



**Normal Mikrobiyal Floranın İnsan Sağlığı  
Üzerine Etkisi ve İnsan Mikrobiyom Projesi**  
Normal Microbial Flora Effect on Human Health  
and Human Microbiome Project

Taylan Bozok<sup>1</sup>, Tuğçe Şimşek<sup>2</sup>, Süheyla Kömür<sup>2</sup>, Aslıhan Ulu<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, <sup>2</sup>Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Adana, Turkey

**ÖZET**

Vücut alanımızı paylaştığımız mikroorganizmaların varlığı eskiden beri bilinen bir gerçektir. Ancak yaşam şeklimizdeki değişiklikler ve özellikle de karşılaştığımız yeni moleküler bileşikler, bu mikroorganizmalar üzerinde çeşitli etkilere neden olmaktadır. Son zamanlarda geliştirilen yeni nesil sekanslama teknikleri, bu mikroorganizma topluluklarındaki değişikliklerin oldukça ayrıntılı bir biçimde analiz edilmesine imkan vermektedir. Yapılan son çalışmalar da bize bu mikroorganizmaların topluluklarının insan sağlığı üzerinde tahmin edilenden daha fazla etkiye sahip olduğunu göstermektedir.

**Anahtar kelimeler:** Mikrobiyom, sekanslama, moleküler bileşik

**ABSTRACT**

Presence of microorganisms that we share our body has been an already known fact. However, changes in our way of life and particularly new molecular compounds we encounter, cause several effects on microorganisms. Recently developed new generation sequencing techniques, allow detailed analysis of the changes in these microbial communities. Recent studies indicate that, these communities of microorganisms have more impact than predicted on human health.

**Key words:** Microbiome, sequencing, molecular compound



## Giriş

Son zamanlarda meydana gelen biyoenformatik gelişimler ve ilerleyen sekanslama teknolojileri okyanuslar, atık sular, insan vücudu ya da başka bir ortamdaki mikrobik topluluklar hakkında kapsamlı araştırmalar başlatılmasına imkan vermektedir<sup>1</sup>. Dünya üzerinde yaklaşık  $10^{30}$  mikrobiyal hücre olduğu tahmin edilmekte ve sadece bir insan vücudunda 100 trilyon mikroorganizma (m.o.) bulunduğu bilinmektedir. Bu m.o. toplulukları içerisinde bakteriler, virüsler, funguslar ve birçok mikro-ökaryot bulunmaktadır<sup>2-3</sup>. Vücut alanımızı paylaştığımız kommensal, simbiyotik ve patojenik olabilen bu mikroorganizmaların tümü Mikrobiyom olarak adlandırılmaktadır<sup>4</sup>. İnsan mikrobiyomunun büyük kısmı başta gastrointestinal sistem (GİS) olmak üzere deri, genitoüriner sistem ve solunum sisteminde kolonize olmuştur. GİS yaklaşık  $200 \text{ m}^2$  gibi geniş bir yüzey alanına sahip olması ve mikroorganizmalar için zengin besin öğeleri içermesi nedeniyle kolonizasyon için en uygun ortamı sunmaktadır<sup>5</sup>. İşte bu bölgelerde bulunan binlerce tür mikroorganizma yeni nesil sekanslama teknolojileri kullanılarak tanımlanabilir hale gelmiştir.

## İnsan Mikrobiyom Projesi

2007 yılında İnsan Genom Projesinin (Human Genome Project, HGP) bir devamı olarak İnsan Mikrobiyom Projesi (Human Microbiome Project, HMP) başlatıldı. ABD Ulusal Sağlık Enstitüsü (NIH) girişimi olan bu proje ile hem sağlıklı hem de hasta insanlarla (onların mikrobiyal florası) ilişkili olduğu düşünülen mikroorganizmaların tespit edilmesi ve özelliklerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Bu projenin asıl amacı, insan sağlığı ya da hastalığı ile ilgili olarak insan mikrobiyomunun nasıl değiştiğini test edip sağlıklı olan ilişkisini belirlemektir. Başlangıçta toplamda 115 milyon dolarlık bir bütçe ve beş yıllık bir proje olarak planlansa da elde edilen verilerle proje kapsamı genişletilmiştir<sup>6</sup>. Günümüzde ABD yanında Avrupa ve Asya'nın dahil olduğu dünya çapında, birden fazla projeden oluşan disiplinler arası bir çalışma haline gelmiştir.

