

Hastalık Etkeni Mayalarda Patojenliğin Evrimi[§]

Özdem ANĞ

İstanbul Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Emekli Öğretim Üyesi

ÖZET

Günümüzde mikroplarda virulansın konak ile mikroorganizma arasındaki karşılıklı etkileşimin bir sonucu olduğu kabul edilmektedir, çünkü virulans, ilgili genlerin yalnızca duyarlı bir konakta belirtildiği bir özelliktir. Son yıllarda “yeni ortaya çıkan (yeni önem kazanan) “veya “yeniden ortaya çıkan (yeniden önem kazanan) “enfeksiyon hastalıklarına gittikçe artan sayıda rastlanmasında, ekolojik, teknik ve sayısal değişimlerden daha çok, belirli enfeksiyon etkenlerinde patojenliğin evriminin sorumlu olduğu düşünülmektedir.

Non-albicans türlerinin etken olduğu kandidiyaz olguları son yıllarda artmış olsa da, araştırmacıların çoğu tarafından fırsatçı patojen kabul edilen *Candida albicans*, günümüzde de en sık rastlanan patojen *Candida* türüdür. *Cryptococcus neoformans* ise birincil patojen bir mantar olarak üzerinde önemle durulmayı gerektirmektedir.

C. albicans'ın virulans faktörleri arasında adhezinler, proteolitik ve lipolitik enzimler ve fenotipik değişim yani, biyofilm oluşturma ve Hsp90 sayılabilir. Çeşitli enfeksiyonlardan ve kommensal yaşamdan izole edilen suşlarda genotipik farklılıklara rastlanmıştır. Patojen kandidaların, sıcakkanlı hayvanlarda, invaziv enfeksiyona bağlı olmaktan çok, kommensal yaşam koşullarında evrim geçirdikleri ileri sürülmüştür.

C. neoformans'ın virulans faktörleri olarak, kapsül, melanin, lakkaz, üreaz, fosfolipaz ve 37°C'de üreyebilme yeteneği, dev hücreler, hücre duvarı yapısında oluşan değişimler ve Hsp90 tanımlanmıştır. *C. neoformans*'ın çevrede aynı ortamda bulunduğu bakteriler, protozoonlar, nematodlar, böcekler ve bazı memeli hayvanlarda milyonlarca yıl öncesinden başlayan karşılıklı ilişkiler sırasında virulansının evrildiğini ve evrimin hâlen sürmekte olduğu gösterilmiştir.

Anahtar kelimeler: Mayalar, patojenite, evrim

SUMMARY

Evolution of the Pathogenicity in Virulent Yeasts

Today, it is well known that virulence is a result of the relationship between the host and the microorganism. Indeed, virulence is a characteristic encoded by genes expressed only in susceptible hosts. It is suggested that the reason of the increase in the frequency of emerging and re-emerging infections in recent years is mostly due the evolution of pathogenicity rather than ecological, technical and quantitative alterations.

Although the candidiasis cases caused by non-albicans species has increased in recent years, *Candida albicans*, generally recognized as an opportunistic pathogen by many researchers, is the major pathogenic *Candida* species today. *Cryptococcus neoformans* needs to be emphasized as a primary pathogen.

Adhesins, proteolytic- and lipolytic enzymes, phenotypic changes, biofilm formation and Hsp90 are to be taken into account as virulence factors of *C. albicans*. Genotypic differences are determined in strains isolated from clinical specimens and from commensal life. It has been suggested that pathogenic *Candida* strains have evolved in warm-blooded animals, during commensal life conditions unrelated to invasive infections.

Capsule, melanin, laccase, urease, phospholipase, growth ability at 37°C, titan cells, alterations in the cell wall and Hsp90 are to be taken into account as virulence factors of *C. neoformans*. It has been shown that *C. neoformans* have evolved by means of the relationship with certain protozoa, nematodes, arthropods and some mammals that live together in the same environment. The evolution has begun million years ago and is still going on.

Key words: Yeasts, pathogenicity, evolution

GİRİŞ

Yarım yüzyıl önce İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi'nde 6. yarıyılıda “genel mikrobiyoloji” derslerini dinlerken, patojenite = enfeksi-

yözite + virulans denklemi dikkatimi çekmişti. Bir mikroorganizmanın enfeksiyon hastalığı oluşturmaları için yukarıda değinilen eşitliğin ikinci tarafında yazılanlardan özellikle “virulans”ın çok önemli olduğunu öğrenmiştik.

Alındığı tarih: 27.10.2014

Kabul tarihi: 26.12.2014

Yazışma adresi: Özdem Anğ, İstanbul Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Emekli Öğretim Üyesi

[§] 1. Ulusal Tıbbi Mikoloji Kongresi'nde (24-26 Eylül 2014, Ankara) sunulmuştur.

Az enfeksiyöz olan bir mikrop çok virulan ise, ağır hastalık tablosu yapabiliyordu; bunun tersi ise, doğru değildi. Bugün ise, mikroplarda virulansın konak ile mikroorganizma arasındaki karşılıklı etkileşimin bir sonucu olduğu kabul ediliyor⁽¹⁾; çünkü virulans, ilgili genlerin yalnızca duyarlı bir konakta ifade edildiği bir özelliktir.

Son yıllarda “yeni ortaya çıkan (yeni önem kazanan)” veya “yeniden ortaya çıkan (yeniden önem kazanan)” enfeksiyon hastalıklarına gittikçe artan sayıda rastlanması dikkat çekmektedir. Acaba bu durum ne oranda ekolojik, teknik ve sayısal değişimlerden daha çok belirli enfeksiyon etkenlerinde patojenliğin evrimine, virulansın artmasına, virulans faktörlerinde değişimlere bağlıdır? Diğer taraftan hastalık etkeni mikroorganizmaların evrimlerinin anlaşılması, bu mikropların patojenliklerinin, antibiyotiklere dirençlerinin ve konak ilişkilerinin belirlenmesini sağlamaktadır. Özellikle bakterilerin bir çoğunun enfeksiyon hastalıkları oluşturma yeteneğini kazanmaları için uzun yıllar boyunca geçirdikleri evrim aşamaları, yapılan çalışmalar sonucunda belirlenmiştir. Örneğin, *Salmonella*’ların, *S. typhi*’nin evrim sonucunda patojenite kazanmaları... Yeni binyılın hemen öncesindeki ve sonrasında gittikçe artan sayıda yayınlar ile, mantarların virulansına, patojenliğine, patojenliğin evrimine ait çalışmaların sonuçları da duyurulmaktadır.

