

Leishmania'nın Konak İçerisindeki Sağkalım Stratejileri

Survival Strategies of Leishmania in Hosts

© Samiye Demir

Ege Üniversitesi Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Zooloji Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye

Cite this article as: Demir S. *Leishmania'nın Konak İçerisindeki Sağkalım Stratejileri*. Türkiye Parazitoloj Derg 2019;43(2):83-8.

ÖZ

Tüm büyük parazit gruplarında, konak bağışıklık sisteminden kaçınma mekanizmalarının inceliği, karmaşıklığı ve çeşitliliği konusunda her geçen gün yeni ve şaşırtıcı kanıtlar ortaya çıkmaktadır. Milyonlarca yıllık evrimsel süreçte memeli ve kum sineği konaklar *Leishmania*'ya karşı savunma sistemleri geliştirmiş buna karşın *Leishmania* da karmaşık karşı stratejiler sayesinde konaklarının savunma sistemlerinden kaçmakla kalmamış onları kendi yaşamını ve üremesini destekleyecek şekilde manipüle etmeyi de başarmıştır. Bu çalışmada *Leishmania*'nın kum sineği ve memeli konaklarında kullandığı hayatta kalma stratejileri ve son araştırmalar ışığında bu stratejilerin altında yatan mekanizmalar özetlenecektir.

Anahtar Kelimeler: *Leishmania*, kum sineği, sağkalım stratejileri, lipofosfoglycan

ABSTRACT

In all major parasite groups, new and surprising evidence is emerging every day about the subtlety, complexity and diversity of avoidance mechanisms from host immune system. In the course of millions of years of evolutionary process, mammalian and sand fly hosts have developed defense systems against *Leishmania*, but *Leishmania* has not only escaped from their hosts' defense systems through complex counter-strategies, but has also managed to manipulate them to support their own survival and reproduction. In this study, *Leishmania*'s survival strategies used in the sand fly and mammalian hosts and the mechanisms that underlie these strategies will be summarized.

Keywords: *Leishmania*, sand fly, survival strategies, lipophosphoglycan

GİRİŞ

Leishmania cinsi protozoonlar (Kinetoplastida: Trypanosomatidae) dünyada sıtmadan sonra en fazla ölüme neden olan parazitik hastalık, Leishmaniasis, etkeni zorunlu hücre içi parazitlerdir (1). Leishmaniasis insidansı, politik istikrarsızlık ve çatışmalardan kaynaklanan insan göçleri, önleyici ve tedaviye yönelik önlemlerin yetersiz kalması, gelişmekte olan ülkelerde ilaçlara dirençli parazitlerin ortaya çıkması ve küresel ısınma gibi sebeplerle son yıllarda önemli bir artış göstermiştir (2).

Bulaşması *Phlebotomine* kum sineği vektörün (Diptera: Psychodidae, Phlebotominae alt ailesi) sokması ile gerçekleşen (3) *Leishmania*'nın kum sineği sindirim sisteminde hücre dışı promastigot ve memeli makrofajlarında hücre içi amastigot olmak üzere iki farklı yaşam formu görülür. Bu yaşam formlarının

her biri, içinde bulunduğu konağa ve ortam şartlarına uygun fizyolojik, moleküler ve morfolojik adaptasyonlara sahip olacak şekilde evrimleşmiştir.

Leishmania'nın konakları içerisinde çoğalma ve başka konaklara bulaşma kabiliyeti büyük ölçüde konaklarının bağışıklık sisteminden kaçma yeteneğine bağlıdır. Konağın bağışıklık tepkisi ile parazitin karşı koyma stratejileri arasında devam eden savaş, nihayetinde hastalığın kaderini belirleyecektir (4). Leishmaniasis'e karşı henüz bir aşı geliştirilememiş olması (5) ve genom plastisitesi yüksek bir parazit olan *Leishmania*'nın tedavide kullanılan ilaçlara karşı hızlı bir şekilde direnç kazanmayı başarması (2) bu parazitin konakla etkileşim mekanizmalarının çok daha iyi araştırılması ve parazit yerine konağı hedef alan ilaçların geliştirilmesi gerekliliğini ortaya koymaktadır.



Geliş Tarihi/Received: 20.03.2019 Kabul Tarihi/Accepted: 28.03.2019

Yazar Adresi/Address for Correspondence: Dr. Samiye Demir, Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Zooloji Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye
Tel/Phone: +90 545 257 36 19 **E-Posta/E-mail:** demirsamiye@gmail.com **ORCID ID:** orcid.org/0000-0001-5997-5070

Leishmania-konak ilişkisi ve bu parazitin adaptif mekanizmaları konusunda yazılmış çok sayıda derleme mevcuttur (6-10). Bu makalede son araştırmalar ışığında *Leishmania*'nın konakları içerisinde yaşamda kalma ve üreme şansını arttırmak üzere geliştirdiği bazı adaptif özellikler ve kullandığı stratejiler özetlenecektir.

