

**SITMAYA KARŞI CD8<sup>+</sup> VE CD4<sup>+</sup> T LENFOSİT YANITI****CD8<sup>+</sup> AND CD4<sup>+</sup> T LYMPHOCYTE RESPONSES AGAINST MALARIA****Salih KUK<sup>1</sup>**

**ÖZET:** *Plasmodium* türü protozoa tarafından oluşturulan sıtma enfeksiyonu günümüzde halen önemini koruyan bir halk sağlığı problemidir. Hastalığa karşı etkin bir aşının geliştirilememiş olması, parazitlerin ilaçlara karşı direnç geliştirmesi, sivrisineklerde insektisit direncinin gelişmesi, iklim ve çevresel değişiklikler, sağlık sistemlerindeki aksaklıklar ve eşlik eden diğer hastalıkların etkisiyle sıtma, dünyanın büyük bir kısmı için sorun olarak görülmektedir. Sıtmaya karşı etkin bir aşının elde edilmesinde ve ilaçlara karşı direnç çalışmalarında, parazite karşı konağın verdiği immün yanıtın çok iyi anlaşılması gerekmektedir. Konak, *Plasmodium*'lara karşı hümmoral ve hücresele birçok mekanizmayı kapsayan karmaşık bir yanıt oluşturmaktadır. CD8<sup>+</sup> T lenfositlerinin, sıtmaya karşı korunmada önemli rolü olduğunun anlaşılmasıyla, aşı geliştirme stratejilerinin birçoğu bu hücreler üzerinde yoğunlaşmıştır. CD8<sup>+</sup> T bellek hücre yanıtının gelişimi, CD4<sup>+</sup> T hücreleri ile ve interlökin (IL)-4, IL-7, IL-15 ve IL-2 gibi sitokinlerle yakından ilişkilidir. CD4<sup>+</sup> T lenfositleri ise; antikör üreten B hücrelerini aktive ederek parazitin ortadan kaldırılmasına katkıda bulunmak, CD8<sup>+</sup> T hücre yanıtının indüksiyonuna yardımcı olmak ve ürettikleri sitokinlerle doğal bağışıklığın fagositik ve parazitik aktivitesini artırmak suretiyle sıtmaya karşı immün yanıtta önemli rol oynamaktadırlar. Günümüze kadar CD8<sup>+</sup> ve CD4<sup>+</sup> T hücre yanıtının anlaşılması, bu mekanizmaların birbiriyle olan ilişkilerinin araştırılması ve bu yanıtta diğer faktörlerin katkılarının belirlenmesi ile ilgili çok sayıda araştırma yapılmasına rağmen, birçok konu hala aydınlatılmayı beklemektedir. Bu derleme yazıda, güncel literatür ışığında sıtmaya karşı CD8<sup>+</sup> ve CD4<sup>+</sup> T lenfosit yanıtının tartışılması amaçlanmıştır.

*Anahtar sözcükler:* Sıtma, *Plasmodium*, immün yanıt, CD8<sup>+</sup> T lenfosit, CD4<sup>+</sup> T lenfosit.

**ABSTRACT:** Malaria which is caused by protozoa of *Plasmodium* genus, is still a major health care problem especially in tropical and subtropical regions. The global burden of malaria is enormous and continues to grow. This has been attributed to the emergence of drug resistant *Plasmodium* strains, insecticide resistant *Anopheles* mosquito vectors, climatic and environmental changes, medico-social and economical malfunctions, presence of co-infections and the lack of an effective and safe malaria vaccine. Host response against malaria is multifactorial, including complicated mechanisms of humoral and cell-mediated immunity. CD8<sup>+</sup> T lymphocytes play a key role in protection against pre-erythrocytic stages of malaria. Hence, many vaccine strategies are focused on CD8<sup>+</sup> T cell response. The development and maintenance of memory CD8<sup>+</sup> T cell response are closely related to the CD4<sup>+</sup> T cells together with interleukin (IL)-4, IL-7, IL-15 and IL-2. CD4<sup>+</sup> T cells also play a triple role in the immune response to malaria

<sup>1</sup>Firat Üniversitesi Tıp Fakültesi, Parazitoloji Anabilim Dalı, Elazığ. (salihkuk@hotmail.com)

parasites; by activating B cells to produce high level of antimalarial antibodies, by enhancing the induction of CD8<sup>+</sup> T cell responses, and by inhibiting the development of liver stage parasites. Although it has been known much about CD8<sup>+</sup> T and CD4<sup>+</sup> T cell responses, cross-talking mechanisms of these cells, and other factors which contribute to this response during malaria so far, many questions also need to be answered in the future. In this review article, CD8<sup>+</sup> T and CD4<sup>+</sup> T cell responses to malaria infection have been discussed in the light of current literature.

*Key words: Malaria, Plasmodium, immune response, CD8<sup>+</sup> T lymphocyte, CD4<sup>+</sup> T lymphocyte.*

## GİRİŞ

Sıtma insanlık tarihinin en eski zamanlarından beri bilinen bir hastalıktır. Üç bin yıldan daha eski mumyaların dalaklarında muhtemelen sıtmaya bağlı büyümeler saptanmıştır. MÖ. 2700 yıllarına ait Mısır ve Çin yazılarında ölümcül dalak büyümesi ve dönemsel ateşten bahsedilmektedir. Savaşlar, göç hareketleri ve sosyo-ekonomik nedenler gibi pek çok faktöre bağlı olarak günümüze kadar önemini sürdüren sıtma, günümüzde de özellikle tropikal ve subtropikal bölgelerde yaygın olarak görülmektedir.

Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ)'nün tahminlerine göre dünyada her yıl 300-500 milyon kişi sıtmaya yakalanmaktadır. Özellikle Afrika'da genç çocuklarda ve gebelerde *Plasmodium falciparum*'a bağlı olarak her yıl 1-2 milyon kişi ölmektedir<sup>1</sup>. Son yapılan çalışmalarda, endemik bölgelerde ve Afrika'da bildirilen sıtma olgu sayılarının gerçeğin çok altında olduğu ifade edilmektedir. Afrika'da DSÖ'nün tahminlerinden %50 fazla, Afrika dışında ise %200 fazla klinik veren olgu bulunduğu, dünyada ise 2.2 milyar insanın *P.falciparum*'a maruz kaldığı düşünülmektedir<sup>2</sup>. Bu farklılıklara rağmen yine de sıtmanın dünya için çok büyük bir yük olduğu gerçeğinde hiçbir değişiklik bulunmamaktadır.

Evrimlerini omurgalı ve omurgasız iki konakta tamamlayan sıtma parazitleri için omurgasız konak, *Anopheles* cinsi sivrisineklerdir. Dişi sivrisinekte eşeyli olarak çoğalan parazit, insan vücudunda pre-eritrositik (karaciğer dönemi) ve eşeysiz eritrositik (kan dönemi) dönemlerinden geçmektedir. Sıtma, insanlarda hafif ateşli bir hastalık tablosundan hayatı tehdit eden organ yetmezliklerine kadar uzanan değişken bir klinik tablo oluşturmaktadır. Çok sayıda (>156) *Plasmodium* türü bilinmesine karşın bunların dört tanesi (*P.vivax*, *P.ovale*, *P.malaria*, *P.falciparum*) insanları enfekte etmektedir. *P.vivax* ve *P.falciparum* ise enfeksiyonların %95'inden sorumludur.

2002 yılında *P.falciparum* genomunun DNA dizi analizinin tamamlanmasıyla başlayan ümit verici duruma rağmen sıtma halen dünyada artmaya devam etmektedir. *P.falciparum* ve *P.vivax*'ta ilaç dirençlerinin ortaya çıkmasının yanı sıra, insektisitlere karşı da anofellerin direnç geliştirdiği saptanmıştır. Ayrıca etkin bir aşının henüz geliştirilmiş olmaması, hastalıkla mücadelede önemli zorluklar oluşturmaktadır<sup>3</sup>. Sıtmaya karşı etkili bir aşının elde edilmesinde ve ilaçlara karşı direnç çalışmalarında, parazite karşı konağın verdiği yanıtın çok iyi anlaşılması gerekmektedir. Konağın *Plasmodium*'lara karşı yanıtında, hümmoral

ve hücrel mekanizmalar ile birlikte birçok faktör rol oynamaktadır. Örneğin doğal bağışıklığın gelişmesi; konağın yaşı, beslenme durumu, eşlik eden enfeksiyonlar, gebelik durumu ve genetik yatkınlık gibi birçok faktöre bağlıdır. Karmaşık bir yaşam döngüsüne sahip olan parazitin türü kadar parazitin yaşam safhası da konak yanıtında önemlidir<sup>4</sup>.

Sıtmaya karşı CD8<sup>+</sup> ve CD4<sup>+</sup> T hücre yanıtlarının ayrıntılı olarak bilinmesi; konak-parazit ilişkisinin incelenmesi, konak yanıtının anlaşılması ve parazitle mücadelede karşılaşılan zorlukların aşılmasında önemli bir basamak oluşturmaktadır. Bu nedenle bu yazıda, sıtmaya karşı CD8<sup>+</sup> ve CD4<sup>+</sup> T hücre yanıtları ile ilgili olarak geçmişten günümüze dek yapılan çalışmalar gözden geçirilmesi ve ileriki yıllarda yönlenebilecek konuların belirtilmesi amaçlanmıştır.

### CD8<sup>+</sup> T HÜCRE YANITI

Günümüzde aşı geliştirme stratejilerinin çoğu, sıtmaya karşı korunmada anahtar rol oynayan CD8<sup>+</sup> T hücre yanıtı üzerine yoğunlaşmıştır. CD8<sup>+</sup> T hücre yanıtı ile ilgili deneysel modeller üzerinde yapılan araştırmalar sonucu elde edilen bulgular, sonraki aşamalarda insanlar üzerinde yapılan kısıtlı çalışmalar ile doğrulanmaya çalışılmıştır<sup>5</sup>.

Son 15 yılda yapılan çalışmalar, konakta parazit gelişiminin önlenmesinde CD8<sup>+</sup> T hücrelerinin önemli olduğunu göstermiştir. Radyasyona maruz bırakılmış sporozoitlerle yapılan immünizasyon ile, kemirici sıtma parazitlerinin "circumsporozoite" (CS) proteinine karşı özgül CD8<sup>+</sup> T hücre yanıtı oluşturulmuş ve bu yanıtta hedef epitoplara *P.berghei* için "SYIPSAEKI" (amino asit 252-260), *P.yoelii* için ise "SYVPSAEQI" (amino asit 280-288) olduğu bildirilmiştir<sup>6,7</sup>. Bu epitoplara tanımlanması sonucu, epitopa özgül CD8<sup>+</sup> T hücre klonları oluşturulmuş ve bu klonların in vivo antiparazitik çalışmalarda kullanılmıştır. Canlı sporozoitlerle immünizasyonu takiben CD8<sup>+</sup> T hücre klonlarının farelere verilmesiyle, sıtmanın karaciğerdeki gelişim dönemi özgül olarak inhibe edilmiş ve eritrositlerin enfekte olmadığı gösterilmiştir<sup>5</sup>.

