLAR

1. Albrecht A, Felk A, Pichova I et al. Glycosylphosphatidylinositol-anchored proteases of *Candida albicans* target proteins necessary for both cellular processes and host-pathogen interactions, *J Biol Chem* 2006;281(2):688-94. <http://dx.doi.org/10.1074/jbc.M509297200> PMID:16269404
2. Çerikçioglu N. Mantarlarda melanin üretiminin virülans ile ilişkisi, *Mikrobiyol Bült* 1999;33(4):357-61.
3. Çerikçioglu N. Mantarlarda çaprazlaşma tipleri, eşeyli çoğalma ve ploidinin virülans üzerine etkileri, *Mikrobiyol Bült* 2009;43(3):507-13. PMID:19795629
4. Çerikçioglu N. *Candida* türleri, "Willke Topçu A, Söyletir G, Doğanay M (eds). Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi-Etkenlere Göre Enfeksiyonlar, Cilt 2., 3. Basım" kitabında s.2411-26, Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul (2008) .
5. Deak E, Wilson SD, White E, Carr JH, Balajee AS. *Aspergillus terreus* accessory conidia are unique in surface architecture, cell wall composition and germination kinetics, *PLoS One* 2009;4(10):e7673. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0007673> PMID:19888344 PMCID:2766032
6. Fontaine T, Delangle A, Simenel C et al. Galactosaminogalactan, a new immunosuppressive polysaccharide of *Aspergillus fumigatus*, *PLoS Pathogens* 2011;7(11):e1002372. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.ppat.1002372> PMID:22102815 PMCID:3213105
7. Huffnagle GB, Herring AC, Traynor TR. Role of fungal virulence factors in evasion of host defences, *ARBS Ann Rev Sci* 2000;2:77-90.
8. Karkowska-Kuleta J, Rapala-Kozik M, Kozik A. Fungi pathogenic to humans: molecular bases of virulence of *Candida albicans*, *Cryptococcus neoformans* and *Aspergillus fumigatus*, *Acta Biochimica Polonica* 2009;56(2):211-24. PMID:19543556
9. Khan MJA, Ahmad I, Aqil F, Owais M, Shahid M, Musarrat J. Virulence and pathogenicity of fungal pathogens with special reference to *Candida albicans*, "Ahmad I, Shahid M, Owais M, Akil F (eds). Combating Fungal Infections, Problems and Remedy" kitabında, s.21-45, Springer, New York (2000).
10. Li CH, Cervantes M, Springer DJ et al. Sporangiospore size dimorphism is linked to virulence of *Mucor circinelloides*, *PLoS Pathogens* 2011;7(6):e1002086.

- <http://dx.doi.org/10.1371/journal.ppat.1002086>
PMid:21698218 PMCID:3116813
11. Matthew BL, Alexander DJ. Differential phagocytosis of white versus opaque *Candida albicans* by *Drosophila* and mouse phagocytes, *PLoS One* 2008;3(1):e1473.
<http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0001473>
PMid:18213381 PMCID:2198939
 12. Schroppel K, Rotman M, Galask R, Mac K, Soll DR. Evolution and replacement of *Candida albicans* strains during recurrent vaginitis demonstrated by DNA fingerprinting, *J Clin Microbiol* 1996;32:2646-54.
 13. Vargas K, Messer SA, Pfaller MA et al. Elevated phenotypic switching and drug resistance of *Candida albicans* from human immunodeficiency virus-positive individuals prior to first thrush episode, *J Clin Microbiol* 2000;38(10):4554-9.
PMid:11101595 PMCID:87636