



MİKROBİYOTALARDA ANAEROP ÜSTÜNLÜĞÜ

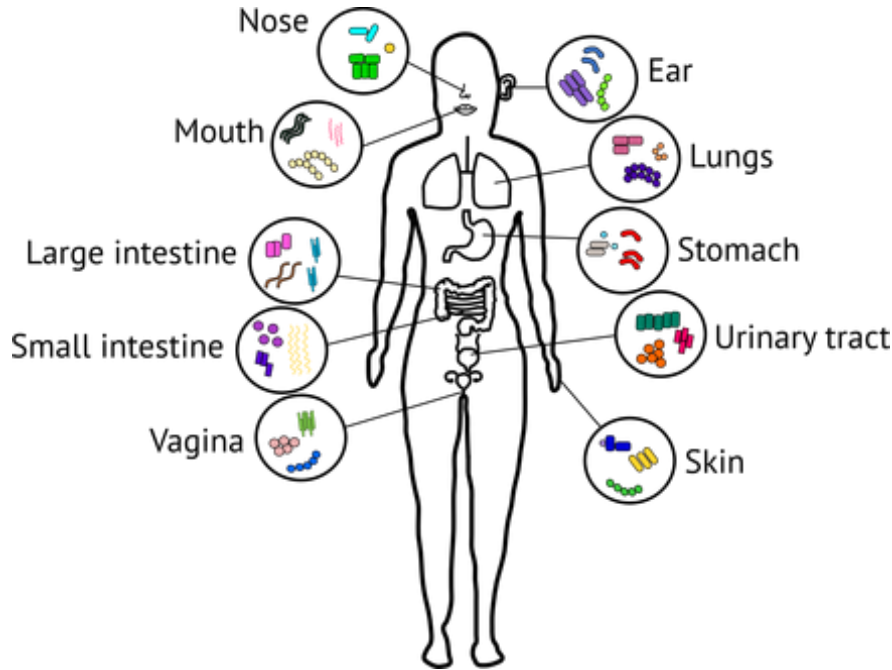
Dr. Ferda TUNÇKANAT

Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi

Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

Mikrobiyota

İnsan vücudunun özellikle belirli bölgelerinde yerleşmiş kommensal mikroorganizma topluluklarıdır . Bakterilerin yanı sıra *Archaea*, mikro-ökaryotlar ve virüsleri de kapsar



Anaeroplardan zengin bölgeler

- Ağız
- Bağırsak
- Vajina
- Deri

Mikrobiyom



Kalıcı mikroorganizma topluluklarının gen ve gen ürünleri (RNA, proteinler, metabolitler) de dahil olmak üzere tümü

- İnsan Mikrobiyom Projesi (Human Microbiome Project; HMP)- ABD
- İnsan İntestinal Sistem Metagenomiği (Metagenomics of the Human Intestinal Tract; MetaHIT)- Avrupa Komisyonu

Uluslar arası İnsan Genom Konsorsiyumu

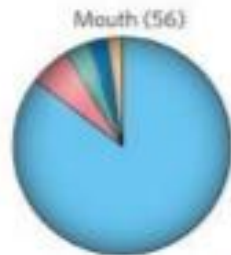
Diğer genomumuz !

- $\sim 10^{14}$ mikroorganizma (10X insan nücre sayısı)
- İnsan genomundan milyonlarca daha fazla gen içerir (250X)
- İnsan mikrobiyomunun %99'u bakteri kökenli; bunun dışında kalanların da çoğunluğu *Archea* kökenli. Genlerin ancak %0,1'i ökaryot ve virüslere ait (MetaHIT projesi sonuçları)

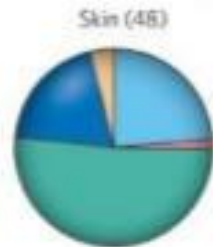
Bacterial phyla have specific site-distribution in healthy humans

