

## ***Aspergillus fumigatus* 'un Virulans Faktörleri**

**Özlem Abacı<sup>1</sup>, Alev Haliki Uztan<sup>1</sup>**

### **Özet**

Yapılan araştırmalar sonucunda son yıllarda *Aspergillus* türlerine bağlı gelişen fırsatçı infeksiyonlarda önemli bir artış meydana geldiği görülmektedir. Farklı *Aspergillus* türleri ve strainlerinin konak immun sistemine karşı koyabilme yeteneği yine birçok faktöre bağlı olduğundan; bu makalede adhezyon (mukoza epitel hücrelerine yapışma), pigmentler, enzimler ve toksik moleküller gibi *Aspergillus fumigatus* 'un virulans faktörleri açıklanacaktır.

### **Giriş**

*Aspergillus* genusu içerisinde 180'den fazla tür bulunmaktadır. Bu türler arasında insanlarda en sık hastalığa yol açan türler *A. fumigatus*, *A. niger*, *A. flavus* ve *A. terreus* olarak bilinmektedir. Tüm olguların % 90'ından da *A. fumigatus* sorumlu olması nedeniyle (1) öncelikle *A. fumigatus* 'un virulans faktörleri tartışılacaktır.

*A. fumigatus* sporları çok küçük olduğundan (ortalama 2- 3 µm çapında), uzun süre havada asılı kalabilir ve solunduğunda alveollere kolaylıkla ulaşabilmektedir. Gerçekte solunan sporların olumsuz etkileri immun sistem tarafından bertaraf edilebilmektedir (2). Ancak son 10-20 yılda immun baskılı tedavilerin uygulanmasındaki artış ve immun sistemi baskılanan hastaların sayısının artması, *A. fumigatus* nedeniyle oluşan fungal infeksiyonların sayısında da büyük bir yükselmeye neden olmuştur. *A. fumigatus* en yaygın hava kaynaklı fungal patojen olarak immun yetmez konaklarda güçlü, genellikle ölümcül invaziv infeksiyonların nedenidir (3, 4). 20 g ağırlığında immun yeterli bir fare  $10^6$  *A. fumigatus* sporları solursa hayatta kalabilmesine rağmen, 20 kg ağırlığında kemik iliği nakli geçirmiş bir insan  $10^2$  *A. fumigatus* sporu soluduğu zaman yüksek invaziv aspergillozis (IA) riski altında olduğu bildirilmektedir (5). Yapılan birçok çalışmada da, klinik suşların, çevreden izole edilen suşlara göre elastaz aktivitesi farklılıkları nedeniyle daha virulan olduğu gösterilmiştir. Bu da bize, patojenitenin sadece konağın bağışıklık durumuna bağlı olmadığını göstermektedir (3, 6).

*A. fumigatus* türlerinde virulans faktörlerinin çalışılması infeksiyonların erken tanısında virulans faktörlerinin kullanılması ve virulans faktörlerinden hastalığa karşı geliştirilecek ilaçlar için hedef olarak yararlanılabilmesi amacıyla iki yönden önem taşımaktadır (7).

---

<sup>1</sup> Ege Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Temel ve Endüstriyel Mikrobiyoloji AbD, Bornova-İzmir. Yazışmalardan sorumlu yazarın e-posta adresi: [ozlemabaci@yahoo.com](mailto:ozlemabaci@yahoo.com)

## Fungusa Ait Faktörler

*Aspergillus* 'lar konak vücuduna girdiğinde solunan fungal elemanlara karşı alerjik yanıt oluşabilir, vücut içindeki hava boşluklarında kolonizasyon meydana gelebilir veya dokuya invaze olabilmektedirler (3). Konak dokusuna girebilmesi sırasıyla çeşitli aşamaları gerçekleştirmelidir. Öncelikle insan solunum epiteline yapışabilmeli ve penetre olabilmelidir. Daha sonra konak savunmasında rol oynayan ve etrafını çevreleyen fagositik hücreleri öldürebilmeli ve konak dokusundaki koşullara uyum sağlayarak gelişebilmelidir. Bu aşamaların her birini başarıyla tamamlayabilmesi için *A. fumigatus* birden fazla virulans faktörüne gerek duymaktadır (6).