Bakteri ve virusların aksine, mantarlar, görelî yeni patojenlerdir ve 20. yüzyılda önemli hastalık etkenleri olarak saptanmışlardır. 1950’lerin yarısından sonra hep bildiğimiz nedenlerle, mantar hastalıklarının prevalansı gittikçe artmaya başlamış, dünyamızın ısınması arttıkça da bunun böyle devam edip gideceği bildirilmiştir⁽²⁾. Casadevall, günümüzde tıp mikolojisi laboratuvarlarından birçoğunun haklı olarak özellikle *C. albicans* üzerinde yoğunlaştığını, diğer taraftan dünyada yılda bir milyondan fazla kriptoz

kokkoz olgusu oluştuğunu ve bu hastalıktan ölenlerin sayısının yılda 600.000’i bulunduğunu belirtmiştir⁽²⁾. Gerçekten *C. neoformans* birincil patojen bir mantar olarak üzerinde önemle durulmayı gerektirmektedir. 1. Tıbbi Mikoloji Kongresi’nde “mayalarda patojenliğin artışı” üzerine bildiri sunmayı, yukarıdaki nedenlerden dolayı, uygun buldum.

CANDIDA ALBICANS’DA PATOJENLİĞİN EVRİMİ

Diğer bazı patojenler için olduğu gibi, kandidiyaz (kandidoz) hastalığı ve kandida enfeksiyonu eşanlamlı olarak kullanılmakta ve *Candida albicans* çoğu kez “fırsatçı (fırsatçı patojen)” olarak dikkate alınmaktadır. Oysa vajina kandidiyazı, vücut direnci, bağışıklık durumu tümüyle normal olan kadınlarda da görülebilmektedir⁽¹⁾. Non-albicans türlerinin etken olduğu kandidiyaz olguları son yıllarda artmış olsa da, *C. albicans*, günümüzde de en sık rastlanan patojen *Candida* türüdür.

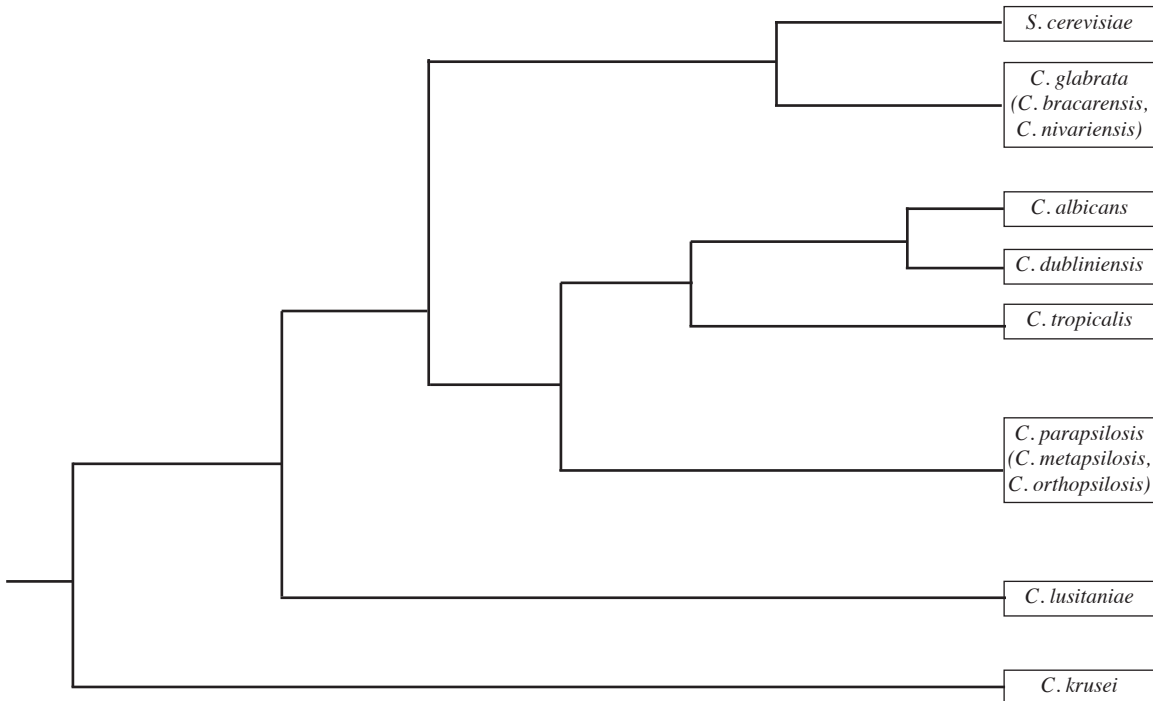
Candida genetiği çalışmaları ile patojenliğin evrimi hakkında bilgi edinilmiştir. Farklı coğrafya bölgelerinden, farklı vücut bölgelerindeki çeşitli hastalık tablolarından izole edilmiş suşlar ile yapılacak çalışmalar virulans genlerindeki evrimi ve moleküler epidemiyolojik özellikleri ortaya çıkaracaktır. Belirli bazı *C. albicans* gruplarının diğerlerine oranla, daha fazla virulan olduğunu gösteren çalışmalar vardır^(3,4). Bunlardan birisinde, Güney Afrika’da yerleşik AIDS hastası 1000’den fazla siyah orofarınjit olgusundan ve de sağlıklı siyah ve beyazlardan izole edilen *C. albicans* suşlarının genetik yapıları incelenmiş, çalışmaya I., II. ve III. genetik gruplardan *C. albicans* suşları da dâhil edilmiştir⁽³⁾. HIV(+) olan farinjitli hastaların suşları arasında genetik yapısı ile bir IV. gruptan olan *C. albicans* suşlarına yüksek oranda rastlanmıştır. Bu IV. grubun diğer üç genetik grubun bir atasından kaynaklandığı ileri sürülmüş, bu