Sporozoitler tarafından uyarılan CD8<sup>+</sup> T hücre yanıtı, düşük düzeyde olduğundan ancak çok hassas ex vivo yöntemlerle tespit edilebilmektedir. Bu durum, hücrel ve moleküler mekanizmaların araştırılmasında sorun oluşturmaktadır. Bu nedenle son yıllarda, T hücre reseptörü (TCR) alfa (V $\alpha$ 10) ve beta (V $\beta$ 8.1) genlerinin V(D)J segmentlerinin yeniden düzenlenmesi ile transgenik fareler oluşturulmuştur<sup>8</sup>. Transgenik farelerle yapılan bir çalışmada, naif CD8<sup>+</sup> T hücrelerinin; antijenin tanınmasından 24 saat içinde ortaya çıktığı, karaciğer döneminin gelişimini inhibe ettiği, üçüncü ve dördüncü günlerde en üst düzeye ulaştığı, 4-7. günlerde apoptotik kontraksiyon fazına geçtiği ve 15-20. günlerde stabilize olarak bellek hücrelerini oluşturduğu belirlenmiştir<sup>9</sup>.

Uygun CD8<sup>+</sup> T bellek hücre cevabının gelişimi, CD4<sup>+</sup> T hücreleri ve interlökin (IL)-4, IL-7, IL-15 ve IL-2 gibi sitokinlerle yakından ilişkilidir<sup>9</sup>. Parazite özgül CD8<sup>+</sup> T hücre proliferasyonunun sürdürülmesinde ve/veya aktivasyondan

sonra apoptotik hücre ölümünün önlenmesinde önemli role sahip IL-4'ün, IL-4R ile ilişkisinin, lenfoid dışı organlardaki CD8<sup>+</sup> T bellek hücrelerinin gelişiminde ve varlıklarının sürdürülmesinde önemli olduğu gösterilmiştir<sup>10</sup>. Bellek hücreleri oluşumu sırasında, virusların aksine IL-7 R $\alpha$  ekspresyonunda bir değişiklik olmaması sürpriz bir sonuç olarak bulunmuştur<sup>10</sup>. Kuffer hücreleri tarafından üretilen IL-15'in ise koruyucu immünitinin sürdürülmesinde önemli olduğu gösterilirken, IL-2'nin interferon (IFN)-gama ile birlikte sıtma aşısının takibinde kullanılabileceği belirtilmiştir<sup>9,11</sup>.

CD103, CD8<sup>+</sup> T hücre trafiğinde önemli bir integral komponenttir. Epitelyal hücrelere bağlanan CD103, aktive CD8<sup>+</sup> T hücrelerinde ve antijen sunan hücrelerde (APC) eksprese edilmektedir. Atenüe *P.yoelii* sporozoitleriyle yapılan iki immünizasyondan sonra, hem CD103 eksikliği olan farelerden hem de vahşi tip BALB/c farelerinden izole edilen CD8<sup>+</sup> T hücreleri, parazitin karaciğer dönemi gelişimini inhibe etmektedir. Bu farelerin karaciğerlerinde benzer sayıda aktif (CD44<sup>hi</sup>) CD8<sup>+</sup> T hücreleri bulunmasına rağmen, karaciğer döneminde CD103'ün özgül rolünün tam olarak anlaşılması gelecek çalışmaları beklemektedir.

CD8<sup>+</sup> T hücrelerinin etki mekanizması tam olarak bilinmemekle birlikte, IFN-gama, nitrik oksit (NO), perforin ve Fas'ın rol oynadığı düşünülmektedir. IFN-gama'nın, sıtmanın karaciğer döneminin gelişimini engellediği, NO, superoksit ve peroksinitrit gibi reaktif oksijen radikallerinin (ROS) ise parazitin eritrosit içi formlarını öldürdüğü ileri sürülmektedir<sup>11,12</sup>. Buna karşın, parazitin reaktif oksijen radikallerinden korunmasında hemoglobinin etkisi olduğu ve ayrıca parazitin kendisinin de bazı kaçış mekanizmalarına sahip olduğu ifade edilmektedir<sup>12</sup>. Parazit konak mücadelesinde, hemoglobin *Plasmodium*'u ROS'tan korurken, parazitin ROS'a karşı savunma mekanizmalarına sahip olması konak cevabından kaçışta önemli olmaktadır. Ayrıca perforin, Fas veya her ikisi eksik farelerde parazitin karaciğer döneminin gelişiminin inhibe edildiği gösterilmiştir<sup>13</sup>.

Parazitin yaşam döngüsünde önemli bir organ olan karaciğer ile CD8<sup>+</sup> T hücre ilişkisi hakkında pek çok soruya cevap aranmaktadır. Konak karaciğerine ulaşan parazitin öldürülme işleminin, enfekte hepatositler tarafından sunulan antijenin tanımlanmasını takiben mi olduğu yoksa daha genel bir anti-parazitik yanıtı takiben dentritik hücreler tarafından sunulmasına mı bağlı olduğu tartışmaları devam etmektedir. İmmün BALB/c ve C57Bl/6 farelerinden elde edilen dalak hücreleri ve CD8<sup>+</sup> T hücrelerinin, *P.berghei* ile enfekte hepatositleri elimine ettiği in vitro olarak gösterilmesine rağmen in vivo olarak gösterilememiştir. Ayrıca sporozoitlerle ilişkili Kupffer hücreleri ve sinüzoidal endotelial hücrelerin rolü bilinmemektedir. Yanıtlanması gereken bir diğer konu da, CD8<sup>+</sup> T hücrelerin enfekte hepatositlere göç sonucu mu yoksa periferik organlara trafiğinin sonucu olarak mı karaciğerde bulunduğudur.