### Adhezyon (Yapışma)

Fungusun, konukçuda epitel yüzeylere yapışması kolonizasyonun başlangıcında ilk ve en önemli bir adımdır (8, 9). Sporlar; özellikle fibrinojen, laminin, komplement proteinleri, fibronektin, albumin, immunglobulinler, kollojen ve surfaktant proteinler gibi kanda dolaşan veya konak membranı ile ilgili olan konak proteinlerine bağlanır. Bu bağlanma *A. fumigatus* sporlarının en dış tabakasının hidrofobik proteinlerden (hidrofobinler) oluşması ile ilgilidir. Bağlanma spesifik olmayan fizyokimyasal etkileşim ve/veya spesifik reseptör-ligand ilişkisi ile gerçekleşir (6).

*A. fumigatus* 'un sporlarının en dış tabakasında bulunan ve hidrofobik özelliği veren rodlet fasikülleri karakteristik özelliğidir. RodA'yı kodlayan gen çıkarılarak rodlet'siz mutantlar oluşturulduğunda; bu mutantların sporlarının hidrofilik olduğu, keza albumin ya da kollogen gibi hidrofobik proteinlere bağlanma eğiliminin de az olduğu, ancak aynı mutantlarda laminin ve fibrinojen gibi diğer proteinlere bağlanma eğiliminin değişmediği gözlenmiştir. IA hayvan modellerinde mortalitesi bakımından rodletli ve rodlet'siz suşlar karşılaştırıldığında *rodA* mutantlarında tetikleyici yanıtın daha düşük olduğu saptanmıştır. Elde edilen bu sonuca göre RodAp'nın, fungus ve konak arasındaki hidrofobik ilişkide rol oynadığı ancak bu ilişkinin fungusun virulansında etken asıl faktör olmadığı belirtilmiştir. *A. fumigatus*'un çimlenen sporları ve miselyumu tarafından üretilen diğer bazı hidrofobik proteinlerin varlığı belirlenmişse de yapısı ve rolleri tam olarak ortaya konmamıştır.

Sporların yüzeyindeki karbonhidrat ve protein moleküllerinin de konak proteinlere spesifik bağlanmada rol aldığı bilinmektedir. Fibrinojen, laminin, fibronektin ve komplement proteinlere bağlanma, sporun iç ve dış tabakaları ile ilgilidir ve her protein için farklı lokalizasyonda bağlanma gerçekleşmektedir (6).

### Pigmentler

Melaninler, hidrofobik yapıda ve negatif yüklü makromoleküllerdir. Funguslarda bulunan en önemli melanin tipleri DHN-melanin ve DOPA-melanindir. *A. fumigatus* sporları 1,8-dihidroksinaftalen benzeri melanin içermektedir. *A. fumigatus*'un pigmentten yoksun olan yabancı tip strainleri, yeşil sporlara sahip suşlardan daha az patojeniktir. Polyketit sentaz'ı kodlayan *ALB1* ve skatol dehidrataz'ı kodlayan *ARP1* genleri, dihidroksinaftalen melanin'in biyosentezinde rol oynarlar. Beyaz *A. fumigatus* sporların, komplemente daha az istekli bağlanır ve duvarları daha geçirgendir ki bu özellikler antifungal ilaçlara karşı hassasiyetinin artmasını sağlar.

Ayrıca melanin üreten *Cryptococcus neoformans* ve Dematiaceous funguslar üzerinde yapılan çalışmalarda melaninin, hücreleri insan savunma sistemi hücrelerine karşı koruduğu ve suşların canlı kalma şansını arttırdığı gösterilmiştir (6). Çünkü yabani tip suşların çoğunun konidiumları yeşil ve miselyumları renksizdir. Ayrıca steroid uygulanmış farelere inoküle edilen pigmentsiz sporların da IA'a yol açtıkları gösterilmiştir.

## Toksik Moleküller

*A. fumigatus* birkaç toksik sekonder metabolit üretir. Üzerinde en çok çalışılmış olanı gliotoksin'dir. Gliotoksinin hayvanlarda ve insanlarda geniş spektrumlu bağışıklık sistemini baskılayıcı aktivitesi bulunmaktadır. Bu özellikleri dolayısıyla gliotoksinin kemik iliği transplantasyonu yapılan hastaların tedavisinde yararlı olabileceği düşünülmektedir. Gliotoksinin, nötrofil ve makrofajların oksidatif öldürme etkisi ve fagositozu inhibe ettiği ve bu antifagositik özelliği ile makrofajlarda apoptozisi indüklediği gösterilmiştir. Ayrıca T ve B hücrelerinin aktivasyonunu ve sitotoksik T hücrelerinin aktivasyonunu bloke etmektedir (6, 10).

