

GÜNCEL BİLGİLER IŞIĞINDA NORMAL FLORA - MICROBIOTA ve KLİNİK YANSIMALARI

Dr. Suna Gedikođlu

Minicanlılar yani mikroorganizmalar; bilinenleri yanında, bilinmeyi de fazla olan, her zaman ve her yerde olmalarına karşın çıplak gözle göremediğimiz için zaman zaman yok sandığımız olağanüstü canlılardır. Dünyamızın en küçük canlıları olan mikroorganizmalar her yerde buldukları, canlı ve cansız ortamlar ile çok yakın ilişkileri olduğu halde, sadece hastalık yaptıkları sanısı yaygındır. Oysaki onlar, dünyamız ve yaşamımız için mutlak gereklidir. Dünyamızın ilk canlıları olup, herhalde son canlıları da onlar olacaktır. Doğumun hemen ardından ilişkilerimiz başlamakta ve yaşam boyu da sürmektedir.

Dünya'mızda 13.7 milyar yıl önce sadece hidrojen, elektron, proton bulunduğu, atmosferin yaşam için uygun olmadığı, koşullar değiştikçe ilk organik moleküllerin \approx 3.7 milyar yıl önce oluşmaya başladığı, DNA'nın meydana gelişi ve bir zarla çevrelenmesi ile ilk tek hücreli canlıların var olduğu kabul edilmektedir. Zamanla, bakteri, arkebakteri (prokaryotlar) ve ökaryot olarak isimlendirilen temel özellikleri farklı olan üç hücre grubu oluşmuştur.

Evrim sürecine bakıldığında; çok hücreli canlıların, yaşam süresi uzadıkça rekombinasyon olasılıkları azalmaktadır. Bu durum canlı türünün evrimsel olarak uyum yeteneğinin azalması anlamına gelir. Oysaki kısa yaşayan, çok yavru verenler evrimsel olarak en başarılı canlılar olarak kabul edilir. Bakteriler uyum yeteneği en yüksek olan canlılardır. Hızla çoğalırlar, değişik genetik aktarım mekanizmaları ile çevrelerindeki olumsuz koşullara süratle uyum sağlar ve bu özelliklerini yeni nesillerine aktarırlar.

Vücudumuzun dış ortamla ilişkisi olan deri ve mukoza ile kaplı bölgeleri daima başta bakteriler olmak üzere çeşitli mikroorganizmalar ile kaplıdır. En klasik tanımı ile; belirli bir yaşta, vücudun belirli bir bölgesinde yer alan, genellikle değişmeyen mikroorganizmalar grubu kalıcı florayı oluşturur. Çeşitli nedenler ile bozulması halinde süratle kendisini yeniler. Normal flora elemanları buldukları bölgede hastalık oluşturmazlar. Geçici flora ise; yine belirli bir bölgede nonpatojen veya potansiyel patojen mikroorganizmalar tarafından oluşturulan; saatler, günler, haftalarca kalabilen mikroorganizmalardan oluşur. Normal

koşullarda ve sağlıklı bir kişide hastalık yapmazlar.

Alışlagelmiş olan "flora" kelimesi; bitkileri çağrıştırmaları nedeni ile, 2000'li yılların başlarında irdelenmeye başlanmış ve yerine latince kökenli [biotē'life' (Oxford English Dictionary-OED)] "biota" sözcüğünün kullanılması uygun bulunmuştur. **Biota**; belirli bir bölgede, habitatta veya jeolojik periyotda bulunan hayvan ve bitkileri tanımlar. **Microbiota** ise belirli bir kişi, vücut bölgesi veya belirli bir lokalizasyondaki bakterilerin toplamını ifade eder. Diğer bir tanım olan mikrobiome, mikrobiota ile sıklıkla karıştırılır. **Mikrobiome**; belirli bir bölgede tanımlanmış olan mikroorganizma ve genlerinin toplamıdır. Bu bağlamda önemli olan bir diğer terim olan **Metagenomics** ise; saptanmış olan total DNA'yı veya önemli bir markır olan 16S rRNA sonuçlarını kapsar. 16S rRNA evrim sırasında en az değişikliğe uğramış olan kromozomal yapılardır. Woese (1987) tarafından tanımlanmıştır. 16S rRNA ile tür düzeyinin üstünde benzerlik saptanabilir. O nedenle "imza sekansı" olarak da isimlendirilirler ve doğru tanı için önemlidir.