Farelerde yapılan çalışmalarda, CD11c<sup>+</sup> hücrelerinin CD8<sup>+</sup> T hücre yanıtını ortaya çıkarmak için gerekli olduğu gösterilmiş, gönüllülerde yapılan çalışmalar ise, korumanın hem CD4<sup>+</sup> hem de CD8<sup>+</sup> T hücreleri tarafından üretilen CS'e özgül güçlü IFN-gama yanıtıyla ilişkili olduğunu ortaya koymuştur<sup>14</sup>. Endemik bölgelerde doğal olarak enfekte kişiler ve atenüe sporozoitler ya da

aşılarla immünize olan kişilerin varlığı, sıtma antijenlerine karşı immün yanıtın araştırılmasında klinik çalışmalar için zemin oluşturmaktadır. Bu çalışmalardan birinde, atenüe *P.falciparum* sporozoitleriyle immünize olan kişilerde, doğal olarak enfekte kişilerden daha fazla CD8<sup>+</sup> T hücre yanıtı elde edildiği bildirilmiştir<sup>15</sup>.

Sporozoitler vücuda girdiğinde, karaciğerde gelişimlerini tamamlamakta ve T hücre yanıtını uyarmaktadırlar. Cansız, ısı ile öldürülmüş ya da dondurulup ısıtılmış sporozoitler ile yapılan ilk çalışmalar, bunların yeterli koruma oluşturmadıklarını göstermiştir. Transgenik sistem kullanılarak yapılan son çalışmalarda da, ısı ile öldürülmüş sporozoitlerin radyasyon ile atenüe edilmiş sporozoitlerden daha az sayıda CD8<sup>+</sup> T hücre yanıtı oluşturduğu bildirilmiştir<sup>16</sup>. Bu bilgiler ışığında sıtmaya karşı aşı çalışmalarında etkinliği artırmak için, radyasyon ile atenüe sporozoitler ve genetik olarak atenüe sporozoitlerin kullanılabilirliği düşünülmüştür<sup>17</sup>.

Sıtmanın karaciğer döneminde oluşan immünolojik olayların anlaşılması çalışmalarında *P.yoelii* veya *P.berghei* CS proteininin bir epitopu yoğun olarak kullanılmıştır. CS proteini dışında *P.berghei* ve *P.yoelii*'de sıtmanın karaciğer dönemine özgül birçok antijen tanımlanmıştır. Bunlardan biri olan TRAP/SSP2 (Thrombospondin Anonymous Related Protein/Sporozoite Surface Protein 2) için özgül olan CD8<sup>+</sup> T hücrelerinin farelere nakledilmesi ile koruma sağlandığı, *P.yoelii* HEP17 (Hepatocyte Exported Protein 17) proteininin ise CD8<sup>+</sup> T hücreleri için hedef teşkil ettiği ortaya konmuştur<sup>18</sup>. Buna karşın son yıllarda *P.yoelii*'de tanımlanan iki epitopun [KYIFVLLL (amino asit 8-16) ve VFLNGQETL (amino asit 20-28)] CD8<sup>+</sup> T hücrelerinin hedefi olup olmadığı henüz bilinmemektedir<sup>19</sup>. Son teknolojik gelişmelerle birlikte PfTRAP, PfCSP ve PfLSA-3 gibi birçok epitop tanımlanmasına rağmen henüz bunların parazite karşı korumadaki rolü açıklığa kavuşmamıştır.

Sıtma patogenezinde beyin de, karaciğerin yanı sıra tutulan önemli organlardan olup, serebral sıtma, *P.falciparum*'a bağlı en ciddi komplikasyonlardan birisini teşkil etmektedir. Serebral sıtma patogenezinde birçok faktör rol oynamaktadır; bunların en önemlilerinden birisi de CD8<sup>+</sup> T hücreleridir. İnsanlarda, sıtmanın sporozoit ve karaciğer dönemi için özgül CD8<sup>+</sup> T hücre cevabı üzerine çalışmalar etik ve pratik sebeplerle geniş alanlarda yapılamamaktadır. Ancak şempanzelerde yapılan çalışmalar insanlarda sıtma enfeksiyonunun karşı CD8<sup>+</sup> T hücre yanıtının daha iyi anlaşılmasına yardımcı olmuştur<sup>20</sup>.

CD8<sup>+</sup> T hücrelerinin serebral sıtma modellerinde zararlı bir mediatör olabileceği rat ve farelerde gösterilmiştir. CD8<sup>+</sup> T hücrelerinin yanı sıra CD4<sup>+</sup> T hücreleri de sıtma patogenezinde gereklidir<sup>21</sup>. Bu iki hücrenin devreye giriş zamanlaması kritiktir. CD8<sup>+</sup> T hücreleri, nörolojik semptomların başlangıcından hemen önce etkin iken, CD4<sup>+</sup> T hücrelerinin CD8<sup>+</sup> T hücrelerinin hazırlanmasında ve devreye sokulmasında rolü olduğu düşünülmektedir<sup>21</sup>.

Serebral sıtmanın anlaşılmasında en önemli basamaklardan biri, CD8<sup>+</sup> T hücre karakterizasyonunun ve lenfosit trafiğinin belirlenmesidir. Bu amaçla yapılan çalışmalar sonucunda, beyindeki CD8<sup>+</sup> T hücrelerinin, CD62L<sup>lo</sup> fenotipine

her zaman, CD44<sup>hi</sup> fenotipine ise bazen sahip oldukları anlaşılmıştır. Kemokin reseptörü-5 (CCR5) ise beyindeki lenfositlerin hücre trafiğinde önemli ve düzenleyici rol oynamaktadır<sup>21,22</sup>. Enfekte farelerin kan ve beyinlerinde görülen TCR V $\beta$ 8 $\cdot$ 1 CD8<sup>+</sup> T hücrelerin proliferasyonu, özgül klonal genişlemenin bir göstergesi olmakla birlikte, CD8<sup>+</sup> T hücreleri kontrolsüz poliklonal genişlemeye gitmemektedir<sup>21</sup>. İlaveten nörolojik semptomlu farelerden elde edilen CD8<sup>+</sup> T hücrelerin enfekte olmayan farelere transferinin patolojik bir sonuç oluşturmaması parazit antijenlerine ihtiyaç olduğunu göstermiştir. Bu antijenlerin, TCR peptit ligandları, beyin endotelial hücreleri veya orijinal süper antijenler olabileceği düşünülmektedir. Bu çalışmalar doğrultusunda, lenfosit toksisitesinin ve lenfositlerin hücre içi trafiğinin serebral sıtmanın patogenezinde anahtar rol oynadığı görülmüştür.