*A. fumigatus* 'un toksik sekonder metaboliti 18-kDa'luk RNase'dır; ASPF1 veya restriktoksin olarak bilinmektedir ve üzerinde oldukça fazla çalışma yapılmıştır (11). Bu RNAaz ökaryotik ribozomların 28S rRNA alt biriminde 14 nukleotidlik pürin bakımından zengin bir dizide kesim yapar. Bu molekülün de sporların hücre duvarında bulunduğu ve IA'li hastaların idrarında ve dokuda da salgılanmakta olduğu, ayrıca dokuda fungusun etrafını çevreleyen nekrozlu bölgelerde de bulunduğu belirlenmiş ve son derecede güçlü toksisiteye sahip olduğu gösterilmiştir (11).

Enzimler: Patojen bir fungusun konağın dokusunda ilerleyebilmesi için bazı enzimlere sahip olması gerekir. Akciğerin matriksi başlıca elastin ve kollojenden oluştuğu için elastogenolitik ve kollogenolitik enzimler başlıca rolü oynayacaktır. Bu fungusun elastaz aktivitesi hayvan modeli deneylerinde incelenmiş ve invaziv aspergillosis hastalarından izole edilen *A. fumigatus* suşlarında yüksek seviyede elastaz aktivitesi saptanmıştır (7). *A. fumigatus* 'un konak hücre membranının asıl bileşeni olan gliserofosfolipidlerde bulunan bağları hidrolize edebilen en az dört farklı fosfolipaz ürettiği belirlenmiştir. Fosfolipazlar konak hücre invazyonunda membran yıkım işlemine katılırlar. Membranın zedelenmesi sonucu hücre parçalanmaktadır (12).

*A. fumigatus* virulansında rol oynayan başlıca 3 proteaz, alkalın serin proteaz (Alpp), metalloproteaz (Mepp) ve aspartik proteaz'dır (Pepp). Hücreler nötral pH'da, protein ya da protein hidrolizatı ile inkübe edildiğinde *A. fumigatus* tarafından salgılanan proteaz 33-kDa'lık serin alkalın proteaz (Alpp)'dir. Alpp, subtilisin ailesinin bir üyesidir. Bununla birlikte yapılan çalışmalar izogenik Alpp üreten yabani tip ve Alpp üretmeyen strainlerin ikisinin de IA'nın murine modelinde aynı mortaliteye neden olduğu gösterilmiştir. *alp* mutantının elastini degrade etme yeteneği yok iken kollojeni yıkmaya yeteneğini sürdürdüğü görülmüştür. Kollojenolitik aktivitenin % 30'unu nötral proteaz I ailesinin üyesi olan 40-kDa'lık metalloproteaz (Mepp) oluşturmaktadır. *alp*, *mep* mutantlarının in vitro'da hücre dışı proteolitik aktivite göstermediği fakat immun baskılı farelerde enfeksiyona sebep olduğu ve öldürebildiği saptanmıştır. Bundan dolayı spesifik konak faktörleri ile indüklenen ilave proteazların da olduğu belirtilmiştir (6).

*A. fumigatus* 'un 38-kDa'lık proteazı (Pepp), son yıllarda karakterize edilen aspartik proteazların pepsin ailesine aittir. Pepp, *A. fumigatus* ile infekteli insan akciğer dokusunda gösterilmesine rağmen Alpp ve Mepp ile kıyaslandığında, salgılanmasının kollojen veya elastin indüklemesiyle olduğu görülmemiştir. Yapılan hayvan denemelerinde Pepp kusurlu mutantların dokulara saldırdığı ve Mepp ve Alpp gibi, sistemik aspergillozide doku hasarına neden olmadığı saptanmıştır. *A. fumigatus* 'un sporulasyon yapısında Pepp'in oluşması ve anti-Pepp antiserum ile reaksiyon veren hücre duvarına sıkıca bağlanan bu proteinin keşfi, *A. fumigatus* 'un bu enziminin fungal morfogenezde rol oynayabileceğini düşündürmektedir (6, 11).