Leishmania Yüzey Molekülleri

Leishmania'nın konakları içerisinde hayatta kalma savaşında kullandığı en önemli silah hücre yüzey molekülleridir. Bu nedenle öncelikle bu moleküllerden kısaca bahsetmek gerekir. *Leishmania*'nın tüm hücre zarını kaplayan glikokaliks yapısı lipofosfoglikan (LPG), glikozilfosfatidilinositol (GPI) kancasıyla bağlanmış glikoproteinler, proteofosfoglikanlar (PPG) ve glikozilinositolfosfolipid (GIPL)'lerden meydana gelir ve türden türe ve yaşam döngüsündeki bir formdan diğerine büyük farklılıklar gösterir (11). Örneğin prosiklik promastigotlar 7 nm kalınlığında bir glikokaliksle çevriliyken metasiklik promastigot formda bu yapı en az 17 nm'dir (12). Hücre içerisindeki form olan amastigotlarda ise bu örtü neredeyse kaybolmuştur (13).

Leishmania promastigotlarının en baskın ve en büyük glikokaliks bileşeni LPG'dir ve parazitin yaşamda kalması ve konak bağışıklık cevabının düzenlenmesinde önemli bir role sahiptir (12). Kamçı yapısı da dahil tüm parazit yüzeyini kaplayan LPG bugüne kadar incelenmiş tüm *Leishmania* türlerinde bulunmuştur (14) ve temel olarak bir disakkarit ve bir fosfattan oluşan birimlerin tekrarlarından meydana gelmiştir. Bunlar hücre zarına GPI kancasıyla bağlanmışlardır (6). LPG'nin glikan yan zincirlerinin varlığı, bileşimi ve yerleşimi türden türe farklılık gösterir. Hem tür içi hem de türler arası LPG polimorfizmleri parazitin kum sineği bağırsak epiteline tutunup tutunmamasını belirler (14,15) ve dolayısıyla hangi *Leishmania* türlerinin hangi kum sineği içerisinde gelişimini tamamlayabileceği LPG'deki glukon yan zincirlerinin varlığı, bileşimi ve yerleşimine bağlı olarak değişiklik gösterir (6,16).

Bir diğer önemli yüzey molekülü, protein parçalayan bir enzim olan GP63'tür. Çinkoya bağlı bir metalloproteaz olan GP63 "*Leishmanolysin*" olarak da adlandırılır (6). *Trypanosoma* ve *Trichomonas*'da da bulunan bu molekül LPG'den 10 kat daha azdır ancak promastigot zarı boyunca dağılmıştır ve kısa bir molekül olduğundan dolayı LPG tarafından maskelenmiştir (6). Daha sonra ayrıntılı olarak açıklanacağı gibi GP63'ün memeli konağın vücudunda kompleman bağlanması, kompleman aracılı lizise karşı direnç, makrofaja tutunma ve makrofaj bağışıklık cevabının düzenlenmesi gibi önemli görevleri vardır.

Leishmania'nın hem amastigot hem de promastigot formunda bol bulunan yüzey molekülü GIPL'dir (17). LPG'den 10 kat daha fazla olmasına karşın küçük olduğundan parazit zarına daha yakın durur (6).

Dışarıya salgılanan asit fosfatazlar (sAP) ve yine dış ortama salgılanan müsin benzeri PPG'ler (PSG = promastigote secretory gel olarak da adlandırılır) da hem kum sineği hem de memeli konakta *Leishmania*'nın yaşamda kalmasını ve enfeksiyon gerçekleştirmesini destekler (16,17).

Leishmania'nın Kum Sineği Vücudu İçerisindeki Korunma Mekanizmaları

Peritrofik Zar

Leishmania ile enfekte bir konağı sokan kum sineği, kandaki makrofajlarla birlikte paraziti de sindirim boşluğuna içerisine almış

olur. Kum sineği midesinde yer alan epitel hücreleri peritrofik zar adı verilen yarı geçirgen kitinsî bir yapı salgılayarak kan besinini çevrelerler. Kum sineği barsağını mikroplardan ve aşınmadan koruduğu düşünülen bu zar aynı zamanda *Leishmania*'ya da sindirim enzimlerine dayanıklı promastigot forma dönüşmesi için zaman kazandırır (5). Kum sineğinin salgıladığı proteolitik enzimler sayesinde kan besini içerisindeki makrofajlarda yer alan parazitlerin yaklaşık %50'si ilk 6-12 saat içerisinde parçalanır (7). Geri kalan amastigot formlar ise sineğin nispeten daha düşük vücut sıcaklığı ve mide içerisindeki yüksek asiditenin tetikleyici etkisiyle kamçılı prosiklik promastigot formlara dönüşürler (5).

Kum Sineği Sindirim Enzimlerinin İnhibisyonu

Leishmania major gibi bazı türlerin *Phlebotomus papatasi* türü kum sineğinin sindirim enzimlerini inhibe etmek suretiyle kendine koruma sağladığı bildirilmiştir (18). *Leishmania*'nın ürettiği fosfoglikanlardan hücre dışına salgılanan bazılarının proteolitik enzimleri inhibe etmenin yanı sıra negatif yüklerinden dolayı sindirim enzimlerine karşı bir bariyer oluşturdukları da düşünülmektedir (7,16).

Kum Sineği Bağırsak Yüzeyine Tutunma ve Bağırsak Hareketini Engelleme

Kum sineği kan besinini sindirdikten sonra bir kitinaz salgılayarak peritrofik matriksi eritir ve dışarıya atar (5,7). Serbest kalan parazitlerin bir kısmı orta mide mikrovilluslarına tutunarak sindirim atıkları ile birlikte dışarıya atılmaktan korunurlar. Bu tutunma kamçı zarındaki LPG sayesinde gerçekleşir (19). LPG'nin bağlandığı reseptörün birçok kum sineği türünün midesinde şekere bağlanan lektin adlı protein grubu olabileceği bildirilmiştir (14). Bazı türlerde bağırsak epiteline tutunma LPG'den bağımsız olarak da gerçekleşebilir (7).