Mikrobiotayı oluşturan mikroorganizmaların yaşam koşullarında farklılıklar vardır. Konvansiyonel kültür yöntemleri ile saptanmaları; çok büyük maliyet, emek, bilgi, ekip gerektirir. Dolayısıyla, mikrobiotayı belirlemek, nelerden etkilendiği ve olası değişiklikler ile sonuçlarını saptamada yetersiz kalınmaktadır. Son yıllarda özellikle moleküler yöntemlerdeki gelişmeler, araştırmacıları çok yönlü çalışmalara yönlendirmiş ve elde edilen bilgiler, insan mikrobiyotası hakkında bilinenlerin tartışılmasına neden olmuştur. Tüm floralı bölgeler için çalışmalar yapılmakla beraber, en yoğun ve kapsamlı olanlar bağırsak mikrobiotası ile ilgilidir. Çünkü bakteri içeriği çok çeşitlidir, farklı işlevleri nedeniyle insan sağlığı için önemlidir. Dengesinin bozulması halinde çeşitli hastalıklar ile ilişkili oldukları düşünülmekte, bağlantı kurulmaya çalışılmaktadır.

Bağırsaklar, en büyük mikrobiotaya sahiptir, zira mukozası açılmış olsa 400-600 m² lik bir alan oluşturur. Buna karşın, vücudumuzun dış yüzeyini oluşturan ve sindirim sistemi mukozası ile devam eden deri, yaklaşık 2 m² yer kaplar. Diğer floralı bölgeler olan; burun, boğaz mukozası yaklaşık 1 m², bronş mukozası 100 m², ürogenital bölge mukozası yine yaklaşık olarak 1 m² alan kaplar. Tümü vücut savunması bakımından önemlidir. Ancak bağırsaklar kapladıkları alan, çeşitli işlevleri ve mikrobiotası ile son yıllarda pek çok yönden ilgi odağı olmuştur.

Mikrobiota ile ilgili yapılan en kapsamlı çalışma İnsan Microbiome Projesi'dir (Human Microbiome Project-HMP). Başta ABD Ulusal Sağlık Enstitüleri (NIH) olmak üzere bir konsorsiyum tarafından yönetilen 173 milyon dolarlık bir projedir ve bu bağlamda pek çok bilgi elde edilmiştir. Proje kapsamında, sağlıklı erişkin 129 erkek, 113 kadının tüm floralı bölgelerinden, belirli aralarla 4788 örnek incelenmiş ve ilginç sonuçlar elde edilmiştir. İnsan genomundaki ≈ 22.000 gene karşın, insanın sadece bağırsak mikrobiomunda 3.3 milyon anlamlı gen bulunmaktadır. Bir diğer ilginç bulgu, 2 insan arasında genom benzerliği %99.9 iken, aynı kişilerin barsak veya ellerindeki microbiome farkı, %80-90 kadar olabilmektedir.

İnsan mikrobiotasında; 10 trilyon insan hücresine karşı, 100 trilyon mikroorganizmanın yer aldığı kabul edilmektedir. Diğer bir deyişle; insanın %10 insan+%90 mikroorganizma hücresinden oluştuğu söylenebilir. Kişilerin mikrobiotaları göreceli olarak sabittir. Kişiler arasındaki farklılıkların; mikroorganizmalarından kaynaklandığı, yani bazı özelliklerinin mikrobiotalarına bağlı olabileceği düşünülebilir.

Tahminen; ≈ 1000 bakteri türü insanı konak olarak seçebilir. Bakterilerin metabolik özellikleri ilginçtir. Gerektiğinde kullanabildikleri, insandakinden 100 kat daha fazla sayıda metabolizma ile ilgili genlere sahiptirler. Mikroorganizmalar topluluğu, insanın gereksinim duyduğu metabolik aktivitelere; karbonhidrat, lipit, aminoasit metabolizmalarına katılarak katkı sağlar. İmmün sistem fonksiyonları, bağırsak bariyerine destek ve patojenlere karşı dirençte rol oynarlar.