gruba (clade) niğin başka ÷lkelerde rastlanmadığı henüz anlaşılamamıştır⁽³⁾. Enfeksiyon etkeni olarak izole edilmiş 260 *C. albicans* suşu ile Ankara'da çalışma yapan Karahan ve ark.⁽⁴⁾, 2012 yılındaki yayınlarında suşların %70.8'inin A, %16.2'sinin B ve %13'ünün C genetik grubundan olduğunu saptamışlar, sonuçlarının diğer ÷lkelerdeki çalışmaların sonuçları ile uyuruğunu belirlemişlerdir⁽⁴⁾.

Genetik değişmelere olumsuz, kötü çevre koşullarında daha sık rastlanır ve bu durum, fırsat patojenlerin evriminde önemli rol oynar. *C. albicans*'ın en yakın akrabası olan *C. dubliniensis* ise, uygun olmayan ortama onun kadar kolay uyum sağlayamaz. Ortak atadan ayrılan bu iki türden *C. albicans*, önemli genler kazanmış, diğer i se epeyce gen kaybına uğramıştır⁽⁵⁾. Özel teknikler kullanılarak, saprofit *Candida* türlerinde bulunmayıp da patojenlerde bulunan birçok gen ailesi saptanmıştır⁽⁵⁾. *C. dubliniensis*'de *Candida* virulansı için gerekli genlerin, örneğin, invazin kodlayan genlerin bulunmadığı bilinmektedir^(5,6). Bu iki türün genom sekansları

incelenerek, kandidalarda virulansın evrilmesi araştırılmıştır (şekil 1). Bilindiği gibi, *C. dubliniensis*, ilk kez HIV(+) hastaların ağız boşluklarından izole edilmiş, normal bireylerin ağzında varlığı saptanmamıştır (yerleşme yeteneği az ya da *C. albicans* tarafından baskılanmış), vulva ve vajina kandidiyazı olgularından da çok düşük oranda izole edilmiştir. Diğer taraftan Suudi Arabistan ve İsrail'de tüm suşları 5 flusitozin (FC) dirençli olan yeni bir *C. dubliniensis* grubu izole edilmiştir⁽⁶⁾; bilindiği gibi, bu direnç *C. albicans*'ın da yalnızca belirli bir grubunda saptanmıştır. *C. glabrata*, ABD'nde kan kültürlerinden izolasyon sıklığında nlerde yer almaktadır ve de azollere azalan duyarlığı ile dikkat çekmektedir⁽⁷⁾.

Günümüzde *Candida* türleri, sistemik enfeksiyon etkenleri arasında dördüncü sırada yer almaktadırlar ve bu türlerden *C. parapsilosis* ise, kandidemi olgularında sıklığı gittikçe artarak ne geçmiş bulunmaktadır⁽⁸⁾. Bu türün virulansı, plastik yüzeyle adhezyon yeteneği ile ilgilidir ve sağlıklı insanlarda ellerde yerleşen mayalar



şekil 1. Patojen *Candida* türleri arasındaki evrim ilişkileri.

arasında da ilk sıradadır⁽⁸⁾. *C. parapsilosis*, malign hemopatilerde fungemi etkeni olmaktadır⁽⁹⁾. Deriden izole edilen suşlarla kandan izole edilenlerin karşılaştırıldığı bir çalışmada, virulansa ve patojenliğe ilişkin dik-kat çeken bir özelliğe rastlanmamıştır⁽¹⁰⁾. Ancak, tüm deri suşlarında aspartil-proteaz enzimi saptanmış ve enzimin düzeyinin kandan üretilen suşlardakinden en az 4 kat fazla olduğu bulunmuştur (bu virulans farkı, sıçanlarda vajinit oluşturma deneylerinde de gözlenmiştir)⁽¹⁰⁾.

Hsp90 (Heat Shock Protein 90), birçok sinyal iletiliciler için şaperon olup, sessiz durumdaki genetik değişikliklerin açığa çıkmasına yol açar⁽¹¹⁾. Hsp90, 800 milyon yıllarca süren evrim sonucu birbirinden ayrılmış olan mantarlarda ilaç direncinin evrimini, mutasyonların sonuçlarını etkileyerek, sağlamıştır. Ayrıca, insanda seleksiyon (seçilim) sonucunda önceleri Hsp'ye bağımlı olan ilaç direnci bağımsızlığa evrilmiştir. *C. albicans*, 800 milyon yıl önce *S. cerevisiae*'den ayrılmış olan önemli bir insan patojenidir. *C. albicans*'ın flukonazole hızla direnç kazanmasında Hsp90'ın önemli rol oynadığı saptanmıştır⁽¹¹⁾. HIV(+) bir bireyde iki yıl boyunca izlenen *C. albicans* suşunun flukonazole dirençli hâle geldiği gözlenmiştir (burada da önce Hsp90 bağımlı, sonra bağımsız olmak üzere).

C. albicans insan patojenidir ve hem kommensal hem de patojen olarak önemli rol oynar. *C. albicans*'ın virulans faktörleri arasında konaktanıyıcı proteinler olan "adhezinler", proteolitik ve lipolitik enzimler, aspartil proteaz ve de fosfolipaz yapısında enzimler ve fenotipik değişim yani, maya hücreleri ile filaman şekilleri arasında geçişler vardır. Ayrıca "fenotipik değişim" sırasında antijen ve koloni şekli değişimleri ve doku alışkanlıkları ile ilgili değişimler olmaktadır (Tablo 1)⁽¹²⁾.

C. albicans, insan florasının en önemli bir üyesi

Tablo 1. *Candida albicans*'ın virulans faktörleri.