Leishmania major'un kum sineğinde bağırsak peristalsisini önleyecek bir miyo inhibitör peptid salgıladığı bildirilmiştir, mikrovilluslara tutunmayan parazitlerin bu sayede dışarı atılmaktan korunduğu düşünülmektedir (20).

Metasiklogenezis adı verilen bir süreçle enfektif metasiklik forma dönüşen parazitlerde LPG moleküllerinin boyları iki katına çıkar, yan zincirleri değişikliğe uğrar. Bunun sonucu olarak metasiklik promastigotlar tutundukları bölgeden ayrılır ve kum sineğinin ön bölgelerine doğru göç etmeye başlar.

Stomodeal Valv Hasarı ve PSG

Stomodeal valv sinekte kan emmeyi kontrol eden ve mide içeriğinin kan emme sırasında kusulmasını engelleme görevi gören bir yapıdır. *Leishmania*'nın salgıladığı kitinaz enzimi bu yapıya zarar verir (5). Parazit ayrıca salgıladığı ipliksi bir jel yapısında olan PSG yardımıyla bu bölgeyi tıkar ve oluşturduğu baskı nedeniyle stomodeal valvin sürekli açık kalmasına neden olur. Bu iki etki sayesinde parazit kum sineğinin kan emme sırasında mide içeriğini ve dolayısıyla parazitleri konak kanı içerisine kusmasını sağlar (5,7). PSG ile tıkanmış kum sineklerinin yeterli bir şekilde kan emmeyi başaramadıkları için daha fazla sayıda soktuğu ve bunun da parazitin bulaşma ihtimalini arttırdığı düşünülmektedir (21). Yapılan araştırmalar PSG'nin olgunlaşmamış prosiklik formların değil sadece enfektif metasiklik formların memeli konağa bulaştırılmasını sağlayan bir eleme mekanizması da oluşturabileceğini göstermektedir (14).

Leishmania'nın Memeli Konaktaki Korunma Mekanizmaları

Leishmania, konak içerisinde yaşamda kalıp çoğalabilmek için kompleman sistem moleküllerini etkisiz hale getirmek, bölgeye ilk ulaşan ve parazitleri fagosite eden nötrofillerin içerisinde hayatta kalmak, makrofaj hücrelerinin içerisine uygun bir şekilde alınmak ve bu hücrelerin içerisindeki parazit öldürücü mekanizmalardan korunmak ve beslenerek çoğalmak için çok çeşitli adaptasyonlar geliştirmiştir.

Kompleman Sistem Moleküllerinden Korunma

Kum sineği sokması ile memeli konağa bulaşan yaklaşık 100-200 metasiklik promastigottan sadece birkaç tanesi hayatta kalmayı başarır (12). Bunun sebebi konak savunma sisteminin ilk hattı olan kompleman sistem molekülleridir. Kompleman molekülleri kan ve doku sıvısında yer alan ve yabancı bir hücreyle karşılaştığı zaman sırayla aktive olarak bir sonraki basamaktaki molekülleri aktive eden 20'den fazla proteinden meydana gelmiş bir sistemin parçalarıdır. İşgalci hücreler zarlarında biriken bu moleküller sayesinde fagositler tarafından kolaylıkla tanınırlar (opsonizasyon) ve yok edilirler. Kompleman sistemin aktivasyonunun son basamağında, membran atak kompleksi (MAC) adı verilen bir yapı meydana gelir ve hücre zarında bir por oluşturarak parazit hücrenin lizise uğramasını sağlar. *Leishmania*, konak savunma sisteminin ilk hattı olan kompleman moleküllerinin yol açtığı bu lizisten korunmakla kalmaz aynı zamanda bu molekülleri makrofajlar tarafından daha iyi tanınabilmek için kullanır.

Enfektif olmayan promastigotlardan farklı olarak enfektif metasiklik formlar kompleman moleküllere karşı daha dayanıklıdır (22). Bunun sebebi metasiklik formlarda zar yüzeyindeki LPG'nin çok daha uzun olması ve membran atak kompleksinin hücre zarına tutunmasını engellemesidir (15). Diğer hücre yüzey molekülü GP63 ise kompleman sistem moleküllerinden biri olan kompleman reseptör (C3b)'yi inaktif form olan iC3b haline getirir (23). Böylece kompleman aracılı lizis gerçekleşemez.

Promastigotların büyük bir kısmı tüm bu savunma yöntemlerine rağmen kompleman moleküller tarafından öldürülür bu nedenle parazitin hızlı bir şekilde hücre içerisine girerek korunması gereklidir (8). *Leishmania* fagositik hücreler tarafından kolayca tanınabilmek için komplemanların sağladığı opsonizasyondan faydalanır. GP63'ün inaktif hale getirdiği iC3b tarafından opsonize edilmiş parazitleri fagosite eden makrofajlar oksidatif patlamayı tetiklemezler ve parazite zarar verme kapasiteleri daha azdır (10). iC3b aynı zamanda CR3'e bağlanır ve bu etkileşimin sonucu olarak interlökin-12 (IL-12) üretimi baskılandığından dolayı edinilmiş bağışıklık sistemi aktive olmaz (8).