İnsan serebral sıtmasının post-mortem histolojik çalışmalarında ise; lenfosit sekestrasyonu, demyelinizasyon ve kan beyin bariyerinin kırılması gibi sonuçlar elde edilmiştir<sup>23</sup>. Ancak fare serebral sıtma modellerinde bile, histolojinin CD8<sup>+</sup> T hücrelerini tespit etmedeki zorluğu nedeniyle bu hücrelerin serebral sıtmadaki rolü tam olarak anlaşılamamıştır<sup>21</sup>. Eğer CD8<sup>+</sup> T hücrelerinin insan serebral sıtma patogenezindeki önemi tam olarak gösterilebilirse tedavi ve korumada yeni kapılar açılması sağlanabilecektir.

### CD4<sup>+</sup> T HÜCRE YANITI

CD4<sup>+</sup> T hücrelerinin sıtmaya karşı immün cevapta üç önemli rolü vardır<sup>24</sup>: 1) antikor üreten B hücrelerine yardım ederek parazitin ortadan kaldırılmasına katkıda bulunmak, 2) CD8<sup>+</sup> T hücre yanıtının indüksiyonuna yardımcı olmak, 3) ürettikleri sitokinlerle doğal bağışıklığın fagositik ve parazitik aktivitesini artırmak. CD4<sup>+</sup> T hücreleri ile ilgili çalışmalarda, CD8<sup>+</sup> T hücreleriyle ilgili çalışmalardan daha fazla zorlukla karşılaşılmaktadır, zira CD4<sup>+</sup> T hücreleri tarafından tanınan epitoplar CD8<sup>+</sup> T hücrelerinkinden daha az sayıdadır ve sporozoit immünizasyonundan sonra CD4<sup>+</sup> T hücrelerini tespit edebilmek daha zordur<sup>25</sup>.

*Plasmodium* türleri deriden geçip kan ve lenf yoluyla hepatosit ve eritrositleri enfekte etmektedirler. Vücuda giren parazit veya parazitik ürünler dentritik hücreler (DH) tarafından alınarak antijen sunum yolu başlatılmakta ve T hücrelerine sunulmaktadır. Bu yolda DH'ler, antijenlerin alınması, işlenmesi ve T hücrelerine sunulmasında önemli rol oynamaktadır. DH'ler dışında monosit, makrofağ ve B hücreleri de antijen sunumunda görev almaktadırlar. Sistemik bir enfeksiyon olan sıtmada, antijen sunumunda en önemli organ dalaktır. Kan, periferik lenf nodları, akciğer ve karaciğer gibi organların antijen sunumuna katkısı hakkında çok az bilgi bulunmaktadır.

Bilindiği gibi antijenler, antijen sunan hücreler (ASH) tarafından makropinositoz, reseptör ilişkili endositoz veya fagositoz yoluyla alınabilmektedirler. Ancak enfekte eritrositlerin ve merozoitlerin tanınması ve alınması olayının kesin mekanizması tam olarak anlaşılamamıştır. Buna karşın *Plasmodium* ile enfekte eritrositlerin ve merozoitlerin, DH'ler ve makrofağlar tarafından fagosite edilmesi, antijen alımının kompleman ve antikorlar tarafından



artırılması, reseptör ile ilişkili yolun önemli olduğunu göstermektedir<sup>26,27</sup>. DH'ler ve makrofajlar, *P.yoelii*'yi ve *P.chabaudi* ile enfekte eritrositleri alıp peptitleri CD4<sup>+</sup> T hücrelerine sunabilmektedirler<sup>28</sup>. ASH'lerin üç tipi de (DH, makrofaj ve B hücreleri) *P.yoelii* enfeksiyonu sırasında aktive olmakla birlikte, farklı organlardaki ASH tiplerinin hangisinin antijen sunumunda daha etkin olduğu tespit edilmemiştir. Enfekte eritrositlerin ve merozoitlerin DH'ler ve makrofajlar tarafından fagositozu kolaylıkla açıklanabilmektedir. Ancak B hücreleri fagositoz yapmadıkları ve çözünebilir materyal olmadıkça antijenleri alamadıkları için farklı mekanizmalar kullanmak zorundadırlar. Bu mekanizmalarda yüzey immünglobulin (Ig)'leri önemli rol oynamaktadır. Enfekte eritrositler ve merozoitler ekstraselüler olarak kırılıp parçalanmakta, çözünür moleküller salınmakta ve bunlar özgül Ig reseptörleri aracılığıyla alınmaktadır.

*Plasmodium* enfeksiyonunda immün yanıtın başlangıcında, ASH olarak görev yapan DH'ler olgunlaştıktan sonra sekonder organlara göç etmekte ve o bölgelerde antijeni sunarak naif T hücrelerini uyarmaktadırlar. Olgunlaşmadaki temel sinyalin, "Toll-like receptor"ler (TLR) gibi patojen kaynaklı ürünler (pathogen-associated molecular patterns; PAMP) olduğu bilinmektedir<sup>29</sup>. DH'ler ayrıca proinflamatuvar sitokinler, ısı şok proteinleri ve doku hasarı ile de uyarılabilmektedir. Olgun DH'ler ise CD4<sup>+</sup> T hücrelerinin Th1 veya Th2 yönünde ilerlemesine etki etmektedir. Bu bilgiler günümüzde, direkt DC'leri hedefleyen antijenlerin *in vivo* olarak güvenli ve etkin bir şekilde kullanılabilirliğini ve bunun da uzun ömürlü humoral ve hücre sel yanıtı uyurabileceğini düşündürmektedir<sup>30</sup>.