-
- Konağın tanınması ve hücrelerine bağlanma
 - Adhezin
 - İnvazyon
 - Salgılanan aspartil proteinazlar (SAP)
 - Fosfolipazlar (PL)
 - Fenotipik kayma (switching)
 - Beyaz-opak değişimi
 - Biyofilm oluşturma
 - Hsp 90
-

olan *E. coli*'nin aksine, tüm vücut bölgelerinde kommensal olarak sürekli bulunabilmekte ve belirli koşullarda hastalık etkeni olabilmektedir. Oysa, *E. coli*, *C. albicans*'ın aksine, ağız boşluğunda ve vajina mukozasında ender olarak yerleşir. *C. albicans*'ın bağışıklık durumu normal, dirençli kadınlarda da vajina mukozasında hastalık oluşturabildiği bilinmektedir⁽¹²⁾. Belirli genleri *C. albicans*'a hem kommensal hem de patojen özellik kazandırabilir. Mantar, bu amaçla pH'sı nötr olan kanda ve de pH'sı asit olan vajinada, özgül genleri vasıtasıyla, uyum sağlama yeteneğinden yararlanır. *C. albicans*'ın virulans faktörlerinin tanımlanması zordur ve bunların bu mantarın patojenliği ile mi yoksa kommensallik durumu ile mi ilgili oldukları kesin bilinmemektedir⁽¹²⁾. Yukarıda değinildiği gibi, bilinen virulans faktörleri arasında adhezinler, yıkıcı enzimler (proteolitik, lipolitik), fosfolipazlar ve aspartil proteazlar önemlidir; ilgili genlerin kaybına bağlı olarak virulansın azaldığı saptanmıştır.

Fenotipik değişim olayı, geriye dönebilen özelliktedir ve en çok incelenmiş olan beyaz-opak değişimidir (bu durumda beyaz koloni, düz gri bir koloniyeye dönüşür, opaklaşır). Vajinit etkeni *C. albicans* suşlarında ve sistemik enfeksiyon etkeni suşlarda bu olaya daha sık rastlanmaktadır⁽¹²⁾.

Fırsatçı mantar enfeksiyonlarının en sık rastlanan etkenlerinden olan *Candida* türlerinden patojen olan ve olmayan mayaların genom dizilerinin incelendiği kapsamlı bir çalışmanın sonuçlarına göre (Araştırmanın sonuçları-

nın yer aldığı makalede, çalışmayı gerçekleştiren 51 araştırmacının isimleri yer almıştır), patojen türlerde hücre duvarlarının anlamlı olarak genişlemiş olduğu, belirli genlerin bulunduğu anlaşılmıştır ve bu durum, virulans ile ilişkili uyumları (adaptasyon) akla getirmektedir⁽¹³⁾.

Çevrede olduğu gibi insandaki enfeksiyonların çoğunda da oluşturdukları biyofilmlerde yerleşik mikroorganizmalar sorumludur. *C. albicans*, biyofilm oluşturabilen patojen mantarların başında gelmektedir. Biyofilmi çevreleyen hücre-dişi matriks, antifungallere dayanıklılığın (tolerans) nemli nedenlerindedir⁽¹⁴⁾. Araştırmacılar mantar biyofilmlerinin özelliklerini tam olarak saptayabilmiş değillerdir. Bu nedenle etkili kemoterapötikler geliştirebilmek amacıyla ileri araştırmalar yapılması gerekmektedir.

Katetere bağlı kandidemi olgularından izole edilen *C. albicans* suşlarında özel bir evrim şekli olan “ mikroevolsyon” gözlenmiştir⁽¹⁵⁾. Üç yıl boyunca aynı hastanede 15 hastadan izole edilen 61 suş (29 kandan, 18 kateterden, 10 idrardan ve 4 de diğer vücut bölgelerinden) incelenmiştir. Beş hastada kateterden izole edilen suşlar ile kandan izole edilenler arasında çok ufak değişikliklerin bulunduğu saptanmıştır (mikroevolsyon). Bulgular, katetere bağlı kandidemi olgularında *C. albicans* suşlarının bazılarında kateterde kolonizasyon sırasında mikroevolsyon geliştiğini kanıtlamıştır⁽¹⁵⁾.

Başlangıçta belirtildiği gibi, genellikle kommensal bir maya olan *C. albicans*, bağışıklılığı normal olan insanlarda yüzeyel epitelde, bağışıklılığı kırılmış olanlarda ise ağır invaziv enfeksiyon etkeni olabilmektedir. Bulgulara göre, mikroevolsyon oluşması yalnızca kolonizasyon veya enfeksiyonun devam süresine değil aynı zamanda suşun genetik stabilitesine bağlıdır⁽¹⁵⁾. Bunu destekleyen bir bulgu olarak; mikroevolsyona, sıklıkla, kateter suşlarında rastlanmış fakat kan-

dan ilk izolasyonu izleyerek kan, idrar ve BOS’dan ardı ardına üretilen suşların hiçbirinde rastlanmamıştır.

İnsanda, hastalık etkeni oldukları bilinen *C. albicans* dışında kalan başlıca *Candida* türleri; *C. dubliniensis*, *C. glabrata*, *C. krusei*, *C. lusitaniae*, *C. parapsilosis* ve *C. tropicalis*’tir. Sonuç olarak, yalnızca *C. albicans* ve *C. tropicalis*, normal, sağlıklı deney hayvanlarında enfeksiyon oluşturmakta, diğer beş tür ise ancak bağışıklılığı baskılanmış deney hayvanlarında hastalık etkeni olabilmektedirler⁽¹⁶⁾. 1. Tıbbi Mikoloji Simpozyumu’ndaki bir bildiri de aktarılan İzmir’de 2154 klinik örneğin mikolojik inceleme sonuçları da bu türlerin varlığına işaret etmiştir⁽¹⁷⁾.

