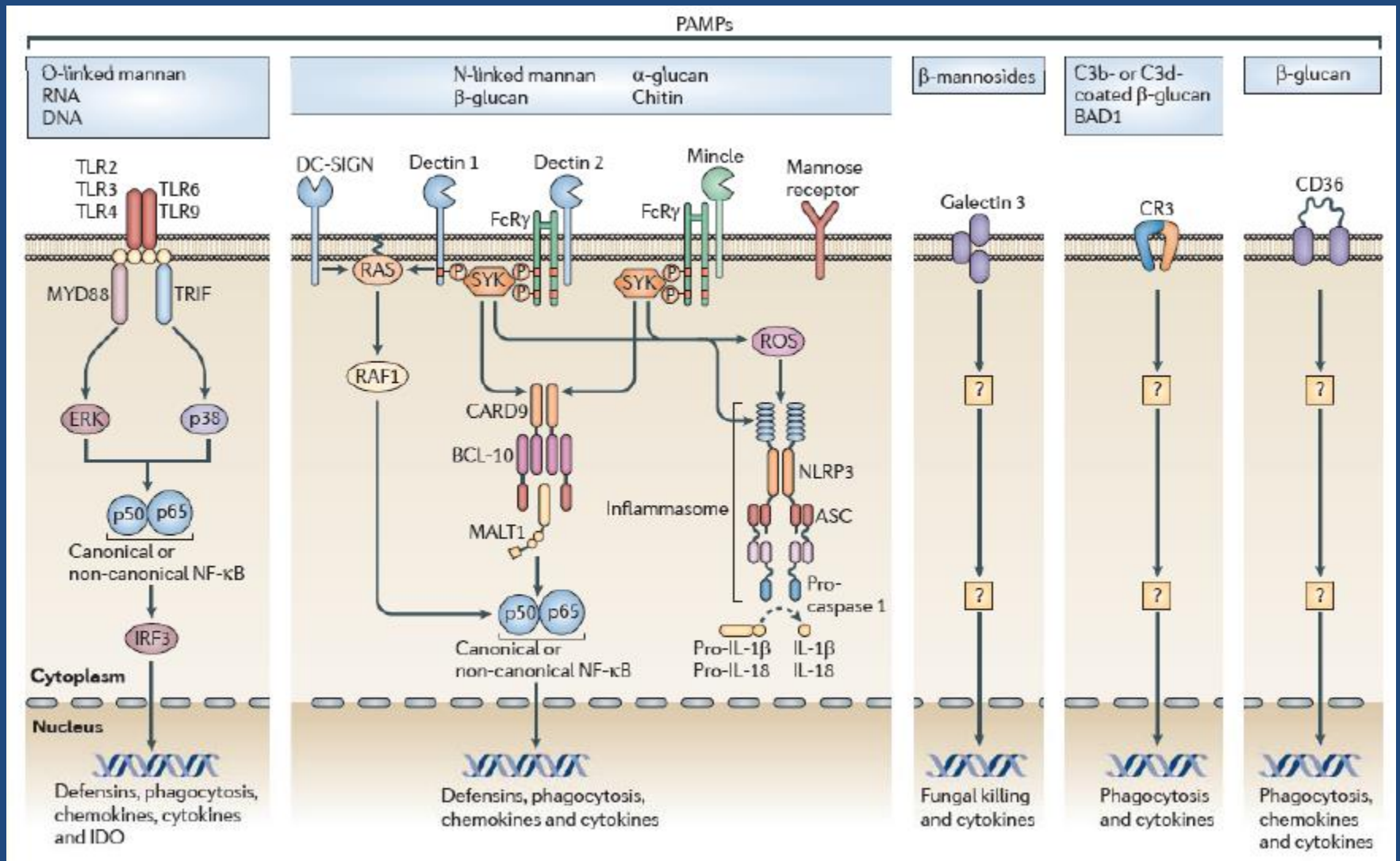
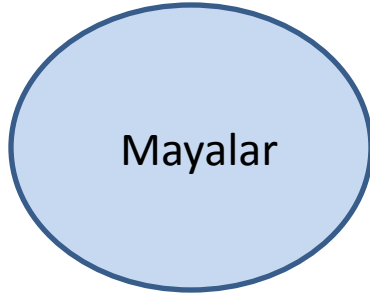


Mantar ve Konak İlişkisinin şekillenmesinde moleküler genetik yaklaşımlar

Ayşe Kalkancı
Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi
Tıbbi Mikrobiyoloji AD

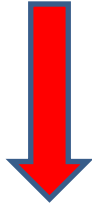
Patojenik mantarlar ve bağışık sistem arasındaki ilişkinin özeti