Klasik anlamda mikrobiyoloji, laboratuvar şartlarında kültürü yapılabilen bakteriler üzerine yoğunlaşır. Fakat bu yaklaşım, doğal ortamlarından yalıtılıp laboratuvar şartlarında büyütülemeyen mikroorganizmaların göz ardı edilmesi sonucunu doğurmuştur. DNA sekanslama tekniklerindeki ilerlemeler mikroorganizma topluluklarının doğal ortamından alınıp birlikte incelenmesi olan '*metagenomik*' bilim dalını ortaya çıkarmıştır ve böylece

ekosistemlerin karmaşık mikroflora/mikrobiyota içerikleri, evrimsel ve metabolik özellikler yönünden sorgulanmış olacaktır<sup>7</sup>.

Başlangıçta HMP kapsamında 300 gönüllü bireyden çalışmaya uygun olarak seçilen 242 bireyin (129 erkek, 113 kadın) vücudunun belli bölgelerinden toplamda 4,788 adet örnek alınmıştır. Örnekler vücudun 5 ana bölgesinden toplanmış (oral kavite (9 bölge), deri (4 bölge), burun, gastrointestinal sistem ve ürogenital sistem(3 bölge)) ve çalışmaya dahil edilen 131 bireyden farklı zamanlarda tekrar örnek alınarak mikrobiyomun stabilitesi değerlendirilmiştir. Bu örneklerin kalite kontrolleri 16S-rRNA pyro-sekanslama yöntemi kullanılarak yapılmış ve 681 örnek paired-end Illumina shotgun metagenomik okuyucular kullanılarak sekanslanmıştır<sup>8</sup>.

### Oral Mikrobiyom

İnsan mikrobiyom projesi ile her örneklenen bölge için veritabanı oluşturulmaktadır. Son çalışmalarda oral mikrobiyomun metagenomik analizleri sonucu sınırlı sayıda *Archaea* ile birlikte yaklaşık 1000 bakteri türü tespit edilmiştir. Bu türler arasında *Actinobacteria*, *Bacteroidetes*, *Firmicutes*, *Proteobacteria*, *Spirochaetes*, *Synergistetes* ve *Tenericutes* türleri ve kültürü yapılamamış GN02 ,SR1 ve TM7 türleri bulunmaktadır. Bulunduğu tahmin edilen mikroorganizmaların henüz daha yarısı başarılı bir şekilde tanımlanabilmiştir<sup>9</sup>. Birbiriyle ilişkisi olmayan sağlıklı kişilerin ağızdaki bakteri türleri bölgeden bölgeye farklılık gösterse de büyük oranda aynı olduğu yani ağız boşluğunda hem çekirdek hem değişebilir mikrobiyom varlığı gösterilmiştir. Çekirdek mikrobiyom, tüm kişilerce paylaşılır ve vücudun farklı yerlerinde sağlıklı koşullar altında var olan sağlıklı türlerden oluşur. Değişebilir mikrobiyom ise kişiye özeldir ve eşsiz yaşam biçimi, fenotipik ve genotipik belirleyicilere yanıt olarak evrilmiştir<sup>10</sup>. Sağlıklı kişilerde ağız boşluğu ve tükürükteki bakteri topluluklarının 454 pyrosekanslama ile değerlendirme çalışmasında kişiler arasındaki bakteri topluluk yapısındaki farklılık, kişinin bölge farklılıklarından daha düşük bulunmuştur. Farklılığa mukozada *Streptococcus mitis* ve *Gemella hemolysans* üstünlüğünün neden olduğu ve farklılığın çok düşük sekanslama sayısında belirgin olduğu saptanmıştır<sup>11</sup>.