Bakterilerin aksine *Candida*’larda yatay gen transferi enderdir, ama olanaksız da değildir⁽¹⁶⁾. Kommensal *Candida* türlerinde eşeylilik kaybı önemli ortak özelliktir ve bunun evrimde neden üstünlük sağladığı bilinmemektedir. Kommensal türler arasında daha virulan suşlara rastlanabilmektedir. Çeşitli enfeksiyonlardan ve kommensal yaşamdan izole edilen suşlarda genotipik farklara rastlanmıştır⁽¹⁶⁾. Mayalarda virulansın evriminde, patojen kandidaların, sıcak kanlı hayvanlarda, invaziv enfeksiyon oluşturdukları koşullardan daha çok, ortak yaşam koşullarında evrim geçirdikleri ileri srlmştir⁽¹⁶⁾.

Romani ve ark⁽¹⁸⁾, *C. albicans*’ın virulansının mantar hücreleri ile dendritik hücrelerin etkileşiminin bir sonucu olduğunu bildirmişler, enfeksiyonun sonucunun hastalık mı yoksa kommensallik mi olacağını belirleyenin, karşılıklı etkileşim sonunda oluşan sitokin gibi konak ürünleri olduğunu belirtmişlerdir.

Diğer taraftan, *Candida*’larda virulans faktörlerinin saptanmasında, 2008 Türk Mikrobiyoloji Kongresi’ndeki konuşmasında Saraçlı⁽¹⁹⁾’nın belirttiği gibi, genomik yaklaşım esastır. Aynı

zamanda üzerinde durularak belirtilmesi gereken nokta, kandidaların ve etken oldukları hastalıkların insan sağlığı için çok önemli olduğudur. Bilinmeyenlerle dolu bu alanda çalışmalar ve bilimsel toplantılar tüm dünyada olduğu gibi yurdumuzda da yapılmıştır⁽²⁰⁾ ve yapılmaya devam edecektir.

CRYPTOCOCCUS NEOFORMANS'DA PATOJENLİĞİN EVRİMİ

Cryptococcus neoformans, çevremizde yaygın olup (toprak mantarı), çok çeşitli konaklarda enfeksiyon etkeni olabilir. İlk kez 19. yüzyıl sonunda şeftali suyundan ve hastalardan izole edilmiştir⁽²¹⁾. Kapsül antijenine göre A, B, C, D ve çeşitli sebzelerde, odunda bulunan AD serotipleri vardır. Mantarın, aralarında epidemiyolojik farklar bulunan 3 varietesi bulunmaktadır⁽²²⁾: *grubii* (A) *gattii* (B, C) ve *neoformans* (D).

C. neoformans'ın virulans faktörleri olarak tanımlanmış olanlar şunlardır (Tablo 2): Kapsül (polisakkarit yapıda), melanin (yapımı, lakkaz (fenol oksidaz) enzimine bağımlı), üreaz, fosfolipaz enzimleri ve 37°C'de ve az alkalin ortamda üreyebilme yetenekleri⁽²¹⁾. Kapsül oluşturmayan *C. neoformans* suşları, duyarlı deney hayvanı olan fındık faresi için avirulandır. Melanin, hücre duvarında biriken boyalı vücut maddesidir. Antifungal ilaçları bağlayarak virulansta etkili olduğu bilinmektedir ve melaninli hücrelerin fagositoza, ultraviyole ışınına, ağır metaller ve ısı değişimlerine daha dirençli olduğu saptanmıştır⁽²³⁾. Üreaz yapmayan *C. neoformans* suşlarının fındık faresi için az virulan olduğu,

Tablo 2. *Cryptococcus neoformans*'ın virulans faktörleri.

- Kapsül
- Melanin-lakkaz
- Üreaz
- Fosfolipaz
- 37°C'de üreyebilme yeteneği
- Az alkalin ortamda üreyebilme yeteneği
- Hsp90
- Dev hücreler
- Hücre duvarının yapısında oluşan değişiklikler

fosfolipazın da hücre içi üremede etkili olduğu kanıtlanmıştır⁽²¹⁾.

C. neoformans'ın çevrede aynı ortamda bulunduğu bakteriler, protozoonlar, helmintler, böcekler ve küçük hayvanlar gibi çeşitli canlıları enfekte ettiğinde, uzun zaman sürecindeki, karşılıklı ilişkileri sırasında virulansının arttığı anlaşılmaktadır⁽²⁴⁾. Örneğin, *C. neoformans*, amipler ile su ve toprakta birlikte yaşar. Bu amiplerin *C. neoformans*'ı da fagosite edebildikleri bilinmektedir ve ilk kez Castellani, 1955'de kontamine *C. neoformans* kültüründen içinde fagosite edilmiş *C. neoformans* bulunan amip izole ettiğini bildirmiş, 1970'lerde *Acanthamoeba polyphaga*'nın *C. neoformans*'ı fagosite ettiği bulunmuştur^(24,25). *A. polyphaga*'nın fagosite ettiği *C. neoformans* suşu melanin yapan bir suş ise, ölümden kurtulur. *C. neoformans*'ın amiplerle (Tablo 3) bu ilişkisi sayesinde insanlardaki patojenliğini sağladığı kabul edilmektedir⁽²⁴⁾. Bir başka deyimle, dirençli *C. neoformans* suşları amiplerde evrilmiştir. Diğer taraftan, toprakta serbest erişkinleri yaşayan bazı nematodlar (Tablo 3) ile ilişkisinin de *C. neoformans* virulansı için önemli olduğu saptanmıştır^(24,26). 2002 yılında Mylonakis, *Caenorhabditis elegans*'ın bazı saprofit *C. neoformans* türlerini ve *E. coli*'yi besin maddesi olarak kullandığını bulmuştur. Besin kaynağı olarak kullanılan *C. neoformans*'ın bu nematodun barsaklarında kümelendiği ve sonunda konağın öldüğü gözlenmiş, burada *C. neoformans*'ın virulansı için kapsül ve lakkaz enziminin gerekli olduğu anlaşılarak *C. neoformans*'ın virulansında rol oynayan bazı genler tanımlanmıştır⁽²⁴⁾. Böylece,

Tablo 3. *C. neoformans*'ın virulansının evriminde rol oynayan ve mutualist ilişki içinde olduğu amipler, nematodlar, böcekler ve memeliler.