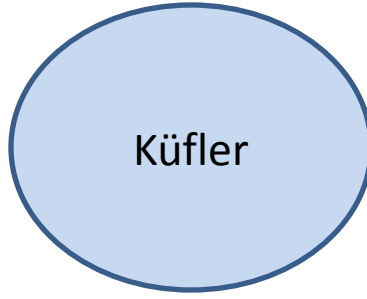


Ekzojen enfeksiyon

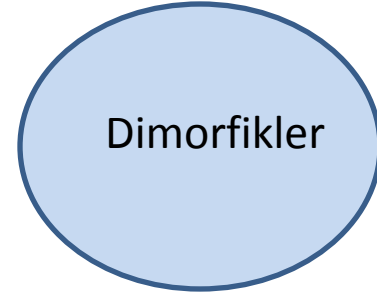
Normal flora



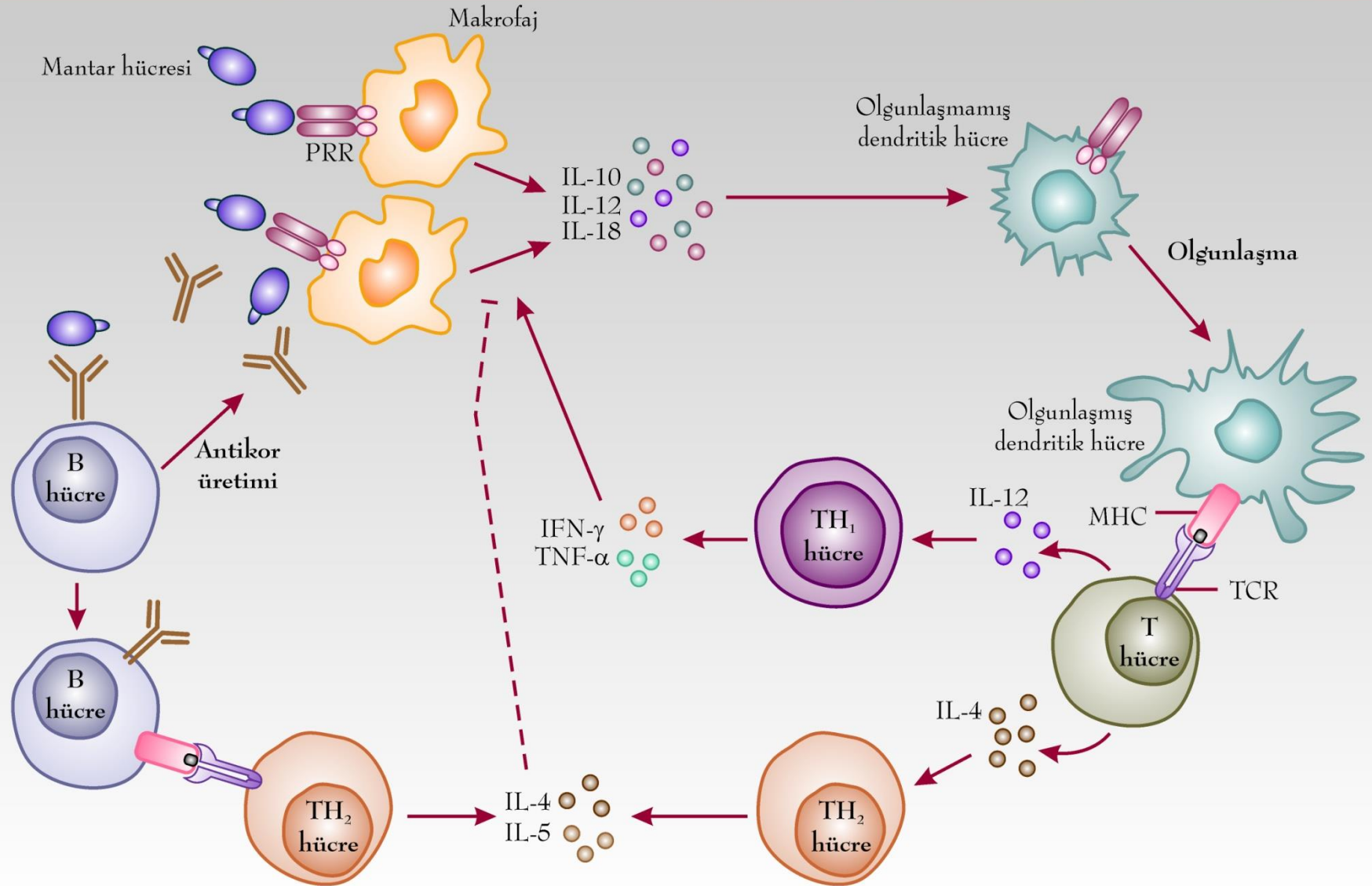
Endojen enfeksiyon



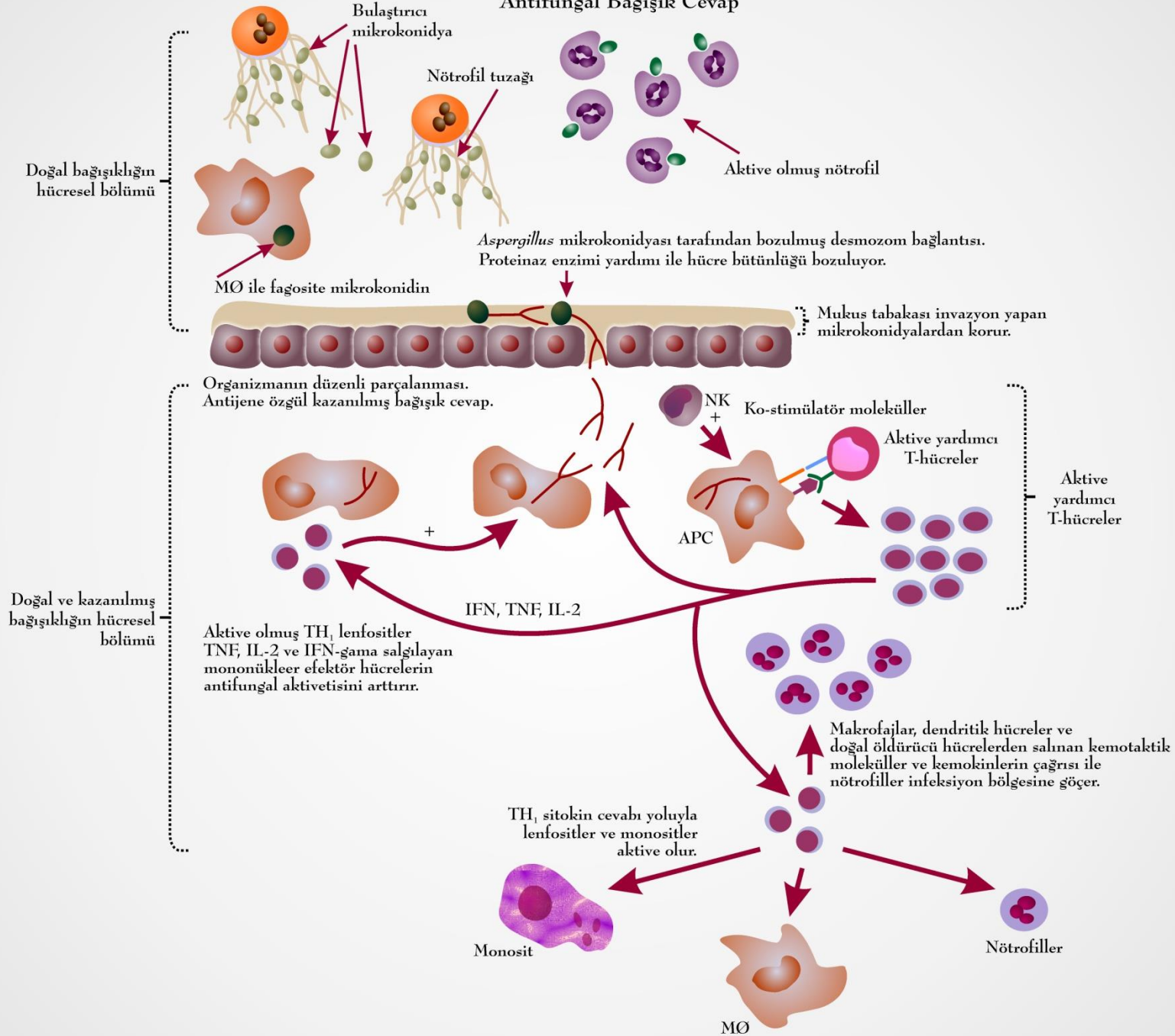
Ekzojen enfeksiyon



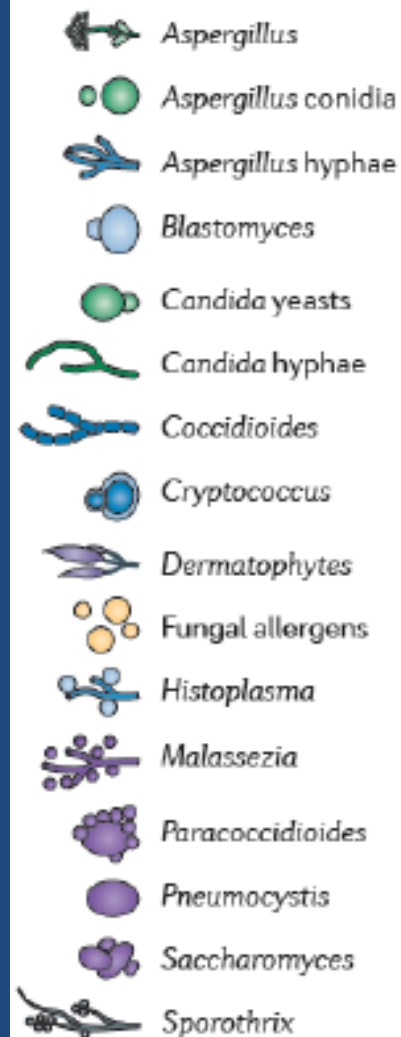
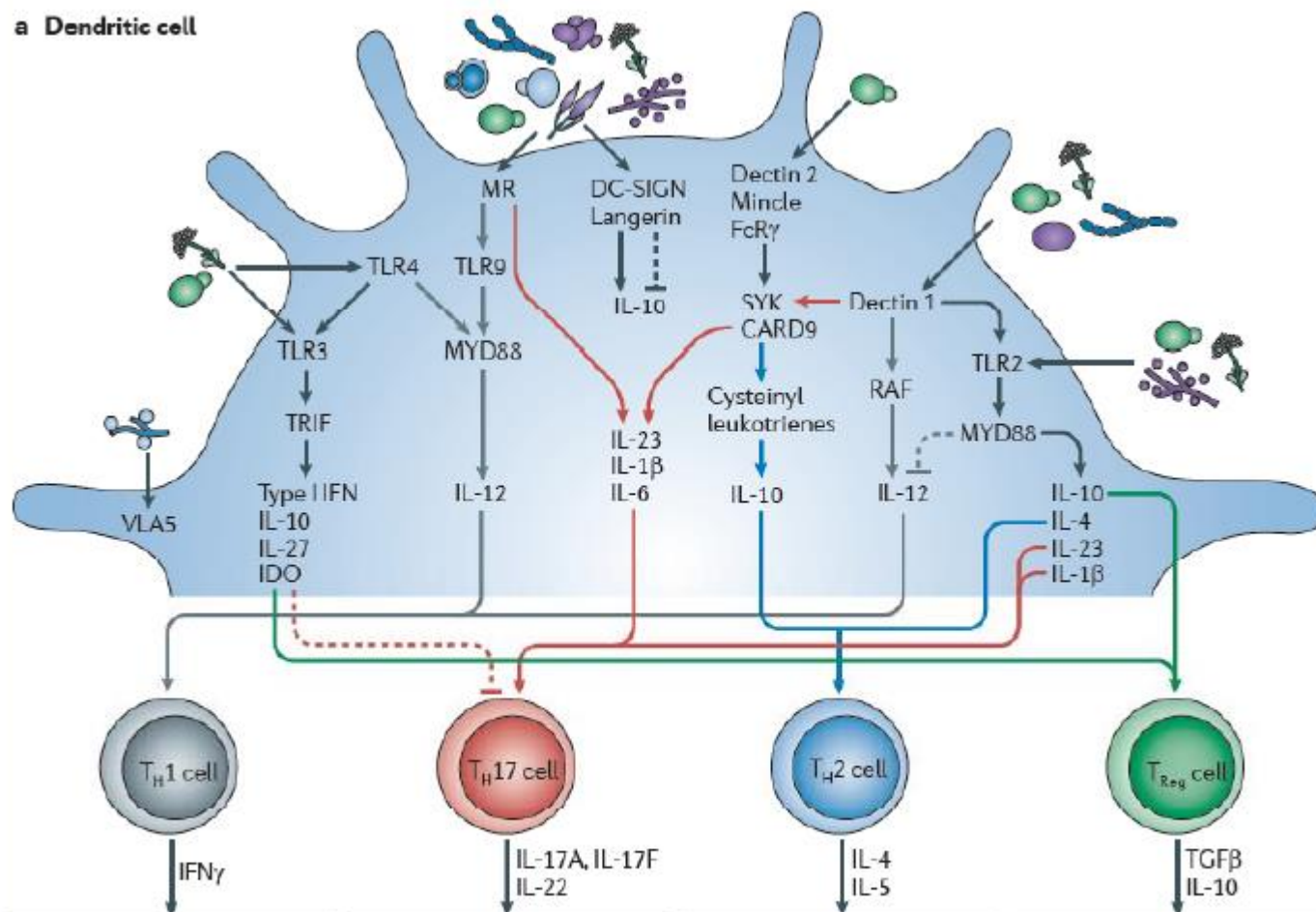
Ekzojen enfeksiyon



Antifungal Başışık Cevap



a Dendritic cell



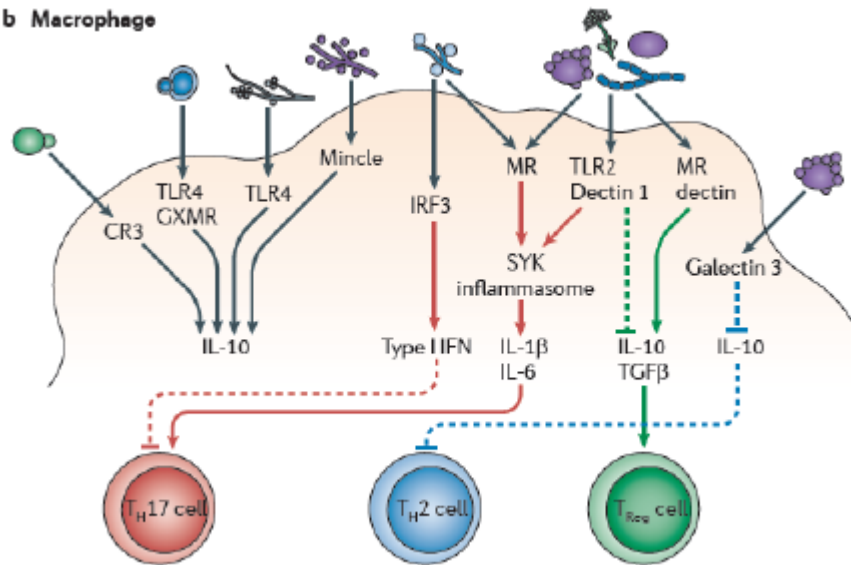
- Promotion of fungal clearance
- Inflammation