Certain types for specific site of the body different from other sites

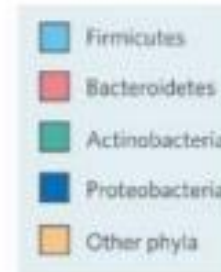
MOUTH



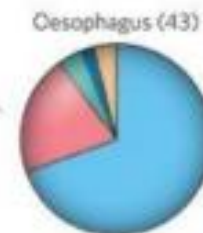
SKIN



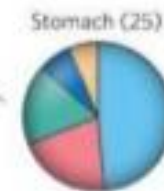
COLON



ESOPHAGUS



STOMACH

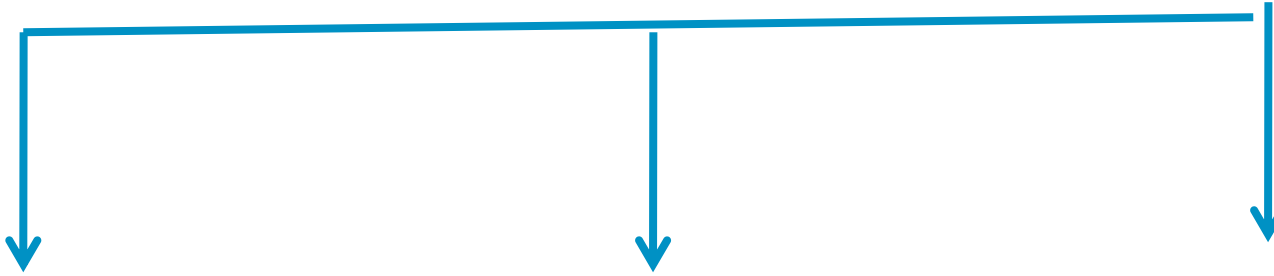


VAGINA



Firmicutes

Gram pozitif hücre duvarına sahip. Laktik asit bakterileri, anerop ve aerop sporlu basiller, anaerop gram pozitif kokların yer aldığı grup .



Clostidiales

Clostridium

Anaerop gram pozitif
koklar

Veillonella

Lactobacillales

Streptococcus

Lactobacillus

Leuconostoc

Bacillales

Staphylococcus

Listeria

Bacillus

Sporosarcina

Bacteroidetes

Başlıca 4 takım içerisinde sınıflandırılan, 700 den fazla tanımlanmış tür içeren, gram negatif anaerop basilleri kapsar