Nötrofil Lökositlerin İçinde Gizlenme Stratejisi

Kum sineğinin memeli konağı soktuğu bölgeye ilk ulaşan hücreler nötrofillerdir (24,25). Nötrofiller *Leishmania* promastigotlarını fagosite ederler ancak parazit nötrofil içerisinde yaşamda kalmayı başarır ve hatta çoğalabilir (26). *Leishmania*'nın esas konak olan makrofajlara ulaşmak için bu hücreleri bir "Truva atı" gibi kullandığı öne sürülmüştür (27). Bu nedenle bu fagositik hücrelerin bölgeye hızlı bir şekilde göç etmesi *Leishmania* için önemlidir. Yapılan araştırmalar kum sineği tükürüğünün memeli konaktaki fagositik hücre göçünü üç kat arttırdığını ve *Leishmania*'nın salgıladığı PSG ile birlikte nötrofil ve makrofaj

gibi hücrelerin bölgeye toplanmasına, dolayısıyla *Leishmania* için başarılı bir enfeksiyonun gerçekleşmesine katkıda bulunduğunu göstermektedir (14,25).

Nötrofiller hücre dışı matriks içerisine DNA iskeleti üzerine bağlanmış mikrop öldürücü proteinlerin yer aldığı "nötrofil hücre dışı tuzakları" (NETs = Neutrophil Extracellular Traps) salgılayarak patojeleri yakalar, yayılmalarını önler ve bazı durumlarda öldürürler (26). *Leishmania mexicana* ve *Leishmania donovani* promastigotlarının zar yüzeyindeki LPG sayesinde (28), *L. infantum* ve *Leishmania major*'un ise salgıladıkları nükleazlar ve kum sineği tükürüğündeki endonükleazlar sayesinde (29) NET'lere karşı dayanıklı oldukları bildirilmiştir.

Nötrofillerin ömrü normal şartlarda çok kısadır ve bu nedenle *Leishmania* için elverişli bir konak değildirler (30) ancak *Leishmania* ile enfekte olanların 24 saate kadar daha uzun yaşadığı bildirilmiştir (31). Bu durumun *Leishmania*'nın makrofajlara ulaşmak için zaman kazanma amaçlı gerçekleştirdiği bir manipülasyondan kaynaklandığı düşünülmektedir (8,30). Bir süre sonra apoptotik hale gelmeye başlayan nötrofiller makrofajlar tarafından tanınarak fagosite edilir ve bağışıklık sistemini baskılayan bir cevabı tetikler (32). Böylece parazitler esas konakları içerisine "sessizce" girmeyi başarabilir.

Makrofaj İçerisine Giriş Yolları

Promastigotların salgıladığı bazı eksozomlar makrofajların paraziti fagosite etme şeklini manipüle eder (33). Kan sıvısında serbest halde bulunan promastigotların kamçısı da makrofajlarla etkileşime girerek fagositozu kolaylaştırır, nitekim kamçı hareketi deneysel olarak inhibe edilen *Leishmania donovani* promastigotlarının makrofajların içerisine giremediği görülmüştür (9).

Leishmania makrofaj zarındaki belli bazı reseptörlere bağlanarak enflamasyonu ve öldürücü süperoksit patlamasını inhibe edecek giriş yolları kullanır. Örneğin parazit LPG'si konak hücre zarındaki fibronektin reseptörüne (34), GP63 ise mannoz-fukoz reseptörüne bağlanır (35). Promastigotlar daha sonra kolesterolce zengin membran lipid mikrobölgelerinden oluşan zar çöküntüleri aracılığıyla hücre içine alınırlar. Bu bölgelerin oluşumu enfektif *Leishmania*'nın aktive ettiği konağa ait asit sifingomiyelaz enzimi sayesinde daha da artırılır (36). Enfeksiyonun ilerleyen dönemlerinde ise bu enzim lipid mikrobölgelerinin bozulmasına ve dolayısıyla antijen sunumunu zayıflatarak parazitin korunmasına yardımcı olur (36,9).

Fagolizom Oluşumunun Geciktirilmesi

Makrofaj içerisine giren promastigotlar fagozom adı verilen kesecikler içinde yer alır, bir süre sonra bu kesecikler lizozomlarla kaynaşır ve makrofajın en önemli mikrop öldürücü bölgesi, fagolizom meydana gelir. *Leishmania*'nın promastigot formu daha sonra oluşacak olan amastigotların aksine buradaki asidik ve hidrolazlarca zengin ortama karşı dayanıksızdır bu nedenle fagozom-lizozom kaynaşması daha dayanıklı amastigotlar meydana gelinceye kadar *Leishmania* türüne göre değişebilen yöntemlerle inhibe edilir (37). Bu gecikmede parazit yüzey molekülü LPG büyük rol oynar ve fagozom zarının yapısını bozarak lizozom gibi diğer organel zarlarıyla kaynaşmasını zorlaştırır (38) ayrıca perifagozomal F-aktin adlı molekülün birikimine neden olarak fagozomdaki veziküler trafiği önleyen bir bariyer oluşturur (25) böylece fagozomun asidik hale gelmesi önlenmiş olur. LPG, hem NADPH'ye bağlı oksidazların fagozom

zarına toplanmasını önler hem de direkt olarak bu reaktif bileşenleri parçalar (8). Parazit yüzey metalloproteinaz GP63 de miR-494'ün sentezlenmesini baskılayarak fagozomda Rab5a ifadesini arttırmak suretiyle lizozom kaynaşmasını engeller (39). Asidik pH'ye dayanıklı amastigot form oluştuktan sonra parazit zarındaki LPG molekülü miktarı azalır. Amastigotların çoğalmaları ve kendilerine özgü genleri ifade etmeleri için bu ortam gereklidir. Bu nedenle yeni makrofajları enfekte eden amastigotlar fagolizozom oluşumunu geciktirmezler (12).