- Recruitment of neutrophils
- Defensins
- Inflammation

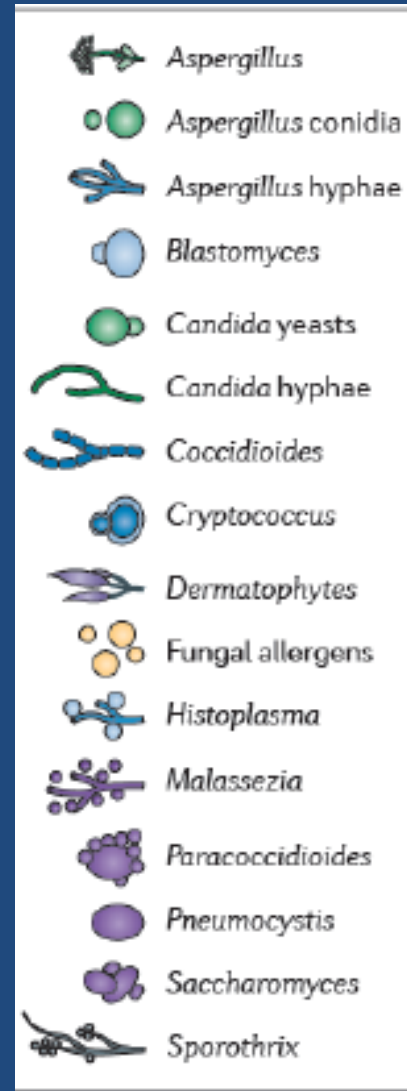
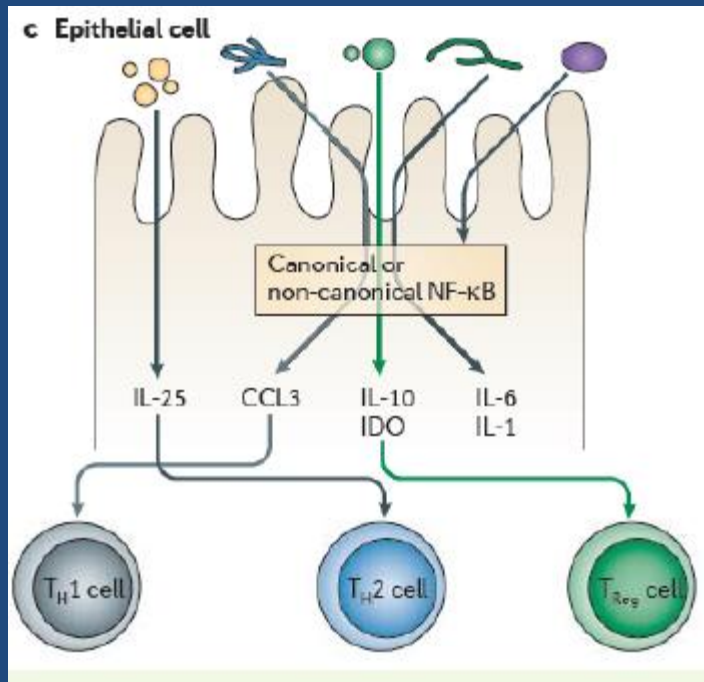
- Inhibition of fungal clearance
- Allergy