Bacteroidales

Bacteroides

Prevotella

Porphyromonas

Cytophagales

Cytophaga

Flavobacteriales

Sphingobacteriales

Actinobacteria

Bu şubede gram pozitif ince uzun, filamantöz basiller yer alır



Actinomycetales

*Actinomyces**

Nocardia

*Corynebacterium**

*Propionibacterium**

Mycobacterium

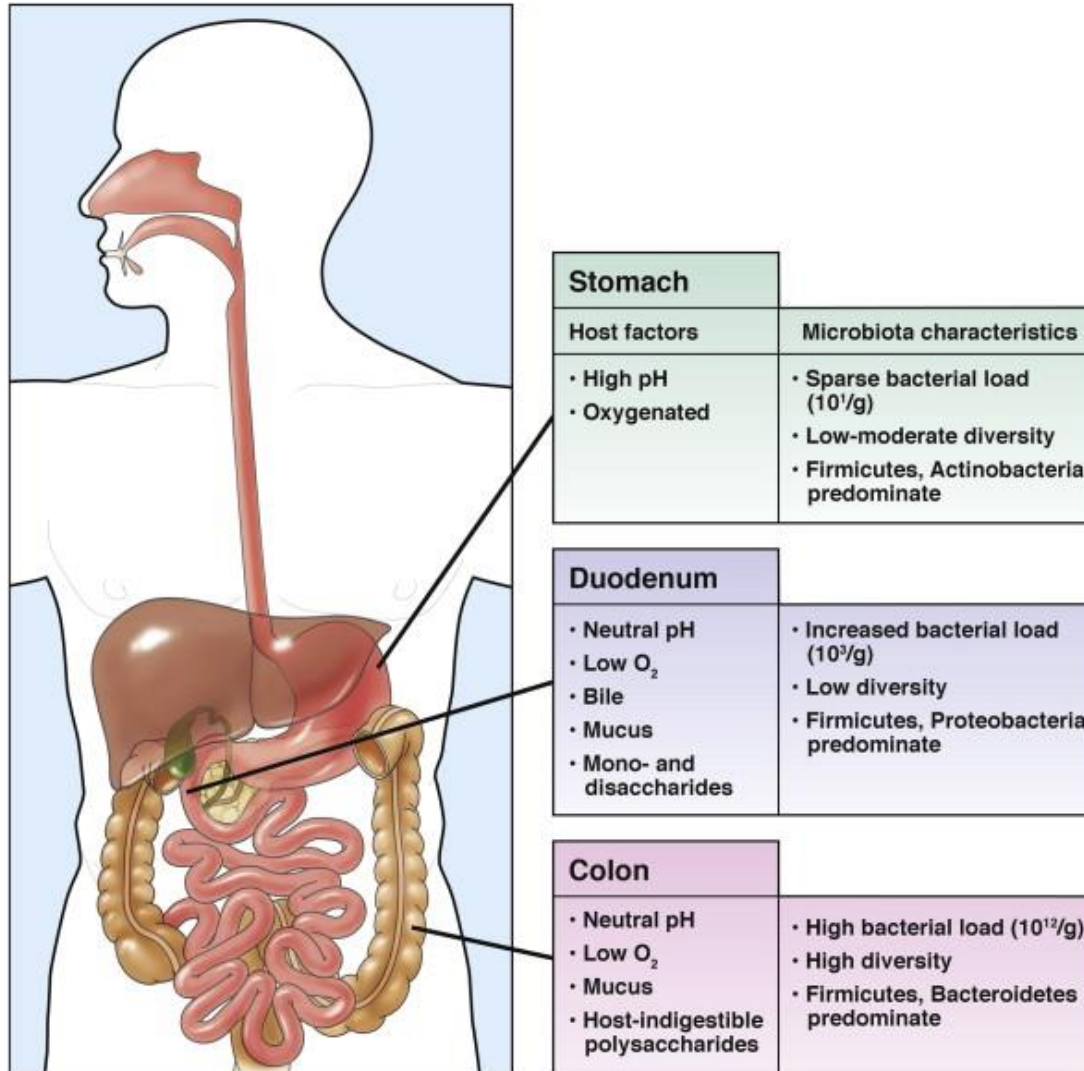
Proteobacteria

Gram negatif , en geniş ve metabolik açıdan en çok çeşitlilik gösteren gruptur.
16SrRNA gen sekans çalışmaları ile altı sınıfa ayrılmıştır.

- *Alphaproteobacteria*: Bin kadar tür yer alır. Fonksiyonel açıdan ileri çeşitlilik gösterir (*Rickettsia, Wolbachia, Brucella, Bartonella.....*)
- *Betaproteobacteria*: Beşyüz kadar tür yer alır (*Neisseria, Burkholderia...*)
- *Gammaproteobacteria*: En geniş ve en fazla çeşitlilik gösteren grup (*Enterobacteriaceae, Pseudomonas, Vibrio, Pasteurella, Legionella..*)
- *Deltaproteobacteria*: Sülfat ve sülfür indirgeyen bakteriler
- *Epsilonproteobacteria*: *Campylobacter, Helicobacter, Wolinella...*
- *Zetaproteobacteria*: Tek tür yer alır

GİS mikrobiyotası

Proksimalden distale, bakteri sayısı ve çeşitliliği artar



GİS mikrobiyotası

Ösefagus

- Proksimal ve orta kısımda tükürük ve besinlerle taşınan bakteriler, mayalar
- Distalinde – Streptokoklar başta olmak üzere *Firmicutes* şubesine ait bakteriler (16SrRNA çalışmaları).