Makrofaj İçerisindeki Öldürücü Moleküllerden Korunma

Konak hücre içerisinde *Leishmania*'ya karşı etkili hücre silahları arasında reaktif oksijen türevleri (ROS) ve nitrojen türevleri (RNS) vardır. Parazit, oksidatif stres sonucu ölmekten kurtulmak için bir şekilde bu ürünlerin oluşumunu engellemeli veya nötralize etmelidir.

Leishmania donovani (*L. donovani*) ve *Leishmania major* (*L. major*) promastigotları, zarlarındaki GP63 sayesinde konağın VAMP8 adlı proteinini parçalar. Bu molekül nikotinamid adenin dinükleotit fosfat (NADPH) oksidazın fagozoma doğru yönlendirilmesi için gereklidir. Bu nedenle fagozom zarında NADPH oksidaz kompleksi oluşamaz ve parazitofor vakuolde ROS meydana gelemez (40).

Leishmania glikokaliks bileşenlerinden GIPL ise parazit amastigot formu için önemlidir; makrofajın indüklenebilir nitrik oksit sentaz (iNOS) ifadesini baskılar ve NO üretimini engeller (41).

TLR Sinyal Yoluna Müdahale Etme

Toll benzeri reseptörler (TLR) işgalci patojene ait protein ya da nükleik asit parçalarını tanıyan molekulardır. TLR'ler yabancı molekülü tanıyan tanımayan enflamatuvar sitokinlerin üretilmesini sağlayan nükleer faktör-kappa B (NF-kB) ve interferon-düzenleyici faktörler (IRF) gibi farklı transkripsiyon faktörlerini aktive ederler (42). Parazitin farklı TLR'lerle ilk etkileşimi, enfeksiyonun sonucunu belirler (4).

Leishmania'nın TLR sinyali yolunu çeşitli yollarla etkilemek suretiyle pro-enflamatuvar gen ifadesini önlediği bildirilmiştir (8). Örneğin *Leishmania major*, SOCS-1 ve SOCS-3 gibi sitokin sinyali proteinlerini baskılayarak TLR2 ile tetiklenen sitokin uyarımını engeller (43). *Leishmania* LPG'si protein kinaz C (PKC)'yi inhibe eder (17), ve ERK (Extra cellular signal regulated kinase)'yi indükler (44), böylece iNOS ve IL-12 üretimini düşürür. Parazitin Tumor necrosis factor receptor-associated factor (TRAF3) parçalanmasını inhibe ederek TLR4'e bağlı enflamatuvar cevabı da engellediği bilinmektedir (45). *Leishmania* serin proteaz inhibitörleri (ISP) salgılayarak konağın nötrofil elastaz enzimini inhibe eder ve bu yolla TLR4 aktivasyonunu engeller (9). ISP'ler ayrıca konağın PKR adlı protein kinazının aktivasyonunu önlemek suretiyle de makrofajların uyarılmasını engeller (9).

Sitokin ve Kemokin Salınımı Etkileme

Sitokinler hücreler arası sinyal alışverişinde rol oynayan molekulardır. *Leishmania*'ya dirençli makrofaj ve dendritik hücreler IL-12 adlı bir sitokin üretirler (8). Bu sitokin, T hücrelerinin Th1 (CD4+ T helper 1) hücreleri haline olgunlaşmasını ve gamma interferon (IFN- γ) üretimini sağlar. IFN- γ güçlü bir makrofaj aktive edici sitokindir. Makrofajlar IFN- γ ile aktive edildiklerinde nitrik oksit (NO), reaktif oksijen türevleri (ROS) ve hidrolitik lizozomal enzimlerin salınması dahil olmak

üzere bir dizi işlevsel değişikliğe uğrar (46) ve hücre içindeki parazitleri etkili bir şekilde yok edebilir (47). Makrofajlar Th2 (CD4+ T helper 2) hücrelerinin ürettiği IL-4, IL-13, IL-10 gibi sitokinlerle alternatif olarak aktive edildiklerinde ise *Leishmania* konak hücre içerisinde hayatta kalabilir (48).

Leishmania etkili bir bağışıklık cevabının aktive olmasını bir dizi sitokin üretilmesini engellemek suretiyle önlemektedir. Örneğin *L. major* promastigotları, enfekte ettikleri makrofajların IL-12 üretimini inhibe ederken IL-10 ve Tumor Growth Factor-beta (TGF- β) üretimini arttırmışlardır. (49). *L. donovani* ve *L. amazonensis* türlerinde eksozom salgılayıcı veya enflamatuvar bağışıklık cevabı genlerinin mikroRNA-aracılı post-transkripsiyonal düzenlemesi gibi ilave mekanizmaların varlığı da bildirilmiştir (28).