- Limited pathology
- Immunosuppression

b Macrophage



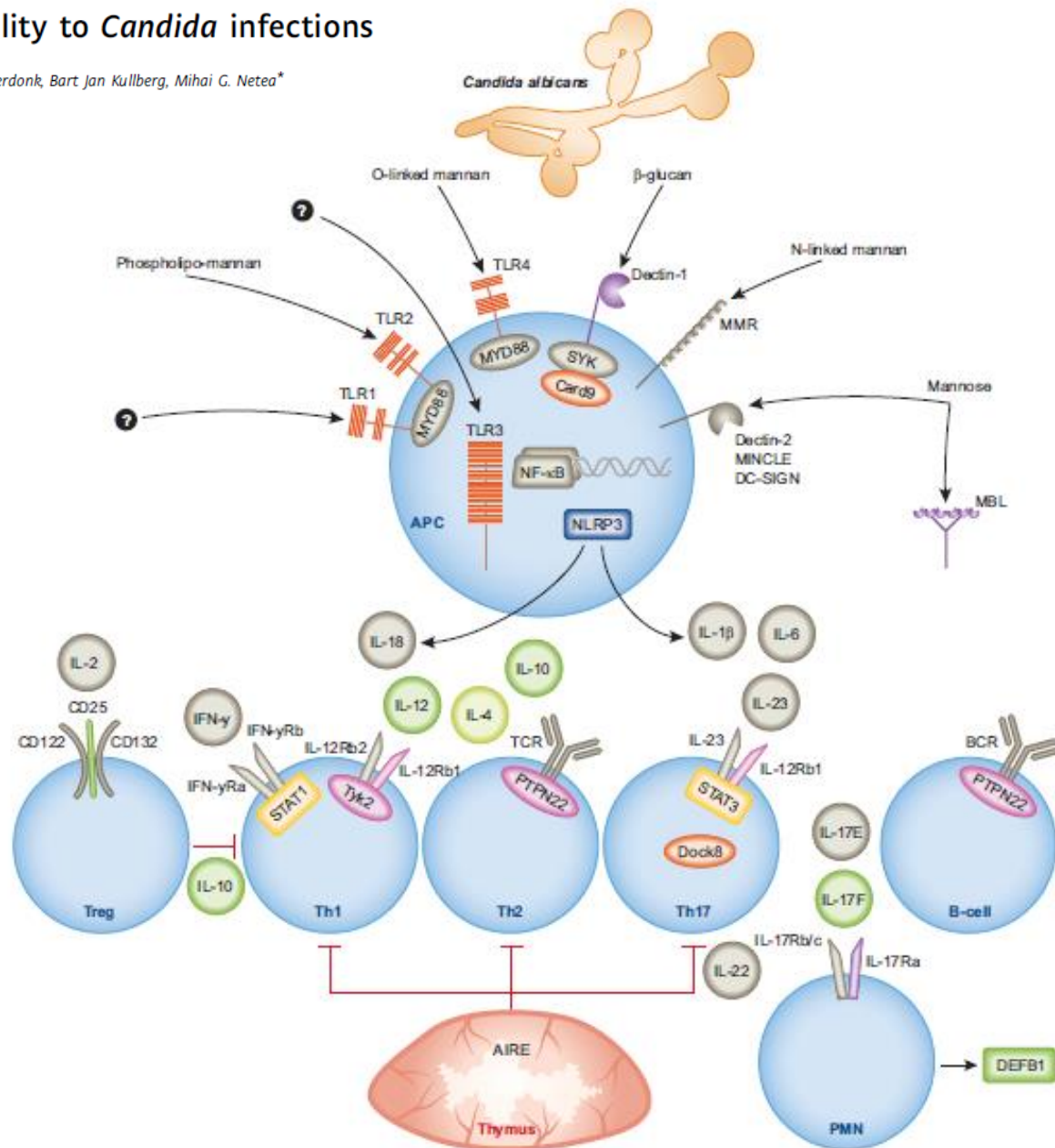
c Epithelial cell

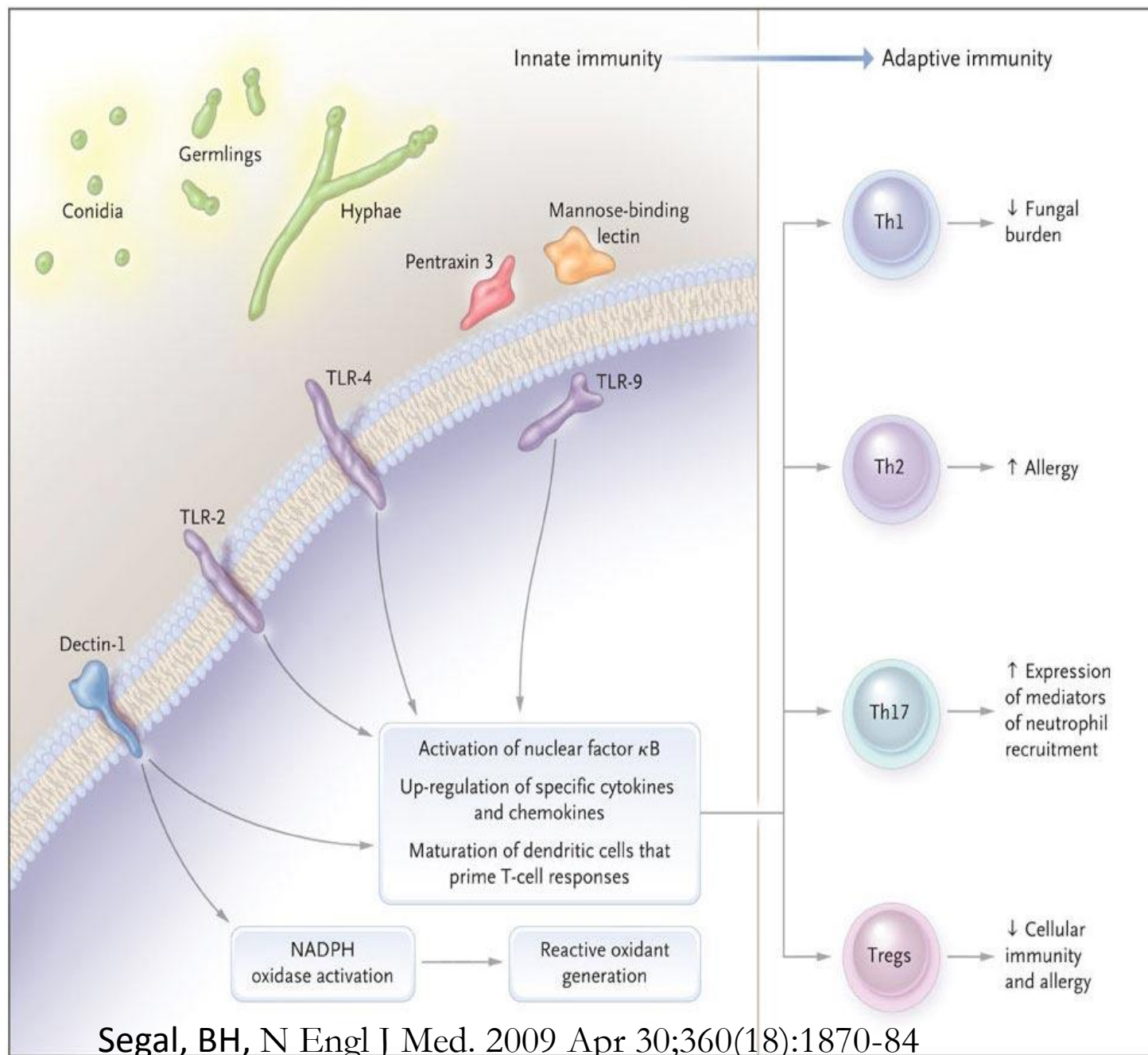


Genetic susceptibility to *Candida* infections

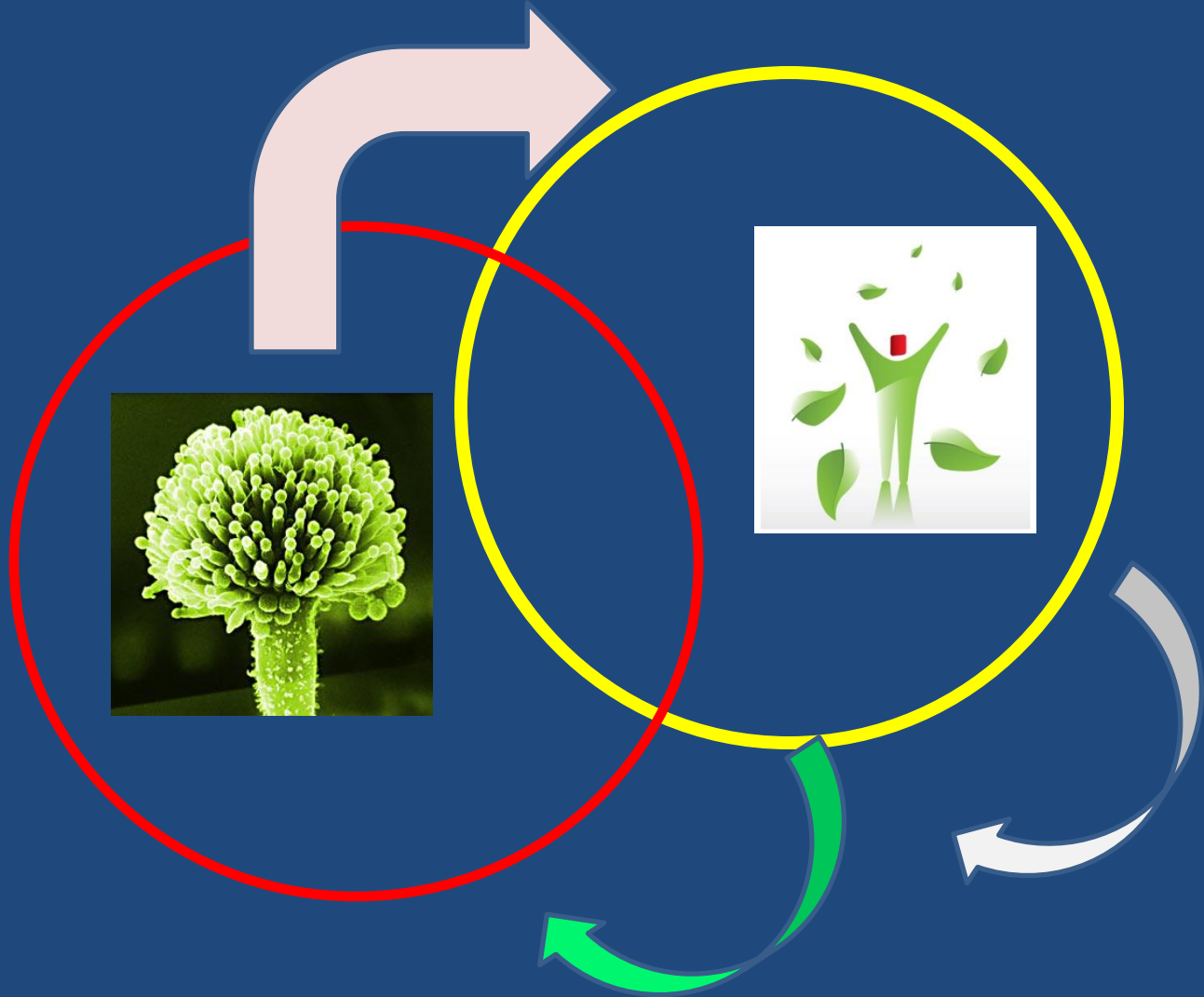
Sanne P. Smeeckens, Frank L. van de Veerdonk, Bart Jan Kullberg, Mihai G. Netea*

EMBO Mol Med (2013) 5, 805–813





Nedir mantar konak ilişkisi ?





- Dokulara adezyon
- Maya & Hif dönüşümü
- Fenotipik dönüşüm
- Slime faktör ve biyofilm üretimi
- Siderefor varlığı
- Hemolitik aktivite
- Enzimler (proteinaz, fosfolipaz, esteraz gibi)
- ...

İnvaziv fungal infeksiyonlar için predispozan (hazırlayıcı) faktörler



- HIV
- CMV
- Mycobacterium
- Yetersiz tedavi edilmiş yüzeyel mantar enfeksiyonu
- Hematolojik maligniteler
- Mekanik ventilasyon yapılan yoğun bakım hastaları
- Kök hücre nakli yapılan hastalar
- Transplantasyon
- Ciddi travma
- Büyük cerrahi girişimler
- İnvaziv girişimler
- KOAH, Astma
- Steroid kullanımı
- Uzun antibiyotik kullanımı
- İleri yaş
- Nötropeni
- İmmün yetmezlik
- NADPH oksidaz aktivitesi bozukluğu
- TNF-alfa sentez bozukluğu
- IL-10 ve diğer sitokin sentez bozuklukları

Ramana KV et al. Fungal Infections: A comprehensive review. AM J Infect Dis and Microbiol 2013; 1 (4): 64-69.

İnvaziv fungal infeksiyonlar için predispozan (hazırlayıcı) faktörler

- HIV
- CMV
- Mycobacterium
- Yetersiz tedavi edilmiş yüzeysel mantar enfeksiyonu
- Hematolojik maligniteler
- Mekanik ventilasyon yapılan yoğun bakım hastaları
- Kök hücre nakli yapılan hastalar
- Transplantasyon
- Ciddi travma
- Büyük cerrahi girişimler
- İnvaziv girişimler
- KOAH, Astma
- Steroid kullanımı
- Uzun antibiyotik kullanımı
- İleri yaş
- Nötropeni
- İmmün yetmezlik
- NADPH oksidaz aktivitesi bozukluğu
- TNF-alfa sentez bozukluğu
- IL-10 ve diğer sitokin sentez bozuklukları

Ramana KV et al. Fungal Infections: A comprehensive review. AM J Infect Dis and Microbiol 2013; 1 (4): 64-69.

Primer immÜN yetmezlikler

- Kronik granÜlomatöz hastalık
- Hiper IgE sendromu
- APECED
- Myelodisplazi
- IL-12/IFN- γ yolak bozuklukları
- Monositopeni ve myelodisplazi (MonoMAC)

Lökosit bozuklukları

Genetik veya akiz (edinsel) bozuklukların tamamında infeksiyonlara eğilim artar...

1. Sayı yetersizliği

2. Fonksiyon yetersizliği

- Adezyon bozukluğu
- Kemotaksis bozukluğu
- Fagositoz ve fagolizozom bozukluğu
- Mikrobiyal aktivite bozukluğu

Lökosit fonksiyon bozukluklarının genetik nedenleri

- **Lökosit adezyon bozukluğu 1**
- **Kronik granüloamatöz hastalık**

Azalmış oksidatif öldürme

– X'e bağlı tip

NADPH oksidaz (membran komponenti)

– Otozomal resesif

NADPH oksidaz (sitoplazmik komponent)