Çeşitliliğin artması → patolojik durumu yansıtır*

Gram negatif anaeroplara ↑ → LPS (endotoksin) e maruziyet → inflamatuvar değişiklikler (özefajit, Barrett ösefagusu)

GİS mikrobiyotası

Mide

- Gastrik asidite, aktif peristaltizm, nispeten yüksek Eh, safra varlığı bakterilerin yerleşmesini büyük ölçüde engeller
- Yemeklerden sonra sayıca artar $10^3-10^6 / \text{ml}$
- *Helicobacter pylori**, *Firmicutes* şubesine ait belirli bakteriler (*Streptococcus*, *Lactobacillus* türleri)

GİS mikrobiyotası

İnce bağırsak

Proksimalden distale asidite azalır, Eh düşer, bakteri sayısı ve çeşitliliği artar

- ▣ Duodenum, jejunum

Normalde → $0-10^3$ /ml ; patolojik durumlarda → 10^5-10^7 /ml

Mide mikrobiyotasına benzer

- ▣ İleum

Bakteri sayısı ve çeşitliliği artar, özellikle ileoçekal bölgede kolona benzer

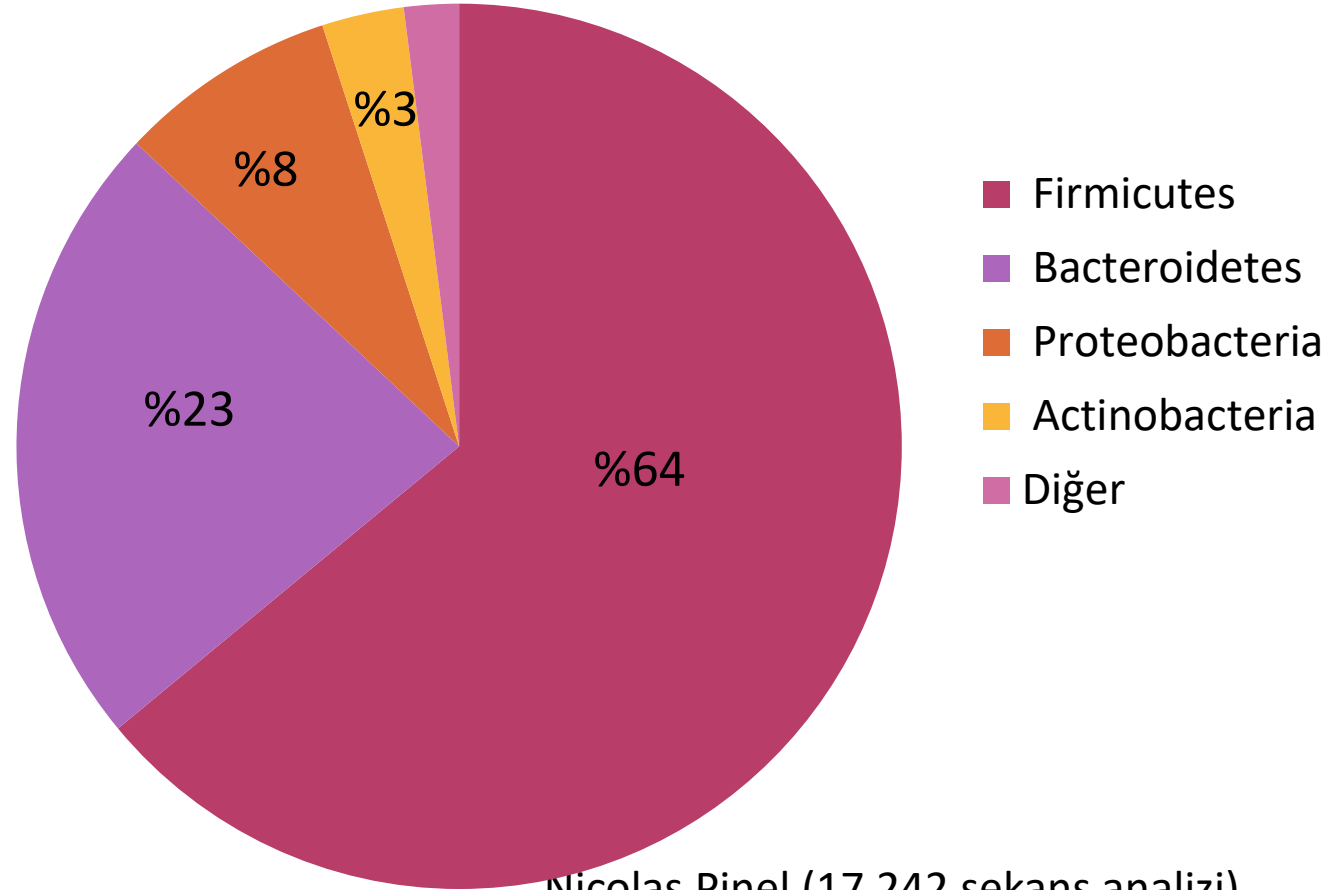
GIS mikrobiyotası

Kolon

- Anaerop ortam
- Kolon içeriğinin gramında 10^{11} - 10^{12} bakteri bulunur
Anaerop/aerop = 1000/1
- >400 farklı tür
 - *Bacteroides fragilis* (kolon florasının % 0.5'i)
 - Diğer *Bacteroides* türleri
(*B.thetaiotaomicron*,)
 - *Bifidobacterium*, *Eubacterium* türleri
 - *Clostridium* türleri
 - Anaerop gram pozitif koklar
 - *Fusobacterium* türleri
 - Diğer anaerop bakteriler

GIS mikrobiyotası

Bağırsak mikrobiyotası-moleküler çalışmalar



>%90 *Bacteroidetes*-
>%90 *Firmicutes*
Yaş, genetik faktörler,
beslenme
immünsüpresyon vb
.