Sıtma patogenezinde CD4<sup>+</sup> T hücreleri ile birlikte sitokin ve kemokinler de rol oynamaktadır. *P.chabaudi* ile enfekte eritrositler, uyarımı artırıcı moleküllerin ve kemik iliğinden kaynaklanan DH'ler üzerindeki MHC sınıf II antijenlerinin ekspresyonundaki artışı uyarmaktadır. Sonuç olarak IL-12, tümör nekrozis faktör (TNF)-alfa ve IL-6 gibi proinflamatuvar sitokinlerin üretimini artırarak naif T hücrelerinin Th1 yanıtına katkıda bulunmaktadır. Doğal öldürücü (NK) hücreler, gama-delta T hücreleri ve IFN-gama, paraziteminin kontrolünde rol oynamaktadır. Antikor uygulamasıyla TNF'nin nötralizasyonu sonucu parazitemi pikinde hafif bir artış olmakta ve letal *P.chabaudi* enfeksiyonu oluşmamaktadır. İnflamatuvar yanıt ise IL-10 ve TGF-beta tarafından regüle edilmektedir. TNF-alfa'nın da, antiparazitik etkisinin olduğu tahmin edilmektedir<sup>26</sup>.

Naif T hücrelerinin, ASH'lerin yüzeyindeki antijenle ilk karşılaşmaları sonrasında aktive olmaları ve klonal proliferasyona uğramaları "priming" olarak adlandırılmaktadır. Bu olay, sıtmanın anlaşılmasında önemli temel taşlardan birisidir. T hücre "priming"inin anlaşılmasında ise, sinyaller, peptit ve MHC ile T hücre reseptörleri arasındaki ilişkiler önemlidir. Enfeksiyonda, etkin T hücre "priming"i ve seçici sitokin üretimine yol açan kritik sinyaller, PAMP'den kaynaklanmaktadır. Günümüzde en iyi bilinen ve karakterize edilen PAMP, endotoksin yani lipopolisakkarit (LPS)'dir. T hücre "priming"i için önemli olan peptitler, ASH'lerin yüzeyinde oldukça kısa ömürlü olarak ortaya çıkmakta ve inokülasyondan 24 saat sonra ortadan kaybolmaktadır. Peptit ve LPS'nin birlikte

enjeksiyonu ise, birçok ASH'de bulunan TLR-4'ün sunum süresini artırarak peptit-MHC kompleksinin, dalak DH'lerinde (CD11b<sup>+</sup>CD11c<sup>+</sup>) 24 saat kadar bulunmasını sağlamaktadır. Adjuvant olarak LPS'lerin kullanımının, dalaktaki DH migrasyonuna etkisinin yanı sıra CD4<sup>+</sup> T hücre "priming"i üzerine de pozitif etkileri vardır. İntravenöz peptit ile stümüle edilmiş CD4<sup>+</sup> T hücreleri lenfoid ve diğer organlarda 11 gün sonra ortadan kalkarken hem LPS hem de peptit ile stümüle edilen T hücreleri tüm organlarda iki ay sonra kolaylıkla tespit edilebilmektedir<sup>31</sup>.

*Plasmodium* enfeksiyonunda özgül CD4<sup>+</sup> T hücrelerinin peptitleri bulması ve immün yanıtın oluşması kısa bir süre alırken, oluşan enfeksiyonun karaciğerde devam edebilmesi antijenin kalıcılığına bağlıdır. Antijen olarak *P.falciparum* ve onun ürünleri olan hemozoin ve glikozil-fosfatidil-inositol birçok TLR aracılığıyla immün sistem hücrelerini aktive etmektedir<sup>32</sup>. *Plasmodium*'lara bu ilk yanıt sonrasında kısa ömürlü bellek hücreleri oluşmaya başlamaktadır. Kısa ömürlü bu yanıtın, efektör veya CD4<sup>+</sup> T bellek hücre yanıtının yetersizliğinden mi, yoksa bellek B ya da plazma hücrelerindeki bozukluktan mı kaynaklandığı tam olarak bilinmemektedir<sup>24</sup>. Bu konudaki çalışmalar için en önemli kısıtlayıcı faktörler; CD4<sup>+</sup> T bellek ve efektör hücreleri arasında farklılığı gösterecek yüzey moleküllerinin eksikliği, bellek hücrelerinin fenotipik ve fonksiyonel olarak heterojen olması ve T hücrelerinin kaynağının periferik kan mononükleer hücreleri olmasıdır. CD4<sup>+</sup> T bellek hücrelerinin uzun ömürlü olmasında, başta IL-7 olmak üzere IL-15 ve henüz tam olarak tanımlanmayan bazı hemostatik faktörlerin de etkili olduğu ileri sürülmektedir<sup>26</sup>.

Birçok sıtma antijeni, immün ve antijene maruz kişilerde bellek yanıtını uyarmaktadır. Dolayısıyla sıtmaya karşı aşı çalışmalarının bir parçası olan bu moleküllerin bellek yanıtını başlatıp başlatamayacağını bilmek önem taşımaktadır. Ayrıca insanlarda sıtmaya karşı gelişen immünitede kusur bulunurken farelerde *P.chabaudi*'ye karşı immünitenin oluşması, immünitenin sanılandan daha karmaşık olduğunu düşündürmektedir<sup>33</sup>.