### Gastrointestinal Mikrobiyom

İnsanlarda sindirim sistemi mikrobiyomu doğumdan hemen sonra şekillenmeye başlamaktadır. Doğum esnasında yenidoğan, vajinal kanaldaki birçok mikroorganizma ile

karşılaşarak sindirim sistemi mikrobiyomunu oluşturur. Yenidoğanlarda yapılan çalışmalar, doğum şeklinin direkt olarak bebeğin sindirim sistemi mikrobiyomu ile ilişkili olduğunu göstermiştir. Vajinal doğum ile dünyaya gelen bebeklerde, bebeğin intestinal mikrobiyomunu, anne genitoüriner sistem mikroorganizmaları oluştururken, sezaryen ile doğum gerçekleştiğinde, bebeğin intestinal sisteminin deri mikroorganizmalarına benzer şekilde oluştuğu görülmüştür<sup>13</sup>. İnfantlarda gastrointestinal sistem mikrobiyomunu etkileyen diğer önemli faktörler; beslenme şekli, gestasyonel yaş, hospitalizasyon ve infantil dönemde sık antibiyotik kullanımıdır. Bu konuya en iyi örneği anne sütü ile beslenen infantlardaki mikrobiyom ile, formül mamalar ile beslenen infantların mikrobiyomu arasındaki fark gözler önüne serer. Anne sütü ile beslenen infantlarda mikrobiyomun çoğunu Bifidobakteri'ler oluştururken, formül mamalar ile beslenen infantların gastrointestinal sistem mikrobiyomunu *Escherichia coli*, *Clostridium difficile*, *Bacteroides fragilis* ve *Lactobacillus*'lar baskın haldedir<sup>14</sup>. Beslenme alışkanlıklarının, intestinal mikrobiyotanın oluşumu üzerine direkt etkili olduğu, aynı zamanda da immün sistem gelişiminde en önemli rolü oynadığı bilinmektedir. Diğer yandan intestinal mikrobiyota, immün sistem dışında birçok metabolik olayda etkili olmaktadır. Günümüzde gastrointestinal sistem mikrobiyotasının obezite, diyabetes mellitus, ateroskleroz ve alkolik olmayan yağlı karaciğer hastalığı patogeneğinde etkili olduğu bilinmektedir<sup>15-16</sup>.

## Mikrobiyom ve Hastalıklar

İnflamatuvar bağırsak hastalarında (İBH), mukozal biyopsi alınarak yapılan çalışmalarda, sağlıklı insanlarda bağırsak florasının önemli kısmını oluşturan *Firmicute* ve *Bacteroidetes*'lerin İBH olgularında belirgin olarak azaldığı, bununla birlikte *Proteobacteria* ve *Actinobacteria* genuslarında anlamlı bir artış olduğu görülmüştür. *Clostridium* ve *Bacteroidetes*'ler kolonda kısa zincirli yağ asitlerinin üretiminde, karbonhidrat fermantasyonunda ve bütirat üretiminde majör rol oynadıkları tespit edilmiştir<sup>17</sup>. İBH olgularında bütirat seviyesindeki azalma, bu mekanizmalar nedeniyle inflamatuvar bağırsak hastalığının karakteristik özelliği olan kronik inflamasyon ve mukozal hasarlanmayı beraberinde getirir. Bu verilerin ortaya çıkması ile birlikte *Clostridium* içeren probiyotik ürünlerin kullanımı inflamatuvar bağırsak hastalığının tedavisinde gündeme gelmiştir<sup>23</sup>.