Leishmania'nın konağın immün cevabını Th2 fenotipe doğru yönlendirdiği öne sürülmüş olsa da, bu Th1/Th2 polarizasyonu sadece fare modellerinde gözlemlenmiştir ve insan hastalığına uyarlanmamaktadır (50). İnsanlarda enfektif türe bağlı olarak çok daha karmaşık ve çeşitlilik gösteren bir sitokin cevabı görülür (8,50).

Makrofajların Antijen Sunumunu Engelleme

Leishmania makrofajın mikrop öldürücü aktivitesini baskılayarak bir yandan da parazit antijenlerini bağışıklık sisteminin diğer bileşenlerine sunmasını da engeller. *L. donovani* enfeksiyonu sırasında makrofaj gen ifadesinin %40'ının baskılandığı, bir kısmının ise uyarıldığı bildirilmiştir (51). *L. donovani* hücre dışı kesecikler aracılığıyla da majör histokompatibilite kompleksi II (MHC-II) ifadesini engellemektedir (52). Ayrıca makrofaj hücre zarındaki kolesterol miktarını azaltarak zarı daha akışkan hale getirdiği ve böylece yüzey MHC-II peptid komplekslerinin T hücre reseptörüne bağlanmasını zorlaştırdığı da bildirilmiştir (53).

SONUÇ

Oldukça karmaşık ve özelleşmiş bir parazit olan *Leishmania* yaşamda kalabilmek için konaklarının bağışıklık sistemi ile çok farklı seviyelerde etkileşim içerisine girer. *Leishmania* araştırmalarında son birkaç yılda çok fazla ilerleme kaydedilmiş olmasına rağmen, bu alanda keşfedilecek çok şey vardır. Elimizdeki bilgiler enfekte eden parazit türüne ve enfeksiyon modeline bağlı olarak zaman zaman çelişkili ve dağınık da olsa bugün parazit hücre ölümünü yönetebildiğini, fagolizozomun olgunlaşma sürecini etkileyebildiğini, konak hücrenin sitokin ve kemokin üretimini değiştirebildiğini ve hücre fonksiyonlarını bozabildiğini biliyoruz.

İlginç bir şekilde *Leishmania*'nın konak hücreyi yeniden programlamak suretiyle immün cevabı değiştirdiği bilinmesine rağmen bu önemli etkilerden faydalanarak parazit yerine konağı hedef alan daha az toksik ve daha etkili antimikrobiyal tedavi geliştirme çabaları henüz çok yetersizdir (2). Bu tip ilaçlara örnek olarak bir immün cevap düzenleyicisi olan ve viral deri enfeksiyonları için kullanılan Imiquimod verilebilir. Bu bileşik *Leishmania*'ya karşı direkt toksik etki göstermese de makrofajların da dahil olduğu bir dizi bağışıklık sistem hücrelerini aktive ederek lokal bir immün reaksiyona yol açmaktadır (54). Imiquimod'un iNOS geninin ifadesini arttırdığı ve böylece makrofajlardan NO salgılanmasını sağladığı bildirilmiştir (54). Naloxonazine adlı ilaç ise parazitofor vakuol asitliğini arttıran proton pompası vATPazların ifadesini artırarak *Leishmania* parazitlerini öldürmektedir (55).

Leishmania enfeksiyonlarının etkili bir şekilde önlenmesi için bu parazitin başarısının altında yatan immünolojik mekanizmaların çok iyi araştırılması gereklidir. *Leishmania*'nın konakla karşılıklı etkileşim yollarını daha iyi anlamaya yönelik çalışmalar arttıkça tedavi için yeni hedeflerin belirlenmesinde ve makrofajların mikrop öldürücü ve immün fonksiyonlarını daha iyi yerine getirmesini sağlayacak yaklaşımların geliştirilmesinde ilerleme sağlanacaktır.