- *Acanthamoeba castellani*
- *Acanthamoeba polyphaga*
- *Caenorhabditis elegans*
- *Drosophila melanogaster*
- *Galleria mellonella*
- Memelilerin fagositoz yapan hücreleri
- Fındık faresi (pasajlar)

bu nematod (*C. elegans*) ile yapılan deneysel araştırmalar, *C. neoformans*'a ait yeni virulans genlerinin bulunmasında yararlı olmuştur⁽²⁶⁾.

Adı geçen amipler ve nematod dışında, çeşitli bekler (Tablo 3) de doğada yaygın olan *C. neoformans* ve diğer mikroorganizmaları yiyerek beslenirler. Bu beklerden konumuz ile ilgili en iyi model, *Drosophila melanogaster*'dir. *C. neoformans* yiyen sineğin öldüğü, yenen saprofit kriptokokların ve *S. cerevisiae*'nin ise etkisiz oldukları gözlenmiştir⁽²⁴⁾. *C. neoformans*'daki sinek için geçerli virulans genlerinin insan için geçerli bazı virulans genleri ile aynı olduğu saptanmıştır. *Galleria mellonella*, *C. neoformans*'ın etkili, virulan olduğu ve mantarın hemosel içine şıngası sonucunda ölen bir başka bektir⁽²⁴⁾. *C. neoformans*, memelilerin fagositoz yapan hücreleriyle de karşılıklı ilişki içindedir (Tablo 3); makrofajların, nötrofillerin ve dendritik hücrelerin içinde çoğalabilir.

Tüm yukarıda bildirilen konaklarda ve çevrede gerçekleşen pasajlar sırasında *C. neoformans* virulansı artmaktadır. Çevremizde, doğadaki bu karşılıklı ilişkiler sonucunda *C. neoformans*'ın yeni konaklara adapte olduğu ve böylece seçilen direnliler sayesinde virulansının da arttığı deneysel olarak da kanıtlanmış bulunmaktadır. Örneğin, fındık faresi pasajları ile (Tablo 3) *C. neoformans*'ın antifungal duyarlılığı azalmakta ve virulans artmaktadır; aynı durum, "smooth-mukoid" değişiminde de gerçekleşmektedir⁽²⁴⁾.

C. neoformans'ın virulansı, değişik evre koşullarındaki konaklar ile karşılıklı ilişkinin bir sonucudur ve diğer konaklarda canlı kalma ve replikasyon desteklenmektedir. Milyonlarca yıl boyunca karşılıklı ilişkiler evrim geçirdikçe, virulans faktörleri oluşmuştur⁽²⁷⁾. *C. neoformans* evriminde, dirençli suşlar, doğada seçilmişler ve daha virulan olan suşların sayısı artmıştır ve bu evrim hâlen sürmektedir.

Çevrede, doğada *C. neoformans*'ın canlı kalmasını sağlayan kapsül ve melanin her ikisi de konak vücudunda, mantarın yararlanabileceği birden fazla işleve sahip virulans faktörleri olarak rol oynarlar⁽²⁷⁾.

Son yılların egemen patojenleri, olasılıkla, ilk insanlar arasında önemli rol oynamamışlardır ve insan toplulukları yeterince kalabalık olmadıklarından dolayı (konaktan konağa bulaşma için önemli), duyarlı canlılar ölünce patojenin de içi güçleşir. İnsan etkinlikleri doğal çevreleri değiştirmekte ve böylece evrim için yeni fırsatlar yaratarak mantar hastalıklarının çoğalmasını, yayılmasını kolaylaştırmaktadır⁽²⁸⁾. Bu etkinliklere bağlı olarak yakın zamanlarda, özellikle hayvanlar ve bitkilerde (besin güvenliği!), mantarların etkin olduğu önem kazanan enfeksiyon hastalıkları ortaya çıkmıştır.

Mantarların etken olduğu enfeksiyonların etkin tedavisi için üzerinde önemle durulması gereken Aşil topuğunun (Achilles' heal) Hsp90 olduğu (Tablo 2) ileri sürülerek Hsp90 olarak anılan moleküler şaperonu hedefleyen ve böylece onu etkisiz kılacak kimyasallar (kansere karşı da denenmekte olan Hsp90 inhibitörleri) sayesinde antifungallere direnç gelişiminin evrilmesinin engellenebileceği belirtilmiştir⁽²⁹⁾.

Cryptococcus neoformans, yaşadığı konak için çeşitli adaptasyon mekanizmaları geliştirmektedir. Eskiden beri bilinen ve yukarıda değindiğimiz mekanizmalar dışında, *C. neoformans*'ın bir Şekil değişikliği de oluşturabildiği son yıllarda, saptanmış bulunmaktadır ve mantar, hücre büyüklüğünü arttırma yeteneği kazanmış ve enfeksiyon sırasında 15 μ m'den daha büyük dev (titan) hücreler ortaya çıkmıştır⁽³⁰⁾ (Tablo 2). Bu dev hücreler, konak savunmasına direnmekte ve merkez sinir sistemine kolayca yayılmaktadırlar. Ayrıca, latent durumda varlıklarını sürdürmeleri de normal hücrelere kıyasla daha kolaydır. Diğer taraftan, mantarın dev hücrelerinin, normal

boyuttaki mantar hücrelerinin vücutta, özellikle MSS'inde yayılmalarını, bilinmeyen bir mekanizmayla, kolaylaştırdığı ileri sürülmüştür⁽³⁰⁾.

Patojen mantarların şekil değiştirmelerine yabancı değiliz (*H. capsulatum* ve *B. dermatitidis* gibi dimorf mantarlar, doğada filaman canlıda maya şeklinde bulunurlar ve hif ve de yalancı (psödo) hif oluştururlar. *C. neoformans*, enfeksiyon yerinde hif yapmaz; ender olarak, psödohif oluşturur ve bu durumda, *C. albicans*'dakinin aksine, virulansın azaldığı saptanmıştır⁽¹⁰⁾. Diğer taraftan, *C. neoformans*'ın kapsül şeklini ve büyüklüğünü değiştirebildiği, böylece konağa karşı direncini arttırılabildiği eskiden beri bilinmekteydi.