- **Myeloperoksidaz eksikliği**

- MPO-H₂O₂ sisteminde defekt

- **Chédiak-Higashi sendromu**

- Organel membran birleşmesinde görevli proteinler

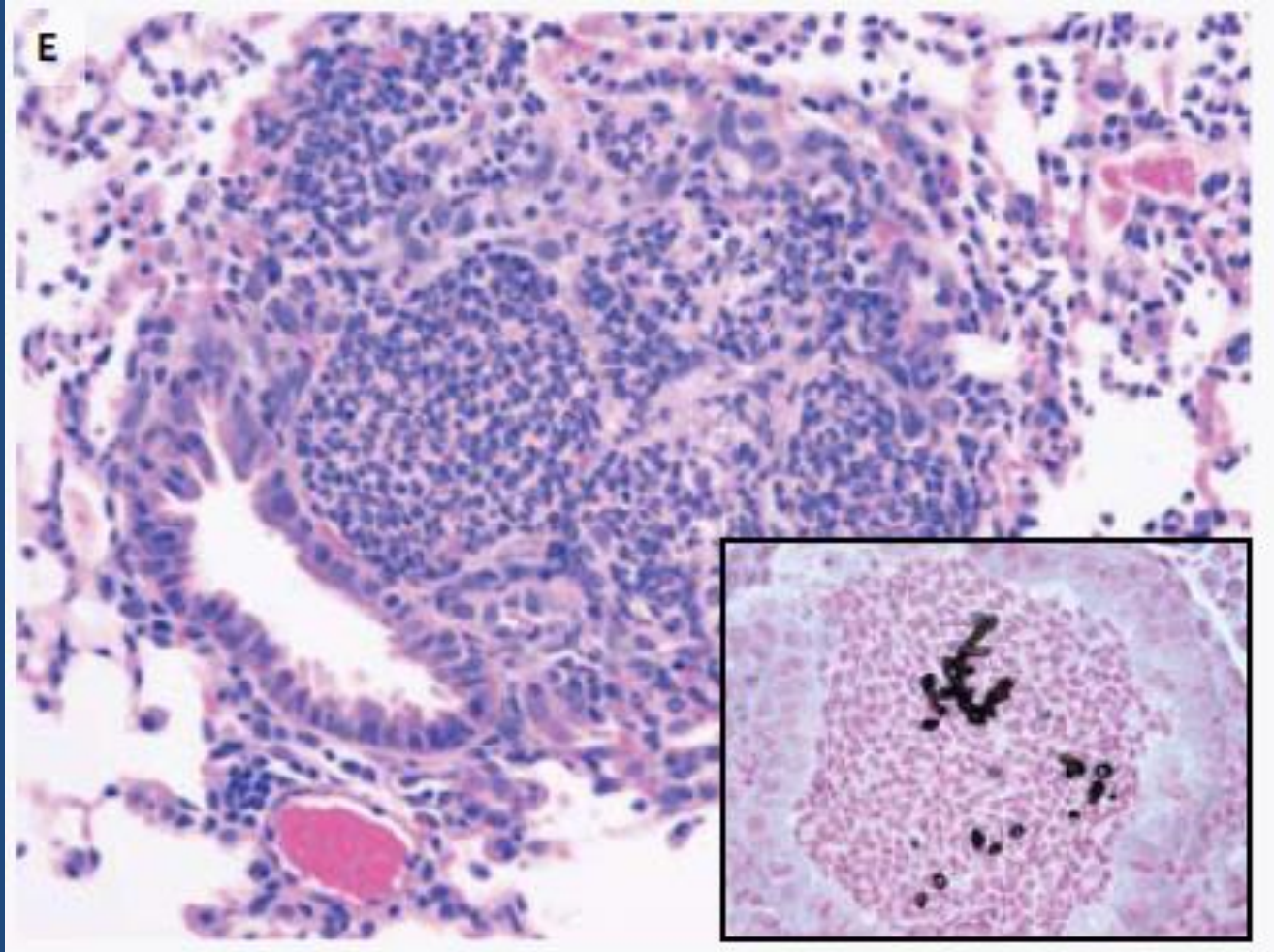
Mantar
infeksiyonları



Mantar
infeksiyonları



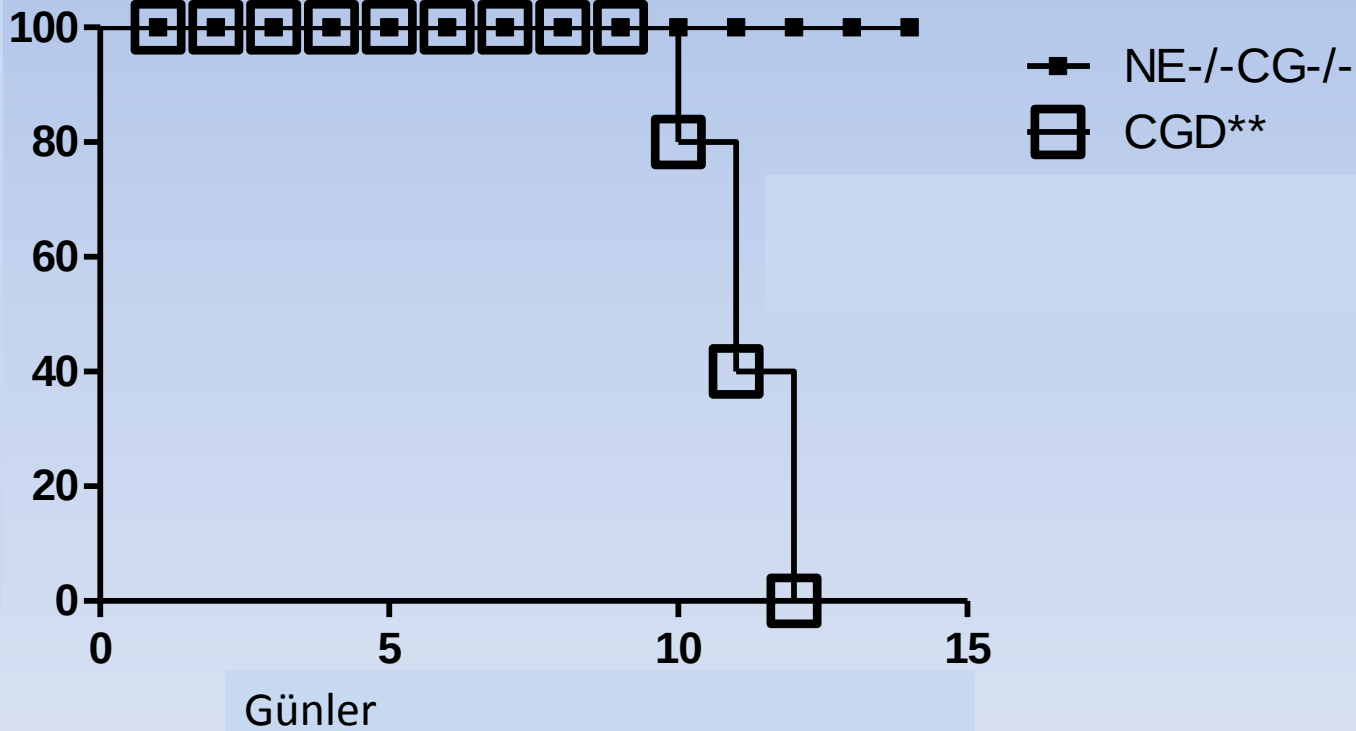
NADPH oksidaz aktivitesi bozukluğunda
(KGH) fungal infeksiyonlar artar !



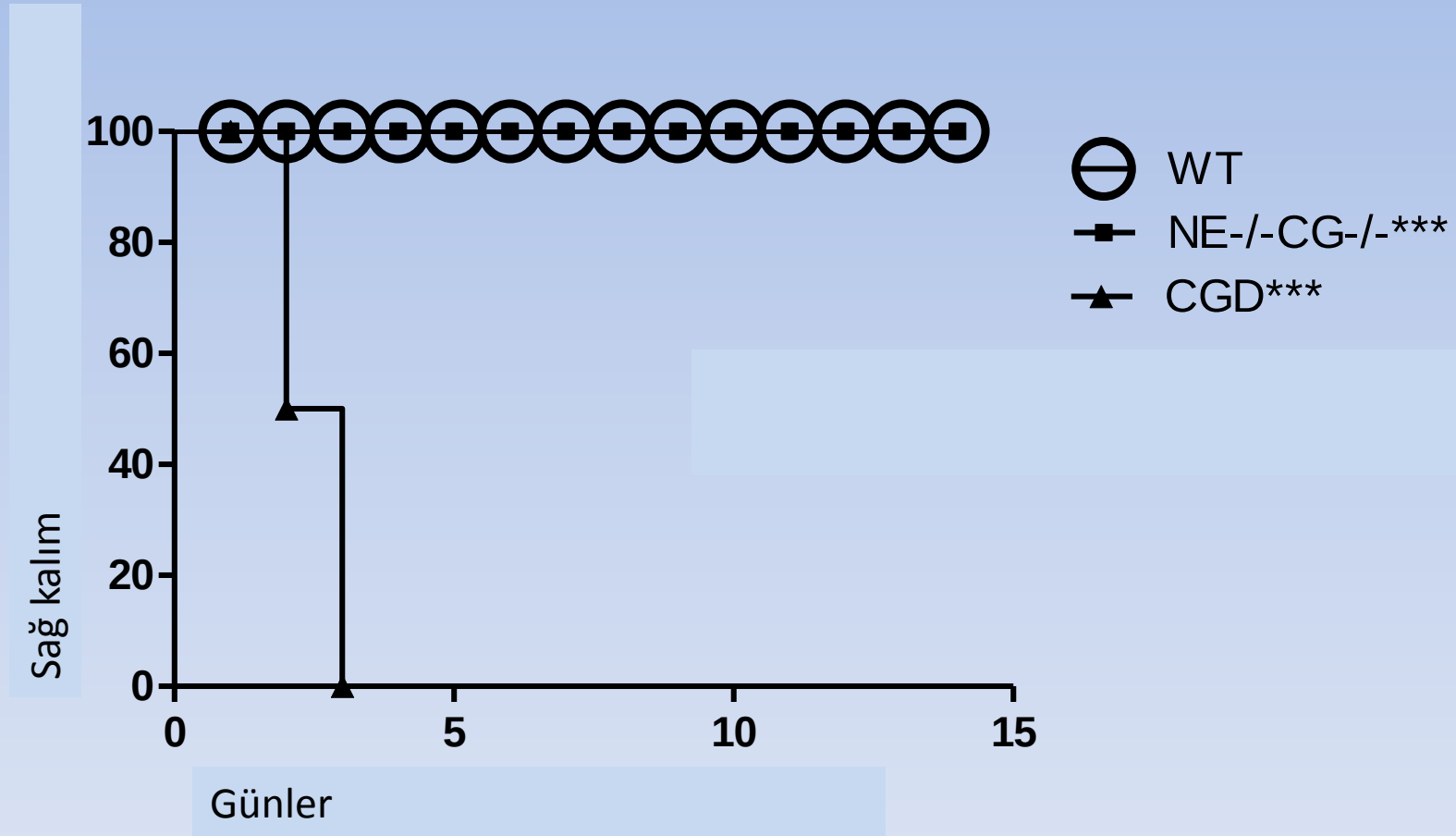
Hipotez

- Nötrofil elastaz ve (NE) ve katepsin G (CG) için “knock-out” fareler NADPH oksidaz eksikliği olan fareler gibi aspergilloza duyarlı mıdır ?

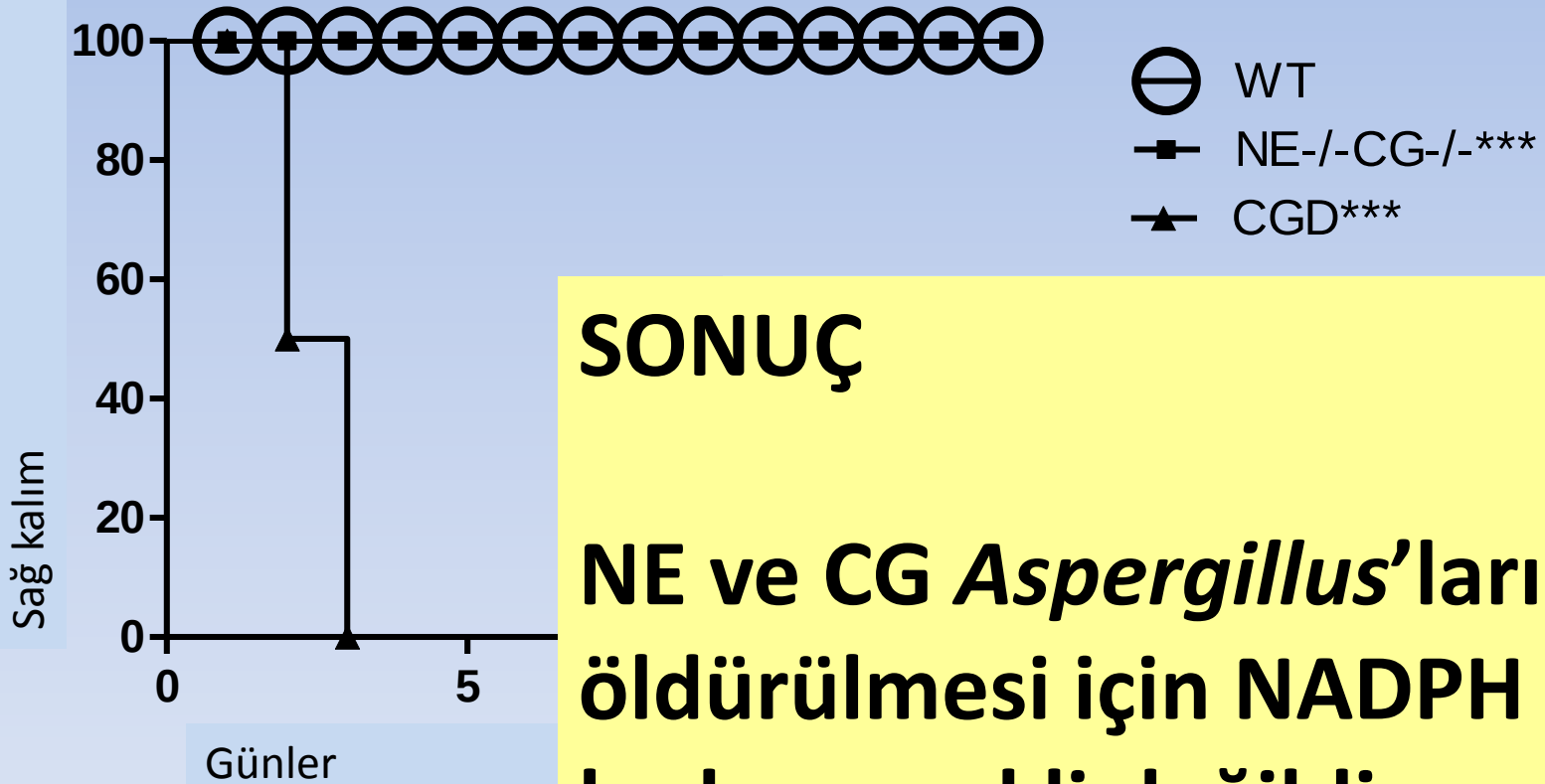
Aspergillus inokölasyonu sonrası sağ kalım (1.25×10^4 CFU/fare)