Nicolas Pinel (17 242 sekans analizi)

Brock Biology of Microorganisms. Madigan M, Martinko J, Bender K, Buckley D, Stahl D. Brock Biology of Microorganisms. 2015; p.712, şekil 22.23

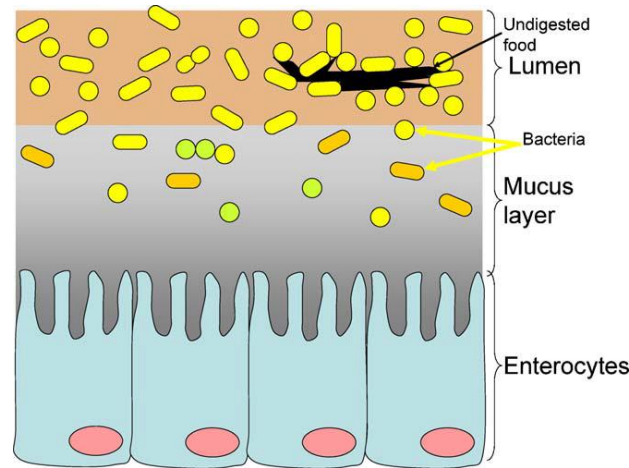
GIS mikrobiyotası

Bağırsak mikrobiyotası-moleküler çalışmalar

- Şube düzeyinde kişiler arasında kısıtlı bir çeşitliliğin tersine,tür düzeyinde önemli ölçüde çeşitlilik söz konusu.

İnsan dışkı örneklerinde, milyonlarca 16SrRNA sekansı ile yapılan çalışmalar 3500-35000 tür (OTU) tanımlamıştır.

- Lümen ve mukoza ile ilişkili bakteri toplulukları arasında da farklılık mevcut. Genel olarak mukoza ile ilişkili bakteriler *Firmicutes* şubesine ait (*Bacteroidetes* ↓)



GİS mikrobiyotası

Bağırsak mikrobiyotası-moleküler çalışmalar

- Özellikle bazı (yeni) türlerin konak lehine önemli rolleri ortaya konmuş
 - *Faecalibacterium prausnitzii* (Firmicutes) (% 1.4-% 5.9)
 - *Bacteroides thetaiotamicron*
 - *Bacteroides fragilis*
 - *Akkermansia muciniphila* (Verrucomicrobia)
 - *Clostridium* XIV a grup bakteriler
 - *Lactobacillus rhamnosus*
 - *Bifidobacterium infantis*
 - *Barnesiella* türleri

GİS mikrobiyotası

Bağırsak mikrobiyotası-moleküler çalışmalar

- Tüm insanlarda belirli çekirdek bir mikrobiyomdan söz etmek mümkün değil. Ancak kişiler arası hakim enterotipler belirlenmiş* (uzun süreli beslenme alışkanlıkları !**)

- Enterotip I - *Bacteroides*
- Enterotip II - *Prevotella*
- Enterotip III - *Ruminococcus*