Yaşlanmanın tek hücrelilerden insana dek tüm canlıları çeşitli yönlerden etkilediği gerçeğini hepimiz biliyoruz. Ökaryot patojenler olan mayalar da yaşlanmanın etkilerinden kaçınmazlar. Patojen mantarların konaktaki yaşamlarında replikatif ve kronolojik yaşlanma olmak üzere iki çeşit yaşlanma söz konusudur. Bu alanda, özellikle *S. cerevisiae* ile yapılan çalışmalar sırasında kronolojik yaşlanmanın enfeksiyonda virulans üzerine etkisi de araştırılmıştır. Yaşlanan mantarda oluşan fenotipik değişmelerin, bazı durumlarda patojen için yarar sağlayabileceği yönünde yayınlar vardır⁽³¹⁾.

Devleşme (gigantizm), invivo olduğu gibi kültürlerde de saptanmıştır ve dev hücrelere, özellikle, eski kültürlerde rastlanması, bu hücrelerin oluşmasının yaşlanmaya bağlı bir olay olduğuna işaret etmektedir^(31,32). Dev hücrelerin, mantarın konakta devamlı kalmasına (persistans) ve sonuçta latent yaşama ve hastalığın nükslerine (yinelemelerine) yol açabileceği bildirilmiştir⁽³¹⁾.

C. neoformans'ın hücre morfolojisi, konak hücre ile olan karşılıklı ilişkilerinde ve patojenitede etkili olur. DNA incelemeleri ile bu yeni tip

büyümüş hücrelerin birden fazla kromozom içeren tek nükleusa sahip olup invivo yaşamda yavru hücreler oluşturdukları gözlenmiştir⁽³²⁾. Bu morfolojik değişiklikler sayesinde, *C. neoformans* yeni bir enfeksiyonun başlangıç aşamasında fagositozdan korunmaktadır⁽³²⁾.

Konak olan bir memelinin vücuduna giren *C. neoformans* gibi bir mantar, besleyici kısıtlanması, pH değişimleri, oksijen düzeyleri, antifungaller vb. gibi konakta farklı mikroçevre koşulları ile karşı karşıya kalabilir. Mantar, adı geçen mikroçevrelerdeki değişik koşullara uyum sağlayabilmek için, önemli bir savunma organelindeki değişimlerden yararlanır⁽³³⁾ ve bu organel hücre duvarıdır (Tablo 2). Hücre duvarının yapısındaki ve bileşimindeki değişimler, mantar için önemli bir adaptasyon mekanizmasıdır ve bu şekilde mantar kendini konağa karşı korur⁽³³⁾.

KAYNAKLAR

1. Casadevall A, Pirofski LA. Microbial virulence results from the interaction between host and microorganism. *Trends Microbiol* 2003; 11:157-8 .
[http://dx.doi.org/10.1016/S0966-842X\(03\)00008-8](http://dx.doi.org/10.1016/S0966-842X(03)00008-8)
2. Casadevall A. Progress in understanding fungal pathogenesis. *Curr Opin Microbiol* 2013; 16:375-6.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.mib.2013.07.016>
3. Blignaut E, Pujol C, Lockhart S, Joly S, Soll DR. Ca3 fingerprinting of *Candida albicans* isolates from human immunodeficiency virus-positive and healthy individuals results a new clade in South Africa. *J Clin Microbiol* 2002; 40:826-36 .
<http://dx.doi.org/10.1128/JCM.40.3.826-836.2002>
4. Karahan ZC, Saran B, Yenice S, Ağırbaşı H, Arıkan Akan Ö, Tekeli A. *Candida albicans* suşlarının genotiplendirilmesinde 25S intron analizini takiben restriksiyon enzim analizi uygulanması. *Mikrobiyol Bul* 2012; 46:257-65.
5. McManus BA, Coleman DC. Molecular epidemiology, phylogeny and evolution of *Candida albicans*. *Infect Genet Evol* 2014; 21:166-78.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.meegid.2013.11.008>
6. Sullivan DJ, Moran GP, Coleman DC. *Candida dubliniensis*: ten years on. *FEMS Microbiol Lett* 2005; 253:9-17.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.femsle.2005.09.015>
7. Dodgson AR, Pujol C, Pfaller MA, Denning DW, Soll DR. Evidence for recombination in *Candida glabrata*. *Fungal Genet Biol* 2005; 42:233-43.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.fgb.2004.11.010>
8. Bonassoli LA, Bertoli M, Svidzinski TI. High frequency of *Candida parapsilosis* on the hands of healthy