*Aspergillus* türlerinin sahip olduğu oksidatif enzimlerin de infeksiyon aşaması boyunca temel rol oynayabileceği düşünülmektedir. Diğer patojenik mikroorganizmalarda da görülen bazı enzimler, fagositik hücreler tarafından üretilen toksik oksijen tiplerinin öldürücü etkisini bertaraf edebilmektedir. Şimdiye kadar *A. fumigatus* 'da üç katalaz ve iki superoksit dismutaz bulunmuştur (6). *A. fumigatus* infeksiyonu sırasında, makrofajlar sporları fagosite ederek yok etmeye çalışır, polimorf nükleuslu lenfositler (PMNL) ise hife bağlanarak toksik bileşiklerini ortama salgırlar. *A. fumigatus* 'un sahip olduğu katalaz ve süperoksit dismutaz enzimleri organizmayı; fagositlerin ürettiği toksik oksijen formları olan singlet oksijen, hidrojen peroksit, hidroksil ve diğer serbest radikallerin zararlı etkisinden koruyabilmektedir (13).

Sonuç olarak; *A. fumigatus* 'un hastalık oluşturma yeteneği konağa ve fungusa ait faktörlere bağlıdır. *A. fumigatus* 'un virulansı, birlikte çalışan ve infeksiyonu ortak tarzda oluşturan çok sayıda parametrenin sonucudur. Bu parametreler başlıca adhezyon (mukoza epitel hücrelerine yapışma), pigmentler, enzimler ve toksik moleküllerdir.

## Kaynaklar

1. Brokhage AA, Systemic Fungal Infections Caused by *Aspergillus* species: Epidemiology, Infection Process and Virulence Determinants. *Curr Drug Targets* 2005; 6: 875- 886.
2. Tomee JF, Kauffman HF, Putative Virulence Factors of *Aspergillus fumigatus*, *Clinical&Experimental Allergy*, 30(4), 476- 484.
3. Latge, J.P, 2001, The Pathobiology of *Aspergillus fumigatus*, *Trends Microbiol.*, Vol.9, No.8.
4. Fredj Tekaia and Jean-Paul Latgé, 2005, *Aspergillus fumigatus*: saprophyte or pathogen? *Current Opinion in Microbiology*, 8, 385- 392.
5. Latge, J.P, Calderone, R, 2002, Host-microbe interactions: fungi Invasive human fungal opportunistic infections, *Current Opinion in Microbiology*, Vol.5, p.355-358.
6. Latge, J.P,1999, *Aspergillus fumigatus* and Aspergillosis, *Clin. Microbiol. Rev.*, 12, 2, 310-350.
7. Rementeria A, Lopez-Molina N, Ludwing, Vivanco AB., Genes and molecules involved in *Aspergillus fumigatus* virulence. *Rev Iberoam Micol* 2005; 22: 1- 23.
8. Ollert MW, Söhnchen R, Korting HC, Ollert U., Brautigam S, Brautigam W., Mechanisms of adherence of *Candida albicans* to cultured human epidermal keratinocytes. *Infect Immun* 1993; 61: 4560- 4568.

9. Bromley IMJ, Donaldson K, Binding of *Aspergillus fumigatus* spores to the lung epithelial cells and basement membrane proteins Relevance to the astmatic lung. *Thorax* 1996; 51: 1203- 1209.
10. Lewis R.E, Wiederhold N.P, Chi J, Han X.Y, Komanduri K.V, Kontoyiannis D.P, Randall A. Prince R.A, Detection of Gliotoxin in Experimental and Human Aspergillosis, *Infect Immun*, 2005; 73: 635- 637.
11. Hogan LH, Klein BS, Levitz SM, Virulence factors of medically important fungi. *Clin Microbiol Rev.* 1996; 9: 469- 488.
12. Ghannom MA, Potential Role of Phospholipases in Virulence and Fungal Pathogenesis, *Clin Microbiol Rev* 2000; 12: 122- 43.
13. Brookman, J.B, Denning D.W, 2000, Molecular Genetics in *Aspergillus fumigatus*, *Curr. Opin. Microbiol.*, Vol.3, p.468-474.