İnsanın mikroorganizmalar ile ilk karşılaşması; steril bir ortamda gelişen bebeğin doğumunun hemen ardından olur. Bebeğin dünyaya geldiğinde ilk karşılaştığı mikroorganizmalar, doğum yöntemine göre farklılık gösterir. Normal vajinal doğum sırasında bebek öncelikle annenin vajinal florası, sezeryan ile doğumda ise cilt florası ile karşılaşır. Buna ilave olarak; bebeğin, anne sütü veya hazır mama ile beslenme şekline de bağlı olarak mikrobiotalar farklı içerikler ile gelişir. İnsan Microbiome Projesi ve diğer pek çok çalışma, bu konuda önemli veriler ortaya koymuştur. Normal vajinal doğum, anne sütü ile beslenme ve ilk altı ayda antibiyotik kullanılmamış olması, en sağlıklı bağırsak florasının gelişimini sağlamakta, bağırsak mikrobiotasının oturması 2.5 yaş civarında olmaktadır.

Bağırsaklar, en büyük mikrobiotaya sahiptir. Sindirim sisteminin; farklı bölgeleri değişik kapsam ve miktarda mikroorganizma içerir. Bağırsakların yapısı ilginçtir.

Bağırsaklar ve beyin, embriyonal olarak aynı doku kümesinden kaynaklanmaktadır. Enterik sinir sistemi, bağırsak duvarı içinde yer alan 500 milyon nörondan oluşur. Merkezi sinir sistemi ile enterik sinir sistemi; vagus siniri aracılığı ile sürekli iletişim halindedir. Bağırsak otonom yani özerk çalışır. Çeşitli transmitterler ve hormonları üretir. Duygu durumumuzla ilgili en önemli nörotransmitter olan serotoninin %80'i bağırsaklarda üretilmektedir. Beynin bağırsaklara gönderdiği sinyaller, bağırsakların beyne gönderdiği sinyallerin dokuzda biri kadardır. Bağırsaklar çevresel uyarınları hisseder ve verilecek tepkileri belirler. Karın hisseder düşünür, hatırlar (karnımızdaki beyin H. Nazlıkul). Bağırsaklar immün sistem üzerine de etkilidir. Bağırsak ile ilişkili lenfoid sistem (GALT) tüm bağırsak sistemi boyunca işlev görür.

Bağırsak özellikle de kolon mikrobiotası insan biyolojisi ve evolüsyonunun anlaşılmasında çok yararlı bilgiler sağlamıştır. Milyonlarca yılda, vertebralılar ile mikroorganizmaların birlikte evrim geçirerek, özellikle bağırsağın uygun sıcaklık ve besin içeren stabil yapısı nedeniyle, belirli bir mikrobiotanın oluştuğu düşünülmektedir.

Yeryüzünde bulunan bakterilerin çeşitliliği çok fazla olmakla beraber; iki önemli filum *Bacteroidetes* ve *Firmicutes* ile arkebakteri üyesi olan *Methanobrevibacter smithii* barsak florasının %90'ını, 400-500 farklı bakteriel spesies ise geri kalan florayı oluşturur. Barsak bakterilerin genom kapasitesinin, insan genomundan çok fazla olup, mikrobiyal genlerin 3.3 milyon kadar oluşu nedeni ile, "unutulmuş organ veya superorganizm" olarak da isimlendirilirler. Barsak mikrobiotası, konak ile simbiyotik ilişki gösterir. Mikrobiota konağın fizyolojik, immünolojik, nutrisyonel özelliklerine katkı sağlar. Gastrointestinal sistem aynı zamanda vücut içi ve dışı arasında bir köprü görevi görür. Mikroorganizma veya yabancı antijenlerin kolonizasyonu veya geçişi için rol oynayarak immün sisteme katkıda bulunur. Normal mikrobiyal flora bakteri ve antijenlerin bağırsaktan kan dolaşımına geçişini engeller. Bu durum enfeksiyon gelişmesini ve gıdalara karşı allerjik reaksiyonları önleyerek immün sisteme katkı sağlar.