Solunum yollarının içerdiği bakteriler ile astım hastalığı arasındaki ilişkiyi araştıran bir çalışmada 29 kortikosteroid dirençli (KD), 10 kortikosterid hassas (KH) astım hastası ve 12

sağlıklı kişide alt solunum yollarından alınan bronkoalveoler lavaj örneklerinden yapılan 16S rDNA sekans analizleri sonucu hastalarda solunum yolunun 424majör mikroorganizmalarından olan *Prevotella* cinsinin önemli ölçüde azaldığı ve 6 KD hastada *Neisseria* ve *Haemophilus* cinsi bakterilerin hakim olduğu görülmüş ancak KH hastalarda bu türlere rastlanmamış<sup>20</sup>. Son yıllarda rekürren *C.difficile* enterekoliti tedavisinde fekal mikrobiyal transplantasyon prosedürü bazı çevrelerce araştırılmakta olup, bu tedavinin uygulandığı bir merkezde yapılan çalışmada 9 yıl içinde yapılan toplamda 75 fekal mikrobiyal transplantasyon tedavisinin %79 u başarılı sonuçlanmış. Diyaresi devam eden 16 vakanın da 9'u tek doz vankomisin tedavisiyle iyileşmiş<sup>21-22</sup>.

Yine yapılan bir çalışmada *S.epidermidis* kolonizasyonu olan ciltte gliserol fermantasyonu sonucu kısa zincirli bir yağ asidi olan süksinik asit oluşumu artıyor ve *P.acnes* in kolonizasyonunu baskıladığı gözleniyor<sup>12</sup>.

Son olarak elde edilen klinik veriler bağırsak mikrobiyom çeşitliliğinin azalmasının otoimmün hastalıkların gelişmesiyle ilişkili olduğunu göstermektedir. Özellikle Toll-Like reseptörlerin uyarılması ile otoimmün hastalıklara karşı bakteriyel kaynaklı koruma gibi yeni tedavi stratejilerinin geliştirilmesi mümkün olabilecektir<sup>18</sup>. Son yıllarda özellikle fekal transplantasyon ve probiyotiklerle yapılan hem hayvan hem de insan çalışmalarında alınan başarılı sonuçlar, obezite ve alkolik olmayan yağlı karaciğer hastalığı'nın tedavisinde gelecek için ümit vermektedir<sup>19</sup>.

## Sonuç

Günümüz teknolojisi hızla ilerlemekte olup her geçen gün geliştirilen yeni teknikler sayesinde bilinmeyenleri aydınlatmaya doğru gidiyoruz. Vücudumuzda farkında olmadan taşıdığımız birçok mikroorganizmanın bize sağladığı yararları tahmin etmek hiç de zor değil. Ancak bunun bilimsel olarak anlam kazanması yapılacak daha çok çalışma ve analizle mümkün olacaktır. Belki de bugün bazı hastalıkları tedavi etmede kullanılan methodların yerini kontrol edilebilir bir mikrobiyom alacaktır.