- Fonksiyonel açıdan farklılığa neden olabilir (Örn. vitamin sentezi)
- Kişilerin diyet ve ilaçlara yanıtını, ya da genel sağlık durumunu etkileyebilir

*Armugam M, Raes J, Pelletier E, et al. Enterotypes of human gut microbiome. Nature 2011, 473:174-80

** Wu GD, Chen J, Hoffman C, et al. Linking long term dietary patterns with gut microbial enterotypes. Science 2011,334: 105-8

GIS mikrobiyotası

Bağırsak mikrobiyotası-moleküler çalışmalar

- Kişiler arası mikrobiyal çeşitliliğe göre farklı topluluk tipleri*
(*beslenme ve kültürel alışkanlıklar, sosyo-ekonomik durum*)
 - A tipi → *Bacteroides* ↑ ↑, *Prevotella* ∅, *Ruminococcus* ∅
 - B tipi → *Bacteroides* ↓ ↓, *Firmicutes* şubesine ait cinsler ↑ ↑
 - C tipi → *Bacteroides* ↓, *Alistipes*, *Faecalibacterium*, *Ruminococcaceae* ↑, *Prevotella* ∅
 - D tipi → *Bacteroides* ↓ ↓ ↓, *Prevotella* ↑ ↑

*Tyakth AV, Korstruyokova ES, Popenko AS, et al. Human gut microbiota community structures in urban and rural populations in Russia. Nat Commun 2013, 4: 2469, doi: 10.1038/ncomms3469

GIS mikrobiyotası

Bağırsak mikrobiyotası-moleküler çalışmalar

- Aynı kişide zaman içerisinde mikrobiyota oldukça stabil (< 3 yaş --- yaşlılık)
 - Süt çocuklarında bifidobakteriler hakim (*Actinobacteria*)
 - Yaşlılıkta
 - Bağırsak mikrobiyota çeşitliliği ↓
 - *Firmicutes* şubesine ait bakteriler ↓ *Bacteroidetes*' lerde artış ↑
→ bağırsak immünitelerinin azalması

GİS mikrobiyotası

Bağırsak mikrobiyotası- sağlıktaki rolü

- Kolonizasyon direnci !
 - Aderensin ve invazyonun önlenmesi
 - Bakteriyosin gibi antimikrobiklerin salgılanması
- K vitamini, B₁₂ ve folik asit sentezi
- Bağırsak immünesinin gelişmesindeki rolleri
- Sindirilemeyen polisakkaritlerin parçalanması
 - Enerji ve besin sağlanması
- Asetat, bütirat*, propionat gibi kısa zincirli yağ asitleri oluşturmaları
 - Kolonositler için temel enerji kaynağı
 - Anti inflamatuvar etki

GİS mikrobiyotası

Bağırsak mikrobiyotası- sağlıktaki rolü

- Konak koruyucu fonksiyonlarının düzenlenmesi
 - Hücreler arası sıkı bağlantıları güçlendirir
 - İntestinal permeabilite ↓
 - Epitel tamirinin ↑
 - Goblet hücrelerinden mukus salınımı ↑
 - Epitel hücrelerinden antimikrobiyal peptidlerin salgılanması

GİS mikrobiyotası

Bağırsak mikrobiyotası-hastalıklardaki rolü

Disbiyozis durumlarında

- ❑ İnflamatuvar bağırsak hastalıkları
- ❑ “Irritable” kolon sendromu
- ❑ Çölyak hastalığı
- ❑ Tekrarlayan *Clostridium diffcile* enfeksiyonları
- ❑ Nekrotizan enterokolit
- ❑ Kolorektal kanser
- ❑ Obezite
- ❑ Diabetes mellitus
- ❑ Nöro-psikiatrik hastalıklar ?