Tekrarlayan enfeksiyonda düşük parazitemi piki olmasına rağmen, T bellek hücreleri, T hücrelerinin reaktivasyonundan daha hızlı oluşmaktadır. Hem santral hem de efektör T bellek hücre alt tipleri, parazit varlığında iki ay kadar bulunabilmekte ve çok kolaylıkla tekrar aktive edilebilmektedirler. İnsanda tekrarlayan enfeksiyonlarda, immüniteye katkıda bulunabilen birçok sitokin oluşmaktadır. Özellikle IL-10, hastalıktan kaçışta sitokin dengesinin ayarlanmasında kritik bir rol oynamaktadır. İlk enfeksiyon uzadığında ise, IL-10 üreten pek çok T hücresi oluşmakta ve bunlar ikinci enfeksiyonda T hücre yanıtının pek çoğunu oluşturmaktadır<sup>34</sup>.

CD4<sup>+</sup> T hücre yanıtının insan kan örneklerinde ölçülmesinde çeşitli uyarıcılar kullanılmaktadır. Bunlardan birisi, *P.falciparum* biyolojisinde çok önemli bir molekül olan PfEMP-1 (*P.falciparum* erythrocyte membrane protein 1)'dir. Parazit yüzeyinde bulunan ve büyük değişkenlik gösteren PfEMP-1, sıtma ile enfekte insanların antikoruyla yardımıyla tanımlanmıştır. İmmün erişkinlerde PfEMP-1'e karşı oluşan antikor yanıtının koruyucu immünitenin kazanılmasında önemli



olabileceği düşünülmüştür<sup>35</sup>. PfEMP-1'in parçalarından biri olan ve CD36'ya bağlanan CIDR1-alfa, farklı PfEMP-1 molekülleri arasında kısmen korunmuş olup, konak hücrelere parazitin yapışmasında rol almaktadır. CIDR1-alfa, CD36'ya bağlanmasına rağmen DH yanıtının henüz CD36 ile ilgili olup olmadığı tam olarak bilinmemektedir.

Sıtmanın patogeneğinde önemli olan ve naif CD4<sup>+</sup> T hücreleri tarafından üretilen IFN-gama'nın üretim mekanizması, antijene maruz kalmış kişilerin yanıtından farklı olabilmektedir. Antijene maruz kalmamış kişilerde CIDR1-alfa, myeloid dentritik hücrelerden IL-12 ve IL-18 salınımını uyararak CD4<sup>+</sup> T hücrelerinden IFN-gama'yı özgül olmayan yolla indükleyebilmektedir. Bununla birlikte antijene maruz kalmış kişilerde hem CIDR1-alfa bağımlı proliferasyon hem de T hücreleri tarafından IFN-gama üretimi ASH'lerin MHC sınıf II antijenleri ile bellek hücrelerinin TCR'nün direk temasına bağlı bulunmaktadır.

Sonuç olarak, antimalaryal ilaçlara ve insektisitlere karşı direncin artması, etkin ve lisans almış bir aşının geliştirilememiş olması, dünya üzerindeki göçlerde ve seyahatlerde artışın olması ve sosyoekonomik koşulların giderek zorlaşması gibi nedenlerle sıtma, geçmişte olduğu kadar günümüzde de önemini koruyan bir hastalık olmaya devam etmektedir. Hastalıkla mücadelede, konağın sıtma parazitiğine karşı oluşturduğu immün yanıtın iyi bilinmesi büyük önem taşımaktadır. Günümüze kadar CD8<sup>+</sup> ve CD4<sup>+</sup> T hücre yanıtının aydınlatılması, bu yanıtın birbiriyle ilişkilerinin incelenmesi ve bu yanıtı diğer faktörlerin katkıları hakkında pek çok çalışma yapılmış olmasına rağmen, halen birçok soru açıklanmayı beklemektedir.

## TEŞEKKÜR

Katkılarından dolayı Johns Hopkins Üniversitesi'nden Dr. Fidel Zavala ve Fırat Üniversitesi'nden Dr. Şükrü Tonbak'a teşekkür ederim.

## KAYNAKLAR

1. Greenwood B, Mutabingwa T. Malaria in 2002. *Nature* 2002; 415: 670-2.
2. Snow RW, Guerra CA, Noor AM, Myint HY, Hay SI. The global distribution of clinical episodes of *Plasmodium falciparum* malaria. *Nature* 2005; 434: 214-7.
3. Good MF. Vaccine-induced immunity to malaria parasites and the need for novel strategies. *Trends Parasitol* 2005; 21: 29-34.
4. Fortin A, Stevenson MM, Gros P. Susceptibility to malaria as a complex trait: big pressure from a tiny creature. *Hum Mol Genet* 2002; 11: 2469-78.
5. Hafalla JC, Cockburn IA, Zavala F. Protective and pathogenic roles of CD8<sup>+</sup> T cells during malaria infection. *Parasite Immunol* 2006; 28: 15-24.
6. Romero P, Maryanski JL, Corradin G, Nussenzweig RS, Nussenzweig V, Zavala F. Cloned cytotoxic T cells recognize an epitope in the circumsporozoite protein and protect against malaria. *Nature* 1989; 341: 323-6.
7. Weiss WR, Berzofsky JA, Houghten RA, Sedegah M, Hollindale M, Hoffman SL. A T cell clone directed at the circumsporozoite protein which protects mice against both *Plasmodium yoelii* and *Plasmodium berghei*. *J Immunol* 1992; 149: 2103-9.
8. Sano G, Hafalla JC, Morrot A, Abe R, Lafaille JJ, Zavala F. Swift development of protective effector functions in naive CD8<sup>+</sup> T cells against malaria liver stages. *J Exp Med* 2001; 194: 173-80.