KAYNAKLAR

- Chiragkumar JG, Jimishaben DK. Review on Leishmaniasis. *Biomed J Sci & Tech Res* 2017;1:5.
- Lamotte S, Späth GF, Rachidi N, Prina E. The enemy within: Targeting host-parasite interaction for antileishmanial drug discovery. *PLoS Negl Trop Dis* 2017;11:e0005480.
- Cetin H, Ozbel Y. Sand Flies and Their Control Methods. *Turkiye Parazit Derg* 2017; 41:102-13.
- Gupta G, Oghumu S, Satoşkar AR. Mechanisms of immune evasion in leishmaniasis. *Adv Appl Microbiol* 2013;82:155-84.
- Dostálová A, Volf P. Leishmania development in sand flies: parasite-vector interactions overview. *Parasit Vectors* 2012;5:276.
- Olivier M, Gregory DJ, Forget G. Subversion mechanisms by which *Leishmania* parasites can escape the host immune response: a signaling point of view. *Clin Microbiol Rev* 2005;18:293-305.
- Ramallo-Ortigao M, Saraiva EM, & Traub-Csekö YM. Sand fly-*Leishmania* interactions: long relationships are not necessarily easy. *Open Parasitol J* 2010;4:195-204.
- Cecílio P, Pérez-Cabezas B, Santarém N, Maciel J, Rodrigues V, Cordeiro da Silva A. Deception and manipulation: the arms of leishmania, a successful parasite. *Front Immunol* 2014;5:480.
- Podinovskaia M, Descoteaux A. *Leishmania* and the macrophage: a multifaceted interaction. *Future Microbiol* 2015;10:111-29.
- Santos-Mateus D, Passero F, Rodrigues A, Valério-Bolas A, Silva-Pedrosa R, Pereira M, et al. The battle between *Leishmania* and the host immune system at a glance. *Int Trend Immun* 2016;4:28.
- Naderer T, Vince JE, McConville MJ. Surface determinants of *Leishmania* parasites and their role in infectivity in the mammalian host. *Curr Mol Med* 2004;4:649-65.
- Matlashewski G. *Leishmania* Infection and Macrophage Function. In: Farrell J.P (editors). *Leishmania*. World Class Parasites, vol 4. Springer, Boston, MA. 2002.p.105-13.
- Pimenta PF, Saraiva EM, Sacks DL. The comparative fine structure and surface glycoconjugate expression of three life stages of *Leishmania* major. *Exp Parasitol* 1991;72:191-204.
- Sainz de la Maza MO. *Leishmaniasis* transmission biology: Role of Promastigote Secretory Gel as a transmission determinant. (dissertation), London School of Hygiene & Tropical Medicine 2014.
- Sacks DL, Pimenta PF, McConville MJ, Schneider P, Turco SJ. Stage-specific binding of *Leishmania* donovani to the sand fly vector midgut is regulated by conformational changes in the abundant surface lipophosphoglycan. *J Exp Med* 1995;181:685-97.
- Sacks D, Kamhawi S. Molecular aspects of parasite-vector and vector-host interactions in leishmaniasis. *Annu Rev Microbiol* 2001;55:453-83.
- Descoteaux A, Turco SJ. Glycoconjugates in *Leishmania* infectivity. *Biochim Biophys Acta* 1999 Oct 8;1455:341-52.
- Schlein Y, Jacobson RL. Resistance of *Phlebotomus papatasi* to infection with *Leishmania* donovani is modulated by components of the infective bloodmeal. *Parasitology* 1998;117:467-73.
- Warburg A, Tesh RB, McMahon-Pratt D. Studies on the attachment of *Leishmania* flagella to sand fly midgut epithelium. *J Protozool* 1989;36:613-7.
- Vaidyanathan R. *Leishmania* parasites (Kinetoplastida: Trypanosomatidae) reversibly inhibit visceral muscle contractions in hemimetabolous and holometabolous insects. *J Invertebr Pathol* 2004;87:123-8.
- Killick-Kendrick R, Leaney AJ, Ready PD, Molyneux DH. *Leishmania* in phlebotomid sandflies. IV. The transmission of *Leishmania mexicana amazonensis* to hamsters by the bite of experimentally infected *Lutzomyia longipalpis*. *Proc R Soc Lond B Biol Sci* 1977;196:105-15.
- Puentes SM, Sacks DL, da Silva RP, Joiner KA. Complement binding by two developmental stages of *Leishmania* major promastigotes varying in expression of a surface lipophosphoglycan. *J Exp Med* 1988;167:887-902.
- Brittingham A, Mosser D. Exploitation of the complement system by *Leishmania* promastigotes. *Parasitol Today* 1996;12:444-7.
- Peters NC, Egen JG, Secundino N, Debrabant A, Kimblin N., Kamhawi S, et al. In vivo imaging reveals an essential role for neutrophils in leishmaniasis transmitted by sand flies. *Science*. 2008 Aug 15;321:970-4.
- Séguin O, Descoteaux A. *Leishmania*, the phagosome, and host responses: The journey of a parasite. *Cell Immunol* 2016;309:1-6.
- Regli IB, Passelli K, Hurrell BP, Tacchini-Cottier F. Survival Mechanisms Used by Some *Leishmania* Species to Escape Neutrophil Killing. *Front Immunol* 2017;8:1558.
- van Zandbergen G, Klinger M, Mueller A, Dannenberg S, Gebert A, Solbach W, et al. Cutting edge: neutrophil granulocyte serves as a vector for *Leishmania* entry into macrophages. *J Immunol* 2004;173:6521-5.
- Martínez-López M, Soto M, Iborra S, Sancho D. *Leishmania* Hijacks Myeloid Cells for Immune Escape. *Front Microbiol* 2018;9:883.
- Chagas AC, Oliveira F, Debrabant A, Valenzuela JG, Ribeiro JM, Calvo E. Lundep, a sand fly salivary endonuclease increases *Leishmania* parasite survival in neutrophils and inhibits XlIa contact activation in human plasma. *PLoS Pathog* 2014;10:e1003923.
- Aga E, Katschinski DM, van Zandbergen G, Laufs H, Hansen B, Müller K, et al. Inhibition of the spontaneous apoptosis of neutrophil granulocytes by the intracellular parasite *Leishmania* major. *J Immunol* 2002;169:898-905.
- Geering B, Simon HU. Peculiarities of cell death mechanisms in neutrophils. *Cell Death Differ* 2011;18:1457-69.
- Ribeiro-Gomes FL, Peters NC, Debrabant A, Sacks DL. Efficient capture of infected neutrophils by dendritic cells in the skin inhibits the early anti-leishmania response. *PLoS Pathog* 2012;8:e1002536.
- Silverman JM, Reiner NE. Exosomes and other microvesicles in infection biology: organelles with unanticipated phenotypes. *Cell Microbiol* 2011;13:1-9.
- Rizvi FS, Ouaisi MA, Marty B, Santoro F, Capron A. The major surface protein of *Leishmania* promastigotes is a fibronectin-like molecule. *Eur J Immunol* 1988;18:473-6.
- Brittingham A, Chen G, McGwire BS, Chang KP, Mosser DM. Interaction of *Leishmania* gp63 with cellular receptors for fibronectin. *Infect Immun* 1999;67:4477-84.
- Majumder S, Dey R, Bhattacharjee S, Rub A, Gupta G, Bhattacharyya Majumdar S, et al. *Leishmania*-induced biphasic ceramide generation in macrophages is crucial for uptake and survival of the parasite. *J Infect Dis* 2012;205:1607-16.
- Rodriguez NE, Gaur U, Wilson ME. Role of caveolae in *Leishmania* chagasi phagocytosis and intracellular survival in macrophages. *Cell Microbiol* 2006;8:1106-20.
- Kaneshiro ES, Gottlieb M, Dwyer DM. Cell surface origin of antigens shed by *Leishmania* donovani during growth in axenic culture. *Infect Immun* 1982;37:558-67.
- Verma JK, Rastogi R, Mukhopadhyay A. *Leishmania* donovani resides in modified early endosomes by upregulating Rab5a expression via the downregulation of miR-494. *PLoS Pathog* 2017;13:e1006459.
- Matheoud D, Moradin N, Bellemare-Pelletier A, Shio MT, Hong WJ, Olivier M, et al. *Leishmania* evades host immunity by inhibiting antigen cross-presentation through direct cleavage of the SNARE VAMP8. *Cell Host Microbe* 2013;14:15-25.