Son yıllarda değişik hastalıkların gelişmesinde barsak disbiyozisinin önemli olduğu düşünülmektedir. Disbiyozis; stres, iklim, ruhsal nedenler, antibiyotik kullanımı, diyet değişiklikleri gibi çeşitli nedenler ile konak - mikroorganizma simbiyozunun bozulmasıdır. Normal koşullarda bağırsak mikrobiotasının oluşturduğu aktif sinyal molekülleri konak metabolizması ile etkileşim halindedir. Örneğin; bağırsak

bakterileri tarafından liflerin (fiber) fermentasyonu ile kısa zincirli yağ asitleri (SCFAs) oluşur. Bunların G proteine bağlı reseptörler (GPCRs) ile etkileşimi, enerji metabolizmasını düzenleyen periferik organ ve adipoz hücrelerinde insülin duyarlılığında etkili olur. Konak fizyolojisinde önemli görevi olan bu düzenin bozulması, bir seri olayı başlatabilir. Düşük düzeyli enflamasyon, fazla lipit birikimi, insülin duyarlılığının kaybı ile metabolik sendrom gelişir. Obezite, insülin direnci, tip 2 diyabet, alkolik olmayan karaciğer yağlanması gibi metabolik bozukluklar başta olmak üzere; kardiyovasküler hastalıklar, kanser, astım, atopik hastalıklar, enflamatuvar barsak hastalığı, uyku apnesi, hatta otizm ile disbiyozis arasında ilişki kurulmaktadır. Ayrıca; sosyoekonomik koşullar, şehirleşme, yeme alışkanlıklarındaki değişiklikler, iletişim araçlarının artması ve yoğun bilgi akışı, güneşten ve doğadan kopuk yaşam gibi etmenler ile global bir epidemi haline gelen depresyon ve bazı mental bozuklukların da mikrobiota ile ilişkili olduğu düşünülmektedir.

Obezite; enerji alım ve tüketimindeki dengesizlik sonucu, adipoz dokunun artması ile karakterizedir. Obezitenin başlaması, genetik ve çevresel faktörlere bağlı olup, sonuçta hiperglisemi, hiper trigliseridemi, dislipidemi yani HDL düşük düzeyde olması ve hipertansiyon gibi komplikasyonlar ile devam eder. Bu sayılanlardan en az üç tanesine klinik olarak tanı konulmuş ise, "metabolik sendrom" var demektir. Sonucunda tip 2 diyabet ve kardiyovasküler hastalık gelişir. Her ne kadar bu durum artmış adipoz dokuya bağlansa da, vücut kitle indeksi düşük kişilerde de yüksek trigliserit düzeyleri ya da karaciğer yağlanması olabilmektedir. Dolayısıyla metabolik sendrom diyebilmek için, klinik verilerde önemli olmaktadır.

Özetle; başta bağırsak olmak üzere, mikrobiota değişiklikleri insan sağlığı için olumsuz pek çok olaya neden olabilmektedir. O nedenle, mikrobiotanın korunması çok önemlidir. Son yıllarda mikrobiotaya katkı sağladığı düşüncesi ile, prebiyotik ve probiyotikler yaygın olarak kullanılmaktadır. Etkinlikleri, kapsamları ve çeşitleri tartışmalıdır. İlaç olarak kabul edilmeyip, sağlığa katkı sağlayıcı maddeler olarak tanımlanmaktadır. Geleneksel gıdamız yoğurt önemli bir kaynaktır.

Prebiyotikler

Prebiyotik tanımı 20 yıl kadar önce bir grup bileşik için kullanılmıştır. Prebiyotikler; bağırsak mikrobiotasının içerik ve/veya kompozisyonuna katkı

sağlayan maddelerdir. Konağın gastrik asit ve enzimleri tarafından hidrolize edilmemeli veya absorbe olmamalıdır. Konak için yararlı olan bakterinin çoğalmasını selektif olarak stimüle etmelidir. Yani konağın lehine olarak mikrobiyotayı etkilemelidir. Örneğin; fruktooligosakkarit (FOS), inülin, galaktooligosakkarit (GOS) *Lactobacillus* ve/veya *Bifidobacterium* spp. için zenginleştirme sağlar.