- hosts. *J Hosp Infect* 2005; 9:159-62 .
<http://dx.doi.org/10.1016/j.jhin.2004.06.033>
9. **Girmenia C, Martino P, De Bernardis F, et al.** Rising incidence of *Candida parapsilosis* fungemia in patients with haematologic malignancies: clinical aspects, predisposing factors and differential pathogenicity of the causative strains. *Clin Infect Dis* 1996; 23:506-14.
<http://dx.doi.org/10.1093/clinids/23.3.506>
 10. **De Bernardis F, Mondello F, Millán RS, Pontón J, Cassone A.** Biotyping and virulence properties of skin isolates of *Candida parapsilosis*. *J Clin Microbiol* 1999; 37:3481-6.
 11. **Cowen LE, Lindquist S.** Hsp90 potentiates the rapid evolution of new traits: drug resistance in diverse fungi. *Science* 2005; 309:2185-9 .
<http://dx.doi.org/10.1126/science.1118370>
 12. **Calderone RA, Fonzi WA.** Virulence factors of *Candida albicans*. *Trends Microbiol* 2001; 9:327-35.
[http://dx.doi.org/10.1016/S0966-842X\(01\)02094-7](http://dx.doi.org/10.1016/S0966-842X(01)02094-7)
 13. **Butler G, Rasmussen MD, Lin MF, et al.** Evolution of pathogenicity and sexual reproduction in eight *Candida* genomes. *Nature* 2009; 459:657-62.
<http://dx.doi.org/10.1038/nature08064>
 14. **Bonhomme J, d'Enfert C.** *Candida albicans* biofilms: building a heterogeneous, drug-tolerant environment. *Curr Opin Microbiol* 2013; 16:398-403 .
<http://dx.doi.org/10.1016/j.mib.2013.03.007>
 15. **Shin JH, Park MR, Song JW, et al.** Microevolution of *Candida albicans* strains during catheter-related candidemia. *J Clin Microbiol* 2004; 42:4025-31.
<http://dx.doi.org/10.1128/JCM.42.9.4025-4031.2004>
 16. **Odds FC.** Evolution of pathogenic *Candida* species. In: Baquero F, Nombela C, Cassel GH, Gutierrez-Fuentes JA, eds. Evolutionary biology of bacterial and fungal pathogens. Washington DC: ASM Press, 2008.
<http://dx.doi.org/10.1128/9781555815639.ch47>
 17. **Güngör S, Baran N, Karaayak-Uzun B, Özdemir R, Peker BO.** İzmir Katip Çelebi Üniversitesi Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastanesi'nde 2012 yılında çeşitli klinik örneklerden izole edilen *Candida* türleri. 1. Ulusal Tıbbi Mikoloji Simpozyumu (Geleneksel ve Yeni Tanı Yöntemleri) Simpozyum kitabında, 2013: Poster No:12.
 18. **Romani L, Bistoni F, Puccetti P.** Fungi, dendritic cells and receptors: a host perspective of fungal virulence. *Trends Microbiol* 2002; 11:508-14.
[http://dx.doi.org/10.1016/S0966-842X\(02\)02460-5](http://dx.doi.org/10.1016/S0966-842X(02)02460-5)
 19. **Saraçlı MA.** Klinik önemi olan mayalarda virulansa genomik yaklaşım. XXXIII. Türk Mikrobiyoloji Kongresi Kongre Kitabı'nda, 2008.
 20. **Tümbay E, Seeliger HPR, Anđ Ö, eds.** *Candida* and *Candidamycoses*. New York: Plenum Press, 1991.
<http://dx.doi.org/10.1007/978-1-4684-5910-4>
 21. **Barnett JA.** A history of research on yeasts 14: medical yeasts part 2, *Cryptococcus neoformans*. *Yeast* 2010; 27:875-904.
<http://dx.doi.org/10.1002/yea.1786>
 22. **Kwon-Chung KJ, Bennett JE.** Epidemiologic differences between the two varieties of *Cryptococcus neoformans*. *Am J Epidemiol* 1984; 120:123-30
 23. **Ikeda R, Sugita T, Jacobson ES, Shinoda T.** Effects of melanin upon susceptibility of *Cryptococcus* to antifungals. *Microbiol Immunol* 2003; 47:271-7 .
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1348-0421.2003.tb03395.x>
 24. **Zaragoza O, Frases S, Casadevall A.** Pathogenicity of *Cryptococcus neoformans*: an evolutionary perspective. In: Baquero F, Nombela C, Cassel GH, Gutierrez-Fuentes JA, eds. Evolutionary biology of bacterial and fungal pathogens. Washington DC: ASM Press, 2008.
<http://dx.doi.org/10.1128/9781555815639.ch48>
 25. **Steenbergen JN, Shuman HA, Casadevall A.** *Cryptococcus neoformans* interactions with amoebae suggest an explanation for its virulence and intracellular pathogenic strategy in macrophages. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2001; 98:15245-50.
<http://dx.doi.org/10.1073/pnas.261418798>
 26. **Mylonakis E, Ausubel FM, Perfect JR, Heitman J, Calderwood SB.** Killing of *Caenorhabditis elegans* by *Cryptococcus neoformans* as a model of yeast pathogenesis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2002; 99:15675-80.
<http://dx.doi.org/10.1073/pnas.232568599>
 27. **Casadevall A, Steenbergen JN, Nosanchuk JD.** 'Ready made' virulence and 'dual use' virulence factors in pathogenic environmental fungi - the *Cryptococcus neoformans* paradigm. *Curr Opin Microbiol* 2003; 6:332-7.
[http://dx.doi.org/10.1016/S1369-5274\(03\)00082-1](http://dx.doi.org/10.1016/S1369-5274(03)00082-1)
 28. **Fisher MC, Henk DA, Briggs CJ, et al.** Emerging fungal threats to animal, plant and ecosystem health. *Nature* 2012; 484:186-94.
<http://dx.doi.org/10.1038/nature10947>
 29. **Cowen LE.** The fungal Achilles' heel: targeting Hsp90 to cripple fungal pathogens. *Curr Opin Microbiol* 2013; 16:377-84.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.mib.2013.03.005>
 30. **Zaragoza O, Nielsen K.** Titan cells in *Cryptococcus neoformans*: cells with giant impact. *Curr Opin Microbiol* 2013; 16:409-13.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.mib.2013.03.006>
 31. **Bouklas T, Fries BC.** *Cryptococcus neoformans* constitutes an ideal model organism to unravel the contribution of cellular aging to the virulence of chronic infections. *Curr Opin Microbiol* 2013; 16:391-7.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.mib.2013.03.011>
 32. **Zaragoza O, Garcia-Rodas R, Nosanchuk JD, Cuenca-Estrella M, Rodriguez-Tudela JL, Casadevall A.** Fungal cell gigantism during mammalian infection. *PLoS Pathog* 2010; 6:e1000945.
<http://dx.doi.org/10.1371/journal.ppat.1000945>
 33. **Shepardson KM, Cramer RA.** Fungal cell wall dynamics and infection site microenvironments: signal integration and infection outcome. *Curr Opin Microbiol* 2013; 16:385-90.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.mib.2013.03.003>