Ağız mikrobiyotası

İnsan mikrobiyom projesi

Sağlıklı bir kişinin ağızında yaklaşık 70 cins (en aşağı 750 farklı tür anerop ve aerop) mikroorganizma yaşamakta

- *Firmicutes* (*Streptococcus*, *Veillonella parvula*, *Abiotrophia*, *Gemella*, *Granulicatella*),
 - *Bacteroidetes* (gram negatif anaeroplara),
 - *Proteobacteria* (*Neisseria*),
 - *Actinobacteria* (*Actinomyces*)
 - *Spirochetes* (anaerop *Treponema* spp)
 - *Fusobacteria* (*Fusobacterium*) şubeleri dominant
- Ağız örneklerinde (özellikle tükürükte) alfa çeşitlilik ↑; beta çeşitlilik ↓

Ağız mikrobiyotası

Sağıltaki rolü

- Sağlıklı ağızlarda mikrobiyota üyeleri →
 - Kolonizasyon direnci
 - Lokal immünite
- Bazı türler oral patojenlerle antagonistik*
- Ağız bakterileri nitratı nitrite indirgerler → gastrik absorpsiyon → kan dolaşımı → nitrik oksit oluşumu → damar duvarının esnekliğinin korunması → anti-hipertansif etki**

*Wescombe PA, Heng NC, Burton JP, et al. Future Microbiology 2009, 4:819-35

** Wade William G. Pharmacological Research 2013; 69: 137-143

Ağız mikrobiyotası

Hastalığıdaki rolü

- Özellikle hijyeni bozuk ağızlarda (**disbiyozis**)
 - Doğrudan zararlı etkiler
 - Oral patojenlerin yerleşmesi ve/veya sayıca artması
- Ağız dışı enfeksiyonlar
 - Diyafram üst bölgesinde gelişen mikst enfeksiyonlar
 - Aktinomikozlar
 - Bakteriyemi ve endokarditler
 - Kistik fibrozis hastalarında pulmoner kolonizasyon, enfeksiyon ?

Deri mikrobiyotası

Moleküler ekoloji çalışmalarının sonuçları

- İnsan derisi sıcaklık, nem, ter ve yağ bezleri dağılımı açısından farklılık gösteren ekosistemlerden oluşmuştur (20 farklı bölge)
- Vücudun herhangi bir bölgesine göre çok daha fazla çeşitlilik gösterir. Deri mikrobiyomunda:
 - Ondokuz şube (*Actinobacteria*, *Firmicutes*, *Proteobacteria* ve *Bacteroidetes* dominant)
 - 200 farklı cins saptanmıştır → *Corynebacterium*, *Propionibacterium* ve *Staphylococcus* cinsleri sekansların > %60'ını oluşturmaktadır

Vajinal mikrobiyota

Klasik bilgiler

- Sağlıklı kadınlarda vajinal mikrobiyotada *Lactobacillus* cinsi bakteri hakimiyeti (19.yüzyıl)
- Laktik asit → Asidik pH → koruyucu etki
- Patolojik durumlarda (bakteriyel vajinoz) → *Gardnerella vaginalis* ve diğer bazı bakterilerin hakimiyeti



Vajinal mikrobiyota

Moleküler çalışma sonuçları

- Sağlıklı ve doğurganlık çağındaki kadınlarda kişiler arasında şube ve cins düzeyinde çeşitlilik yok. *Lactobacillus* hakimiyeti söz konusu
- Kişiler arasında tür düzeyinde çeşitlilik var. Hakim olan türlere göre 4 grup tanımlanmış
 - *L. crispatus*
 - *L. iners*
 - *L. gasseri*
 - *L. jensenii*
- Laktobasillerin yerini zorunlu anaerop ve fakültatiflerin aldığı **beşinci grup**, patolojik süreçlerde ortaya çıkmakta.

Sonuç

Sekanslama yöntemleri ile yapılan mikrobiyom ve metagenomik çalışmalar

- Üretilmeyen pek çok mikroorganizmanın genomik varlığının saptanabilmesine, yeni taksonların ve kişiler arası çeşitliliğin belirlenebilmesine
 - Disbiyozis ile pek çok patolojik durum arasında ilişkinin kurulmasına
 - Klinik uygulamada, belirli bir hastalığa yatkınlığın araştırılmasında ,
 - Tanıda kullanılabilecek biyomarkerların ve yeni yöntemlerin geliştirilmesine
 - Kişiyeye yönelik ilaç ve probiyotik tedavilerinin planlanmasına
- olanak verecektir /vermektedir

Teşekkür ederim