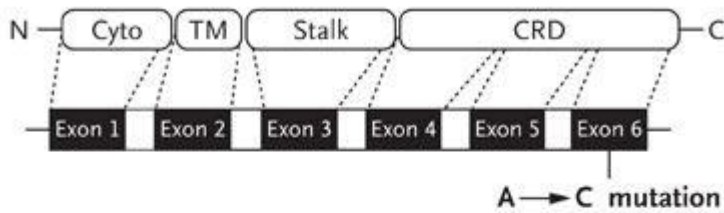
Aspergillus inokülasyonu sonrası sağ kalım (1.25×10^7 CFU/fare)



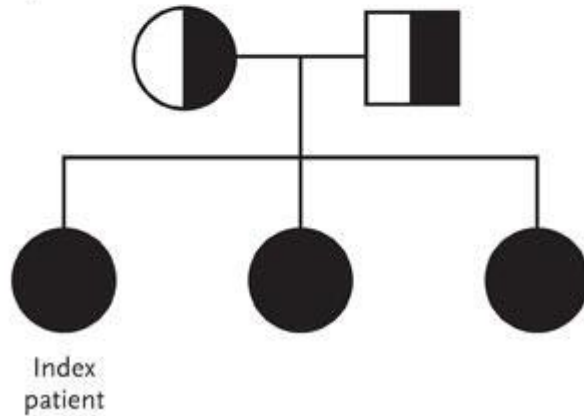
Aspergillus inokülasyonu sonrası sağ kalım (1.25×10^7 CFU/fare)



A Dectin-1



B Family with Dectin-1 Mutation



Dectin-1 Mutasyonu olan aile

(A→C) mutasyonu karbınhidrat tanıma bölgesinde (CRD) son 9 aa'in kaybına neden olur.

Yuvarlak kadın, kare erkek bireylerdir. Siyah semboller mutasyon için homozigotluğu, siyah-beyaz olanlar heterozigotluğu göstermektedir.

Ebeveynler heterozigot, üç kız mutasyon için homozigottur. Indeks olgu işaretlenmiştir.

Ferwerda et al. Human Dectin-1 Deficiency and Mucocutaneous Fungal Infections.
N Engl J Med 2009; 361:1760-1767

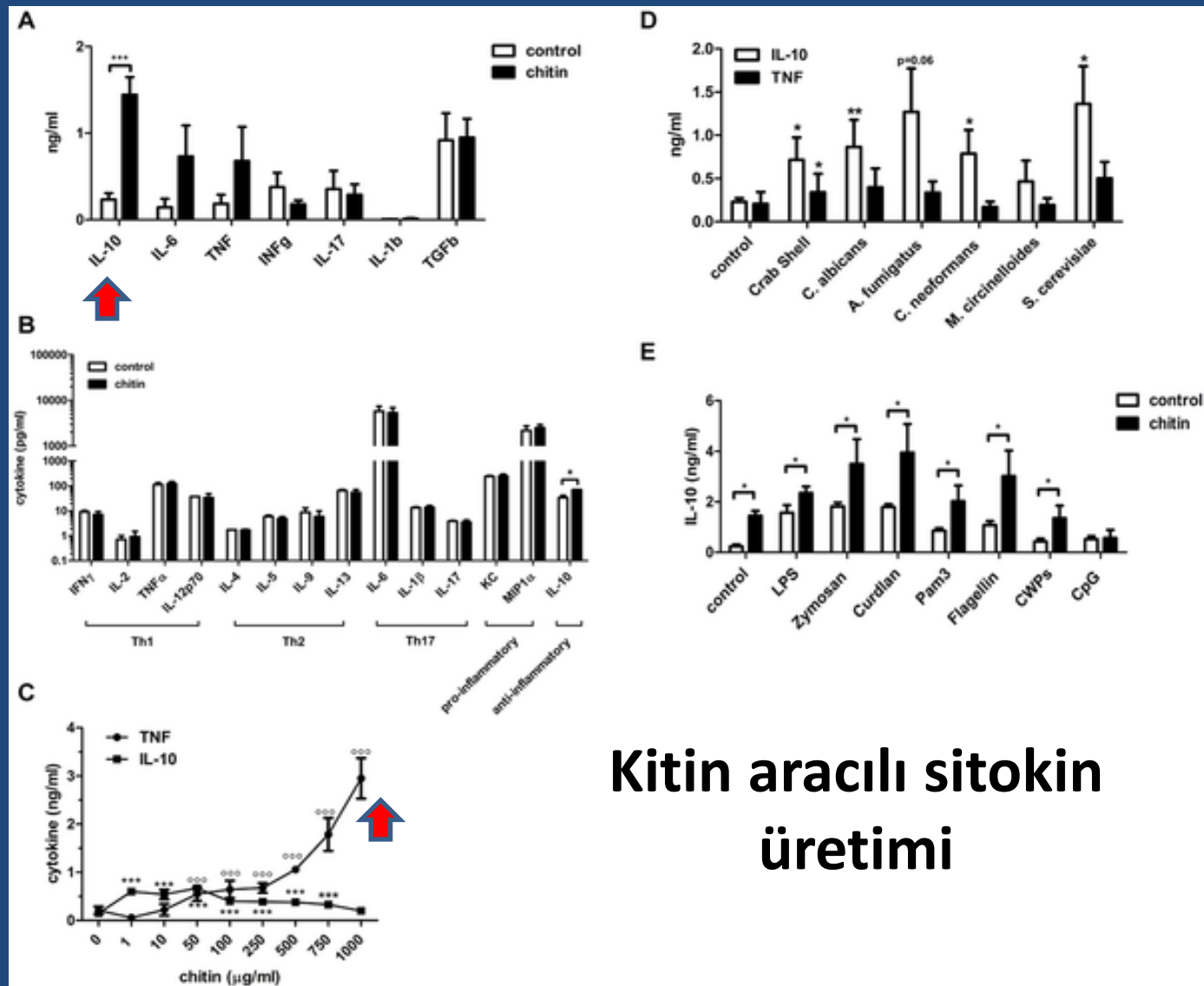
Dectin-1 C-tip lektindir. Mantar duvarındaki β -1,3-glukanı tanıyan bir PRR'dür. Doğal immüitenin bir parçasıdır.

İnvaziv fungal infeksiyonlar için predispozan (hazırlayıcı) faktörler

- HIV
- CMV
- Mycobacterium
- Yetersiz tedavi edilmiş yüzeyel mantar enfeksiyonu
- Hematolojik maligniteler
- Mekanik ventilasyon yapılan yoğun bakım hastaları
- Kök hücre nakli yapılan hastalar
- Transplantasyon
- Ciddi travma
- Büyük cerrahi girişimler
- İnvaziv girişimler
- KOAH, Astma
- Steroid kullanımı
- Uzun antibiyotik kullanımı
- İleri yaş
- Nötropeni
- İmmün yetmezlik
- NADPH oksidaz aktivitesi bozukluğu
- TNF-alfa sentez bozukluğu
- IL-10 ve diğer sitokin sentez bozuklukları

Ramana KV et al.Fungal Infections: A comprehensive review. AM J Infect Dis and Microbiol 2013; 1 (4): 64-69.

IL-10'ün fungal patogenezdeki rolü



**Kitin aracılı sitokin
üretimi**

Başka hangi genetik farklılıklar mantar enfeksiyonlarına duyarlılığı artırır ?

Table 1. Monogenetic disorders

Gene	Mutation	Mode of inheritance	Phenotype	Disease	Refs.
AIRE	R257X	Autosomal-dominant	Autoantibodies against IL-17 and IL-22	CMC	Nagamine et al (1997), Pearce et al (1998)
CARD9	Q295X	Autosomal-recessive	Reduced TNF- α production and Th17 cells	CMC	Glocker et al (2009)
	Q289X R101C	Autosomal-recessive	Reduced Th17 responses	Invasive dermatophytic disease	Lanternier et al (2012)
CD25	Deletion (60–64)	Autosomal recessive	Reduced number of CD4+ cells	<i>Candida</i> esophagitis	Sharfe et al (1997)
DOCK8	Multiple deletions and point mutations	Autosomal-recessive	Reduced Th17 cells	Hyper IgE syndrome	Engelhardt et al (2009)
IL-12Rb1	Multiple point mutations	Autosomal-recessive	Low levels of IFN- γ	Mucosal candidiasis	Rodríguez-Gallego et al (2012)
IL-17RA	Q284X	Autosomal-recessive	Absent IL-6 and GRO- α production	CMC	Puel et al (2011)
IL-17F	S65L	Autosomal-dominant	Reduced IL-6 and GRO- α production	CMC	Puel et al (2011)
STAT1	R274W A267V	Autosomal-dominant	Reduced IL-17, IL-22 and IFN- γ production	CMC	van de Veerdonk et al (2011)
STAT3	Multiple point mutations	Autosomal-dominant	Reduced IL-17 production	HIES	Holland et al (2007)
TYK2	Deletion (550–553)	Autosomal-recessive	Reduced Th1 and Type I IFN responses	HIES	Minegishi et al (2006)