## Kaynaklar

1. The Human Microbiome Project Consortium. A framework for human microbiome research. Nature. 2012;486(7402):215-21.

2. Julia MB, Yige B, Gregory BG, Jeremy PB, Gregor R. High throughput sequencing methods and analysis for microbiome research. *J Microbiol Methods*. 2013;95:401-14.
3. Anne G, Rosenwalda, Gaurav SA, Ramana M, Jennifer RC, Janet SR. The human microbiome project: an opportunity to engage undergraduates in research. *Procedia Computer Science*. 2012;9:540-9.
4. Lederberg J, McCray AT. 'Ome Sweet' Omics-a genealogical treasury of words. *Scientist*. 2001;15:8.
5. Whitman WB, Coleman DC, Wiebe WJ. Prokaryotes: the unseen majority. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1998;95:6578-83.
6. Peterson J, Garges S, Giovanni M, McInnes P, Wang L, Schloss JA et al. The NIH Human Microbiome Project. *Genome Res*. 2009;19:2317-23.
7. Karaçay B. İçimizdeki Dünya: Mikrobiyom. *Bilim ve Teknik Dergisi*. 2010;514:40-1.
8. The Human Microbiome Project Consortium. Structure, function and diversity of the healthy human microbiome. *Nature*. 2012;486(7402):207-14.
9. William GW. The oral microbiome in health and disease. *Pharmacol Res*. 2013;69:137-43.
10. Külekçi G. Ağız sağlığının yeni tanımı: ağız mikrobiyomu. *ANKEM Dergisi*. 2013;27:167-72.
11. Diaz PI, Dupuy AK, Abusleme L, Reese B, Obergfell C. Using high throughput sequencing to explore the biodiversity in oral bacterial communities. *Mol Oral Microbiol*. 2012;27:182-201.
12. Wang Y, Kuo S, Shu M, Yu J, Huang S, Dai A et al. Staphylococcus epidermidis in the human skin microbiome mediates fermentation to inhibit the growth of Propionibacterium acnes: implications of probiotics in acne vulgaris. *Appl Microbiol Biotechnol*. 2014;98:411-24.
13. Dominguez-Bello MG, Costello EK, Contreras M, Magris M, Hidalgo G, Fierer N et al. Delivery mode shapes the acquisition and structure of the initial microbiota across multiple body habitats in newborns. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2010;107:11971-75.
14. Penders J, Thijs C, Vink C, Stelma FF, Snijders B, Kummeling I et al. Factors influencing the composition of the intestinal microbiota in early infancy. *Pediatrics*. 2006;118:511-21.
15. Kau AL, Ahern PP, Griffin NW, Goodman AL, Gordon JL. Human nutrition, the gut microbiome and the immune system. *Nature*. 2011;474:327-36.
16. Wu X, Ma C, Han L, Nawaz M, Gao F, Zhang X et al. Molecular characterisation of the faecal microbiota in patients with type II diabetes. *Curr Microbiol*. 2010;61:69-78.
17. Segain JP, Raingeard de la Blétière D, Bourreille A, Leray V, Gervois N, Rosales C et al. Butyrate inhibits inflammatory responses through NFkappaB inhibition: implications for Crohn's disease. *Gut*. 2000;47:397-403.
18. Rose NR, Mackay IR. *The Autoimmune Diseases, Fifth Edition*. San Diego, Elsevier, 2014.
19. Aroniadis OC, Brandt LJ. Fecal microbiota transplantation: past, present and future. *Curr Opin Gastroenterol*. 2013;29:79-84.

20. Goleva E, Hauk PJ, Hall CF, Liu AH, Riches DWH, Martin RJ et al. Corticosteroid resistant asthma is associated with classical anti-microbial activation of airway macrophages. *J Allergy Clin Immunol.* 2008;122:550-9.
21. Rubin TA, Gessert CE, Aas J, Bakken JS. Fecal microbiome transplantation for recurrent *Clostridium difficile* infection: report on a case series. *Anaerobe.* 2013;19:22-6.
22. Russell G, Kaplan J, Ferraro M, Michelow IC. Fecal bacteriotherapy for relapsing *clostridium difficile* infection in a child: a proposed treatment protocol. *Pediatrics.* 2010; 126:e239-42.
23. Araki Y, Andoh A, Takizawa J, Takizawa W, Fujiyama Y. *Clostridium butyricum*, a probiotic derivative, suppresses dextran sulfate sodium-induced experimental colitis in rats. *Int J Mol Med.* 2004;13:577-80.

**Correspondence Address / Yazışma Adresi**

Taylan Bozok  
Çukurova Üniv. Tıp Fakültesi  
Mikrobiyoloji Anabilim Dalı.  
Adana, Turkey  
e-mail: taylanbozok@hotmail.com