Probiyotikler

Yaşam için anlamındadır. Uygun miktarlarda kullanıldığında, konağın sağlığına katkı sağladığı kabul edilen canlı mikroorganizmalardır. Ölü mikroorganizmalar, ürünleri veya herhangi bir bölümü bu grupta yer almaz. Kullanım amacı; bağırsak mukozasının bariyer fonksiyonunu güçlendirmek, bağırsak mukozasına yabancı bakterilerin yapışmasını azaltmak, çoğalmalarını engellemek, bağırsak pH'sını düşürmek, bağışıklık sistemini uyarmak, bağırsak peristalsizmini uyarmaktır.

Probiyotiklerin çoğunluğu bakteridir. Sağlıklı florada yer alırlar. En sık kullanılanlar; *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium*'dur. Bunların dışında; *Escherichia*, *Enterococcus*, *Bacillus* (yanlış olarak; *Lactobacillus sporogenes* olarak isimlendirilmiştir), *Propionibacterium*, *Saccharomyces* kullanılabilir.

Genus, species, suş düzeyinde idantifiye edilmiş olmalıdırlar. Species idantifikasyonunda DNA-DNA hibridizasyon altın standarttır. konfirmasyonunda 16S rRNA tanımı önemlidir ve kullanılmalıdır. Kullanılan suşlar uluslararası kültür koleksiyonlarında yer almalıdır. Zararlı bakterilere karşı antimikrobial maddeler üretebilmelidir. Nonpatojenik olmalıdır. Aktarılabılır antibiyotik direnç genleri taşımamalıdır. Gıda ile kullanılmaya uygun olmalıdır. Mukozaya tutunabilmeli ve zarar vermemelidir. Mide asidi ve safraya dirençli olmalıdır. Bağırsak veya vajene kolonize olabilmelidir. Sağlık için etkinliği klinik olarak test edilmiş olmalıdır. En azından, faz 2 çalışması yapılmış olmalıdır. Tercihan bağımsız bir kuruluş tarafından sonuçlar onaylanmalıdır. Hazırlık ve saklanma aşamasında stabil olmalıdır. Tüm bu özelliklere sahip olduğu düşünülen ürünlerin hangisi olduğu, hangi amaca yönelik olarak kullanılabileceği iyi irdelenmelidir. Zira piyasada pek çok çeşit ve fiyatta ürün bulunmakta, eczanede satıldığı gibi internet üzerinden dahi sağlanabilmektedir. Bu konularda kullanıcının bilgilendirilmesi yararlı olur.

Kaynaklar:

1. Demirsoy A. Evrim; Atom altı parçacıktan insana türlerin görkemli yolculuğu. 1. Basım, Asi kitap 2017.
2. Nazlıkul H. Duygusal beyin: Bağırsak. 11. Basım, Destek yayınları 2016.
3. Gregory KE, Samuel BS, Houghteling P, et al. Influence of maternal breast milk ingestion on acquisition of the intestinal microbiome in preterm infants. *Microbiome*. 2016;4:68.
4. Hill C, Scott K, Klaenhammer TR, et al. Probiotic nomenclature matters. *Gut Microbes*. 2016;7:1.
5. Mayer EA, Tillisch K, Gupta A. Gut/brain axis and the microbiota. *J Clin Invest*. 2015;125:926.
6. Bested AC, Logan AC, Selhub EM. Intestinal microbiota, probiotics and mental health: from Metchnikoff to modern advances: part I. *Gut pathogens*. 2013;5:5.
7. Jumpstart Consortium Human Microbiome Project Data Generation Working Group. Evaluation of 16S rDNA-based community profiling for human microbiome research. *PLoS One*. 2012;6:e39315.
8. The Human Microbiome Project Consortium. A framework for human microbiome research. *Nature*. 2012;486:215.
9. Ley RE, Peterson DA, Gordon JI. Ecological and evolutionary forces shaping microbial diversity in the human intestine. *Cell*. 2006;124:837.
10. Fraher MH, O'Toole PW, Quigley EMM. Techniques used to characterize the gut microbiota: a guide for the clinician. *Nat. Rev. Gastroenterol. hepatol*. 2012;9:312.
11. Boulange CL, Neves AL, Chilloux J, et al. Impact of the gut microbiota on inflammation, obesity and metabolic disease. *Genome Medicine*. 2016;8:42.
12. Hill C, Guarner F, Reid G, et al. The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. Expert consensus document. *Nat. Rev. Gastroenterol. hepatol*. 2014;12:507.