Genetic susceptibility to *Candida* infections

Sanne P. Smeekeens, Frank L. van de Veerdonk, Bart Jan Kullberg, Mihai G. Netea*

EMBO Mol Med (2013) 5, 805–813

Table 2. Common genetic variants

Gene	SNP (rs-number)	Phenotype	Disease	Refs.
Dectin-1	Y238X (rs16910526)	Decreased IL-1 β and Th17 responses	<i>Candida</i> colonization	Plantinga et al (2009)
DEFB1	–44C/G (rs1800972)	Unknown	<i>Candida</i> carriage	Jurevic et al (2003)
IL-4	–589T/C (rs2243250)	Increased vaginal IL-4, reduced NO and MBL levels	RVVC	Babula et al (2005)
	–1098T/G (rs2243248), –589C/T (rs2243250), –33C/T (rs2070874)	Unknown	Chronic disseminated candidiasis	Choi et al (2003)
IL-10	–1082A/G (rs1800896)	Higher <i>Candida</i> -induced IL-10 production	Persisting candidemia	Johnson et al (2012)
IL-12B	2724INS/DEL (rs17860508)	Lower <i>Candida</i> -induced IFN- γ production	Persisting candidemia	Johnson et al (2012)
MBL2	Variable number of tandem repeats in intron 4	Reduced vaginal MBL levels	RVVC	Babula et al (2003), Giraldo et al (2007)
NLPR3	Length polymorphism	Impaired IL-1 β production	RVVC	Lev-Sagie et al (2009)
PTPN22	R620W (rs2476601)	Unknown	Increased risk for CMC	Nahum et al (2008)
TLR1	R80T (rs5743611), S248N (rs4833095), I602S (rs5743618)	Decreased production of IL-1 β , IL-6 and IL-8 after TLR1-TLR2 stimulation	Increased susceptibility to candidemia	Plantinga et al (2012)
TLR2	R753Q (rs5743708)	Decreased levels of IFN- γ and IL-8	Increased susceptibility to candidemia	Woehrle et al (2008)
TLR3	L412F (rs3775291)	Decreased IFN- γ levels	Increased risk for CMC	Nahum et al (2011, 2012)
TLR4	D299G (rs4986790), Y399I (rs4986791)	Increased IL-10 production	Increased susceptibility to candidemia	Van der Graaf et al (2006)

Candida infeksiyonları ile ilgili hastalıklar

HASTALIK	SIKLIK	NEDENİ
Oral kandidoz	Çok sık	Normal immün cevap
Tekrarlayan oral kandidoz	Sık	T hücre defekti ve HIV
Sistemik kandidoz	Sık	Nötrofil bozukluğu ve immün sistem yetmezliği
Mukokutanöz kandidoz	Nadir	<i>CARD9</i> , Dectin-1 ve <i>IL17RA</i> mutasyonu

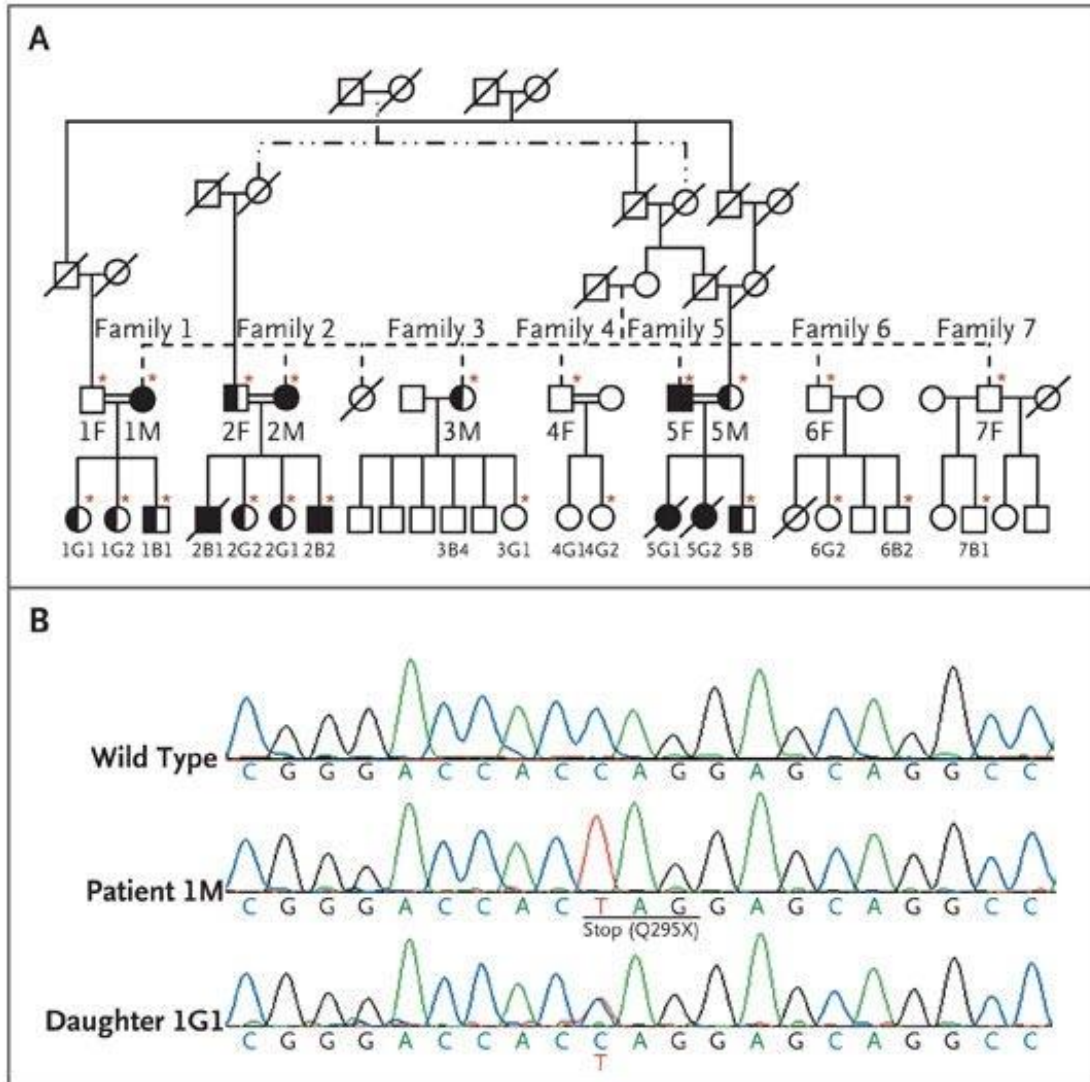
Hanna S et al. New host defense mechanisms against *Candida* species clarify the basis of clinical phenotype. J Allergy Clin Immunol 2011; 127: 1433-1437.

Kronik mukokutanöz kandidozu (KMK) olan İranlı ailenin genetik ağacı.

Yuvarlak semboller kadınları, kareler erkekleri göstermektedir. Siyah semboller Q295X mutasyonun homozigot olan KMK olgularını, siyah-beyaz semboller heterozigot olguları, beyaz semboller sağlıklı *CARD9* sahibi olguları göstermektedir.

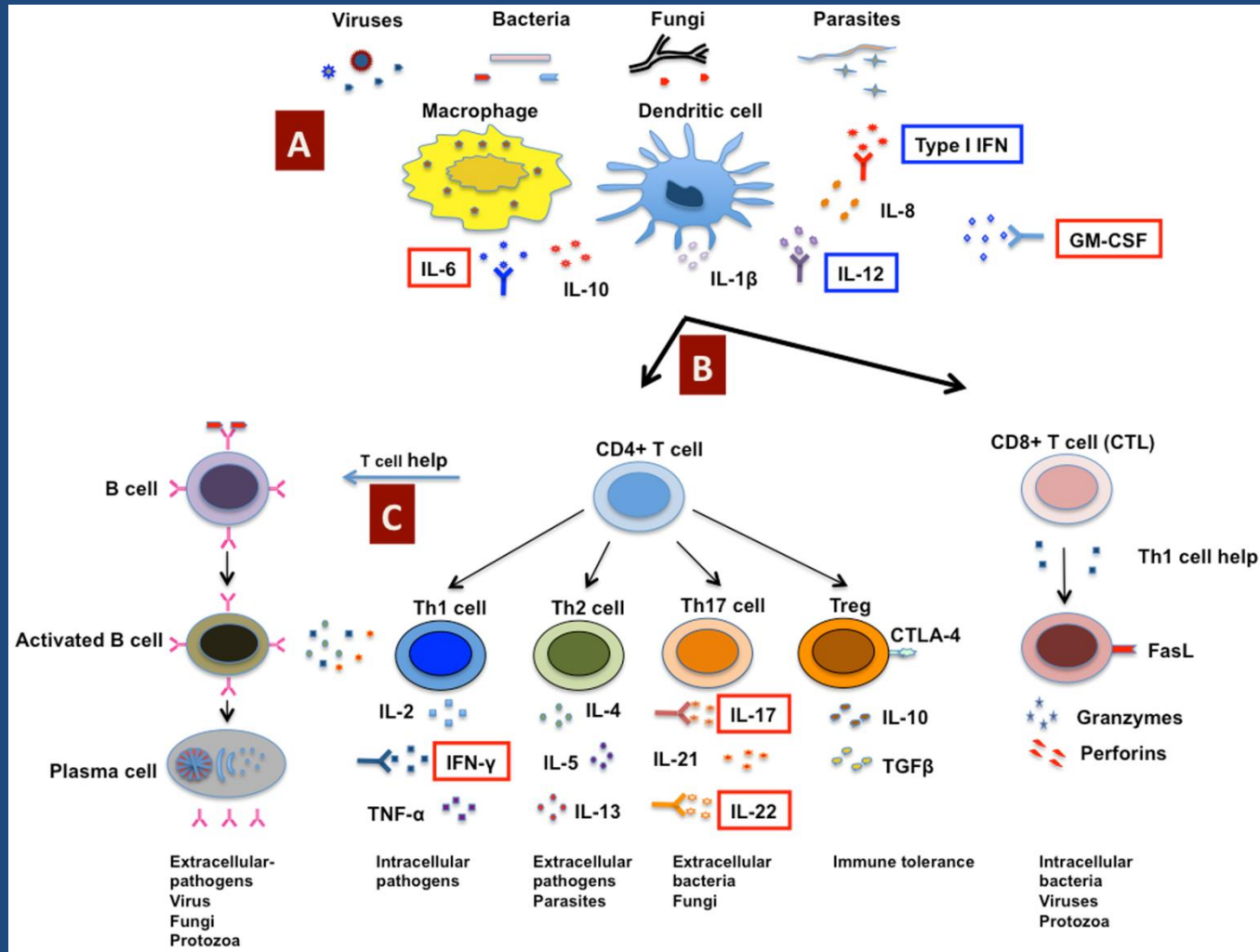
DNA dizileri sağlıklı kişi, homozigot olgu (1M) ve heterozigot sağlıklı kişi olarak sıralanmıştır.