41. Proudfoot L, Nikolaev AV, Feng GJ, Wei WQ, Ferguson MA, Brimacombe JS et al. Regulation of the expression of nitric oxide synthase and leishmanicidal activity by glycoconjugates of Leishmania lipophosphoglycan in murine macrophages. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996;93:10984-9.
42. Broz P, Monack DM. Newly described pattern recognition receptors team up against intracellular pathogens. *Nat Rev Immunol* 2013;13:551-65.
43. de Veer MJ, Curtis JM, Baldwin TM, DiDonato JA, Sexton A, McConville MJ, et al. MyD88 is essential for clearance of Leishmania major: possible role for lipophosphoglycan and Toll-like receptor 2 signaling. *Eur J Immunol*.2003;33:2822-31.
44. Delgado-Domínguez J, González-Aguilar H, Aguirre-García M, Gutiérrez-Kobeh L, Berzunza-Cruz M, Ruiz-Remigio A, et al. Leishmania mexicana lipophosphoglycan differentially regulates PKC α -induced oxidative burst in macrophages of BALB/c and C57BL/6 mice. *Parasite Immunol* 2010;32:440-9.
45. Gupta P, Giri J, Srivastav S, Chande AG, Mukhopadhyaya R, Das PK, et al. Leishmania donovani targets tumor necrosis factor receptor-associated factor (TRAF) 3 for impairing TLR4-mediated host response. *FASEB J* 2014;28:1756-68.
46. Bogdan C, Rölinghoff M. How do protozoan parasites survive inside macrophages? *Parasitol Today* 1999;15:22-8.
47. Diaz-Gandarilla JA, Osorio-Trujillo C, Hernandez-Ramirez VI , Talamas-Rohana P. PPAR activation induces M1 macrophage polarization via cPLA(2)- COX-inhibition, activating ROS production against Leishmania mexicana. *Biomed Res Int* 2013; Article ID: 215283.
48. Kropf P, Fuentes JM, Fahrnich E, Arpa L, Herath S, Weber V, et al. Arginase and polyamine synthesis are key factors in the regulation of experimental leishmaniasis in vivo. *FASEB J* 2005;19:1000-2.
49. Carrera L, Gazzinelli RT, Badolato R, Hieny S, Muller W, Kuhn R et al. Leishmania promastigotes selectively inhibit interleukin 12 induction in bone marrow-derived macrophages from susceptible and resistant mice. *J Exp Med* 1996;183:515-26.
50. Nylen S, Gautam S. Immunological perspectives of leishmaniasis. *J Glob Infect Dis.* 2010;2:135-46.
51. Buates S, Matlashewski G. General suppression of macrophage gene expression during Leishmania donovani infection. *J Immunol* 2001;166:3416-22.
52. Silverman JM, Clos J, de'oliveira CC, Shirvani O, Fang Y, Wang C, et al. An exosome-based secretion pathway is responsible for protein export from Leishmania and communication with macrophages. *J Cell Sci* 2010;123:842-52.
53. Chakraborty D, Banerjee S, Sen A, Banerjee KK, Das P, Roy S. Leishmania donovani affects antigen presentation of macrophage by disrupting lipid rafts. *J Immunol* 2005;175:3214-24.
54. Buates S, Matlashewski G. Treatment of experimental leishmaniasis with the immunomodulators imiquimod and S-28463: efficacy and mode of action. *J Infect Dis* 1999;179:1485-94.
55. De Muylder G, Vanhollebeke B, Caljon G, Wolfe AR, McKerrow J, Dujardin JC. Naloxonazine, an Amastigote-Specific Compound, Affects Leishmania Parasites through Modulation of Host-Encoded Functions. *PLoS Negl Trop Dis* 2016;10:e0005234.