9. Morrot A, Zavala F. Regulation of the CD8+ T cell responses against *Plasmodium* liver stages in mice. *Int J Parasitol* 2004; 34: 1529-34.
10. Morrot A, Cockburn IA, Overstreet M, Rodriguez D, Zavala F. Protective CD8+ T cells induced by malaria sporozoites do not undergo modulation of interleukin-7 receptor expression. *Infect Immun* 2006; 74: 2495-7.
11. Bejon P, Keating S, Mwacharo J, et al. Early gamma interferon and interleukin-2 responses to vaccination predict the late resting memory in malaria-naive and malaria-exposed individuals. *Infect Immun* 2006; 74: 6331-8.
12. Stevenson MM, Riley EM. Innate immunity to malaria. *Nat Rev Immunol* 2004; 4: 169-80.
13. Morrot A, Zavala F. Effector and memory CD8+ T cells as seen in immunity to malaria. *Immunol Rev* 2004; 201: 291-303.
14. Sun P, Schwenk R, White K, et al. Protective immunity induced with malaria vaccine, RTS,S, is linked to *Plasmodium falciparum* circumsporozoite protein-specific CD4+ and CD8+ T cells producing IFN-gamma. *J Immunol* 2003; 171: 6961-7.
15. Doolan DL, Hoffman SL, Southwood S, et al. Dogenorate cytotoxic T-cell epitopes from *P.falciparum* restricted by multiple HLA-A and HLA-B supertype alleles. *Immunity* 1997; 7: 97-112.
16. Hafalla JC, Rai U, Morrot A, Bernal-Rubio D, Zavala F, Rodriguez A. Priming of CD8+ T cell responses following immunization with heat-killed *Plasmodium* sporozoites. *Eur J Immunol* 2006; 36: 1179-86.
17. Mueller AK, Labaied M, Kappe SH, Matuschewski K. Genetically modified *Plasmodium* parasites as a protective experimental malaria vaccine. *Nature* 2005; 433: 164-7.
18. Doolan DL, Sedegah M, Hedstrom RC, Hobart P, Charoenvit Y, Hoffman SL. Circumventing genetic restriction of protection against malaria with multigene DNA immunization: CD8+ cell-, interferon gamma-, and nitric oxide-dependent immunity. *J Exp Med* 1996; 183: 1739-46.
19. Hettihewa LM. Immunization of retrovirus-transfected dendritic cells induces specific cytotoxic T lymphocytes for two distinct malarial peptides presented by Kd molecule. *Int Immunopharmacol* 2003; 3: 1401-11.
20. Daubersies P, Thomas AW, Millet P, et al. Protection against *Plasmodium falciparum* malaria in chimpanzees by immunization with the conserved pre-erythrocytic liver-stage antigen 3. *Nat Med* 2000; 6: 1258-63.
21. Belnoue E, Kayibanda M, Vigario AM, et al. On the pathogenic role of brain-sequestered alphabeta CD8+ T cells in experimental cerebral malaria. *J Immunol* 2002; 169: 6369-75.
22. Belnoue E, Kayibanda M, Deschemin JC, et al. CCR5 deficiency decreases susceptibility to experimental cerebral malaria. *Blood* 2003; 101: 4253-9.
23. Brown HC, Chau TT, Mai NT, et al. Blood-brain barrier function in cerebral malaria and CNS infections in Vietnam. *Neurology* 2000; 55: 104-11.
24. Tsuji M, Zavala F. T cells as mediators of protective immunity against liver stages of *Plasmodium*. *Trends Parasitol* 2003; 19: 88-93.
25. Stephens R, Langhorne J. Priming of CD4+ T cells and development of CD4+ T cell memory; lessons for malaria. *Parasite Immunol* 2006; 28: 25-30.
26. Giribaldi T, Carta F, Mannu F, Arese P. Mechanisms of band 3 oxidation and clustering in the phagocytosis of *Plasmodium falciparum*-infected erythrocytes. *Redox Rep* 2003; 8: 300-3.
27. Kumaratilake L, Ferrante A, Jaeger T, Morris-Jones S. The role of complement, antibody, and tumor necrosis factor alpha in the killing of *Plasmodium falciparum* by the monocytic cell line THP-1. *Infect Immun* 1997; 65: 5342-5.
28. Perry J, Rush A, Wilson R, Olver C, Avery A. Dendritic cells from malaria-infected mice are fully functional APC. *J Immunol* 2004; 172: 475-82.

29. Manickasingham SP, Edwards AD, Schulz O, Reis e Sousa C. The ability of murine dendritic cell subsets to direct T helper cell differentiation is dependent on microbial signals. *Eur J Immunol* 2003; 33: 101-7.
30. Boscardin SB, Hafalla JC, Masilamani RF, et al. Antigen targeting to dendritic cells elicits long-lived T cell help for antibody responses. *J Exp Med* 2006; 203: 599-606.
31. Reinhardt RL, Khoruts A, Merica R, Zell T, Jenkins MK. Visualizing the generation of memory CD4 T cells in the whole body. *Nature* 2001; 410: 101-5.
32. Coban C, Ishii KJ, Kawai T, et al. Toll-like receptor 9 mediates innate immune activation by the malaria pigment hemozoin. *J Exp Med* 2005; 201: 19-25.
33. Stephens R, Albano FR, Quin S, et al. Malaria-specific transgenic CD4(+) T cells protect immunodeficient mice from lethal infection and demonstrate requirement for a protective threshold of antibody production for parasite clearance. *Blood* 2005; 106: 1676-84.
34. Li C, Sanni LA, Omer F, Riley E, Langhorne J. Pathology of *Plasmodium chabaudi chabaudi* infection and mortality in interleukin-10-deficient mice are ameliorated by anti-tumor necrosis factor alpha and exacerbated by anti-transforming growth factor beta antibodies. *Infect Immun* 2003; 71: 4850-6.
35. Bull PC, Lowe BS, Kortok M, Molyneux CS, Newbold CI, Marsh K. Parasite antigens on the infected red cell surface are targets for naturally acquired immunity to malaria. *Nat Med* 1998; 4: 358-60.