Ekzon 6'da (C→T) erken dur kodonu (Q295X) kodlar.



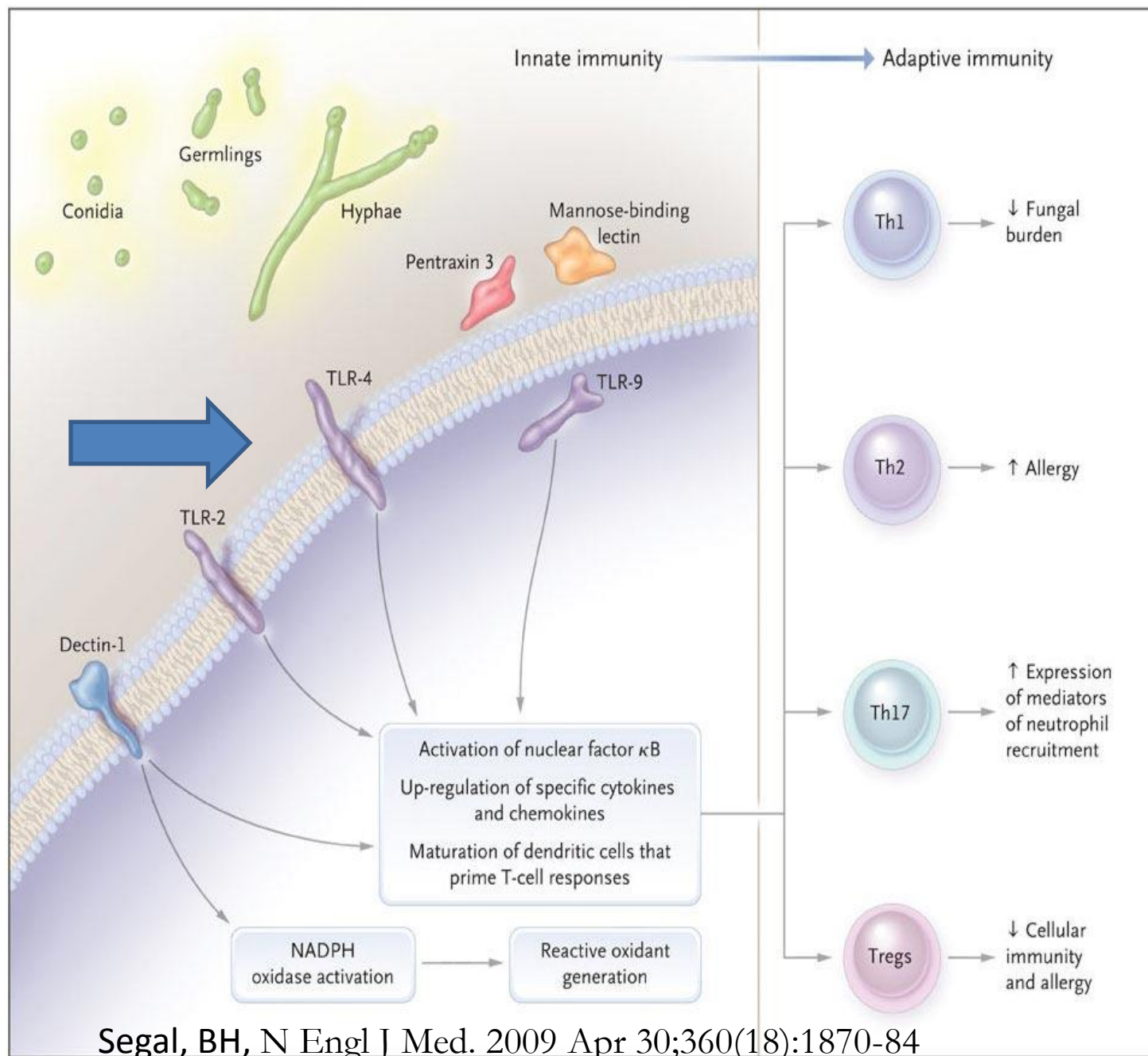
Glocke EO, et al. **A Homozygous *CARD9* Mutation in a Family with Susceptibility to Fungal Infections.** N Engl J Med 2009; 361:1727-1735.

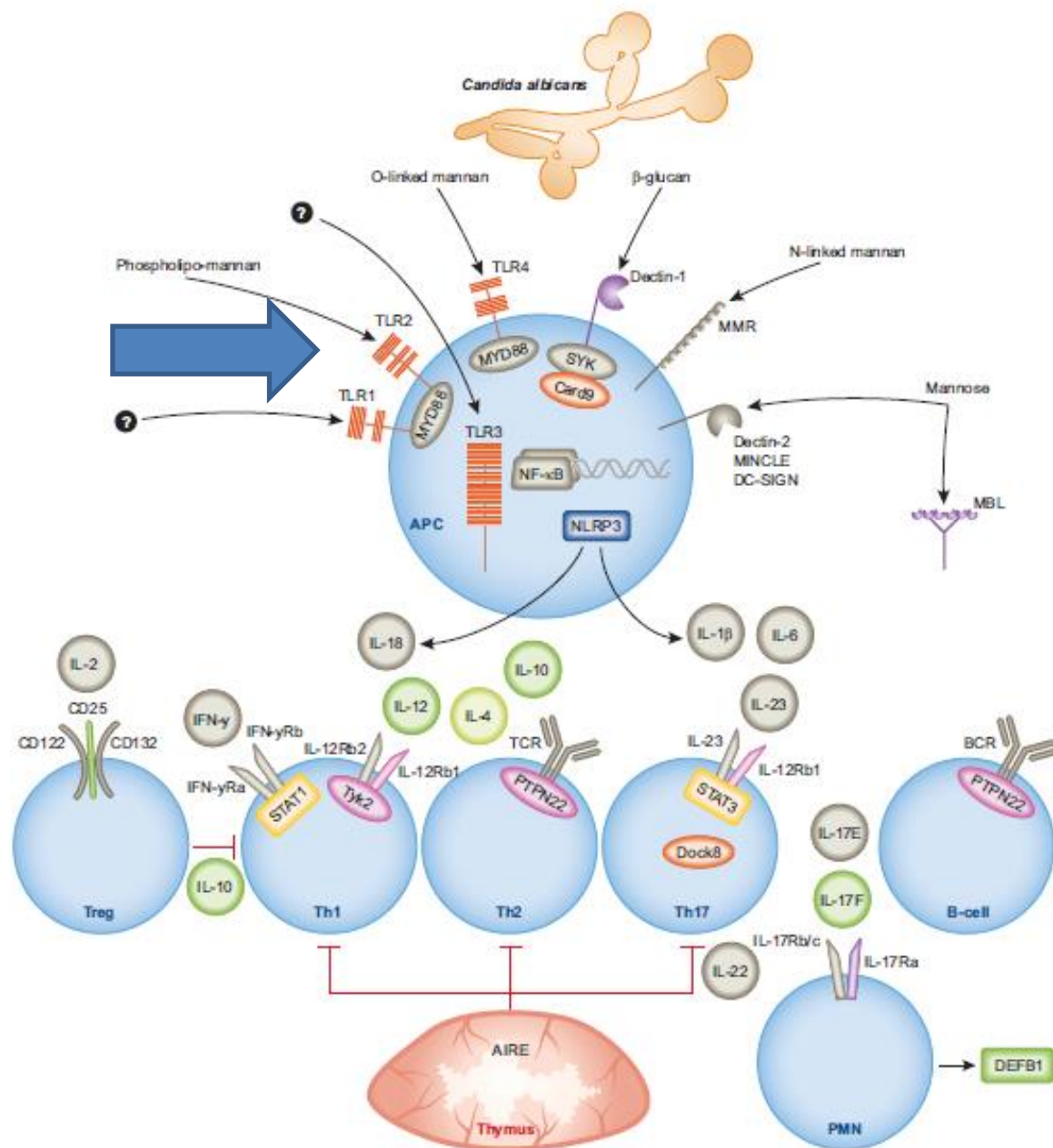
IL-17 ve mantar infeksiyonlarındaki rolü



IL-17 ve mantar infeksiyonlarındaki rolü

- IL-17 hasarlı farelerde ciddi özofagus kandidozu görülür
- T_H17 farklılaşmasında bozukluk olan farelerde VVK görülür
- T_H17 fonksiyonu bozuk kişilerde KMK görülür
- IL-12 sinyal hasarı ve *CARD9* mutasyonu birlikte olan kişilerde KMK ve düşük T_H17 düzeyleri görülür





Toll like receptors (TLRs)

“Toll” benzeri reseptörler

- Myelomonositik hücreler
- Endotel hücreler
- Epitel hücreler
- Transmembran proteinleridir
- Patojene özgül moleküler patern (PAMPs) tanır
- Karaciğer, plasenta, uterus hücreleri, trofoblastlarda

TLRs ve mantar infeksiyonları

- Yenidoğan deney hayvanlarındaki kandidozda önemli
 - İnsanlarda ?
- TLR2 ve TLR4 bozuklukları sistemik infeksiyona eğilimi artırır
- TLRs hasarlı kişilerde,
 - Azalmış nötrofil kemotaksisi
 - Düşük TNF- α serum düzeyleri

TLRs için hücre içi sinyal

- Myeloid farklılaşma primer cevap geni 88 (*MYD88*)
- *MyD88*-adaptör benzeri (MAL)
- IFN- γ uyaran TIR parçası içeren protein (TRIF)
- TRIF-ilşkili adaptör molekül (TRAM)

TLR aşıları

- TLR7/8 agonistleri (imiquimod ve resiquimod) viral infeksiyonlar için aşı olarak kullanılmıştır
- BCG aşısı TLRs uyarımı yapar
- *Haemophilus influenza* tip b aşısı TLRs uyarımı yapar

GELECEK ??

- Genetik farklılıklar gösterilebilir mi ?
- Genetik farklılıklara göre tedavi yapılabilir mi ?
 - İmmüno genetik profil invaziv mantar infeksiyonu için risk faktörü müdür ?
- Mantarlara karşı aşı geliştirilmesi mümkün müdür ?

GELECEK ??

- Genetik farklılıklar gösterilebilir mi ?
 - EVET
- Genetik farklılıklara göre tedavi yapılabilir mi ?
 - ???
 - IFN-gama tedavisi ???
- Mantarlara karşı aşı geliştirilmesi mümkün müdür ?
 - ????

Cunha C, et al. Immunogenetic profiling to predict risk of invasive fungal diseases: where are we now ? Immunol Invest 2011;40: 723-734.