



Mikrobiyom ve Deri Mikrobiyomuna Genel Bakış

Doç. Dr. Gülşen Akoğlu

Ankara Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastanesi Deri ve Zührevi Hastalıklar Kliniği, Ankara.

Yazışma Adresi: : Dr. Gülşen Akoğlu, Ankara Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastanesi Deri ve Zührevi Hastalıklar Kliniği, Ankara.
E-posta: gusemd@yahoo.com

Özet

Mikrobiyom ve Deri Mikrobiyomuna Genel Bakış

Mikrobiyom, bakteri, arkea, virüs, mantar, maya, akarlar gibi tüm genom içeren mikrobiyal üyelerini ifade eden bir terimdir. Son yıllarda geliştirilen özel teknikler sayesinde deri mikrobiyomunun içeriği ve özellikleri ortaya konmaya başlanmıştır. Kültür bağımsız metodlar sayesinde kültürü yapılamayan ya da üretilmesi kısıtlı olan başta bakteri olmak üzere birçok mikroorganizmanın gösterilmesi mümkün olmaktadır. Başta derinin topografik özellikleri olmak üzere kişinin yaşı, cinsiyeti ve immünolojik özellikleri deri mikrobiyomunun yapısını ve çeşitliliğini etkilemektedir. Deri mikrobiyomunun özelliklerinin bilinmesi sayesinde deri hastalıklarının patogenezinin daha iyi anlaşılacağı ve yeni tedavi alternatiflerinin geliştirileceği ön görülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Deri, mikrobiyom, genomik, metagenomik

Abstract

Microbiome and an Overview to the Skin Microbiome

Microbiome refers to the entire collection of all microbes containing genome such as bacteria, archaea, viruses, fungi, yeast, and mites. Recently developed special technics introduced us the content and features of skin microbiome. Non-cultivated or uncultivated many microorganisms, mainly bacteria, can be identified by culture independent methods. The structure and diversity of skin microbiome are affected by topographic features of the skin, age, gender, or immunological status of the individual. As the specific features of skin microbiome become evident, it is expected to understand the pathogenesis of skin disease and to develop new treatment methods.

Keywords: Skin, microbiome, genomic, metagenomics

Giriş

Mikrobiyom, ilk defa Nobel ödüllü genetikçi Joshua Lederberg tarafından tanımlanan, bir mikrobiyal topluluğun tüm genetik materyalini ifade eden bir terimdir (1). Mikrobiyom, bakteri, arkea, virüs, mantar, maya, akar gibi tüm genom içeren mikrobiyal üyeleri kapsar. İnsan ekosisteminde tüm hücrelerin toplam sayısının sadece %10'unu insan hücreleri, geri kalan %90'ını (yaklaşık 1 trilyon hücre) mikrobiyal hücreler oluşturmaktadır (2). Bu nedenle mikrobiyoma bizim "ikinci genomumuz" da denebilir (3).

Mikrobiyomla İlgili Bazı Önemli Terimler (4, 5)

Mikrobiyota: Bir topluluk içerisinde mevcut olan mikroorganizmalar (bakteri, mantar, virüs, arkea vs). Bazen normal flora yerine de kullanılmaktadır.

Çekirdek mikrobiyom: Belirli vucut bölgelerinde bulunan ve kişiler arasında sıklıkla benzer olan mikrop türlerinden oluşan mikrobiyom. Mikrobiyal popülasyonun en büyük oranını oluşturur.

Kalıcı mikrobiyom: Konakçı ile denge içerisinde olan, deri mikrobiyomunun nonpatojenik kommensal üyeleri.

Geçici mikrobiyom: Deri yüzeyinde kalıcı olarak bulunmayan ama çevreden kaynaklanan ve saatlerce / günlerce bulunabilen mikroorganizmalar.

Kommensalizm: Sadece bir organizmanın diğerinden fayda gördüğü, diğerinin zararına olmayan etkileşim.

Mutualizm: Her iki organizmanın faydalandığı yararlı etkileşim.

Disbiyoz: Vucut üzerinde veya içerisindeki mikrobiyal kompozisyonun bozulması durumu.

Metagenom: Bir topluluktaki tüm organizmaların toplam genomik DNA'sı.

Metagenomiks:Yüksek verimli deneysel veri ve biyoinformatik tekniklere dayanarak kültürü yapılmamış toplulukların tüm genomik DNA'larının incelenmesi.

Taksonomi: Canlıların sınıflandırılması ile ilgilenen bilim dalı

Taksonomik çeşitlilik: Mikrobiyotayı oluşturan türlerin çeşit sayısı.

Mikrobiyom çalışmalarında kullanılan metodlar:

A- Kültür-Bağımlı Metodlar

Yaklaşık 20 yıl öncesine kadar mikropları tanımlamak ve özelliklerini anlamak için altın standard olarak kabul edilen, mikropların kültürde üretilip izole edilmesine dayanan metodlardır. Koloni morfolojisi, boyama reaksiyonları, biyokimyasal özellikleri, motilite testleri ve antibiyotik direnç profilleri gibi özelliklerine dayanarak bakteri ve mantarlar taksonomik olarak sınıflandırılır (6).

Kültür-Bağımlı Metodların Avantajları (7)

- Mikropların metabolik ve fonksiyonel kapasiteleri, yaşam şekilleri konusunda bilgi verir.
- Konakçı-bakteri arasındaki ilişki hakkında tutarlı hipotezler kurulabilir.
- Kolonilerden tam genom sekanslama ve birçok fizyolojik ve genetik çalışmaların gerçekleştirilebilmesi için yeterli materyal elde edilebilir.

Kültür-Bağımlı Metodların Dezavantajları(4)

- Çoğu mikrobun üreme ve gelişme gereksinimleri konusunda bilgilerimizin eksik olması nedeniyle kültürde sınırlı sonuçlar elde edilebilir. Bu nedenle mikrobiyom içeriği konusunda sadece kısıtlı bilgi verir.
- İn vivo koşulları taklit edemez.
- Daha hızlı üreyen bakteriler daha yavaş üreyenleri engeller (stafilokoklar, malassezia vs).

B- Kültür Bağımsız Metodlar

Son 20 yılda geliştirilen bu metodlarla örnekler kültüre ekilmez. Mikrobiyom DNA'sı izole edilerek PCR, klonlama, sekanslama gibi yöntemlerle çoğaltılır (5). İnsan mikrobiyom incelemelerinde en sık kullanılan teknikler:

1- 16S ribozomal RNA (16S rRNA) kısmi sekanslama: 16S rRNA (rrs geni), ökaryotlarda yoktur. Tüm bakteri ve arkealarda bulunur. Bu metod bakterinin filogenetik tanımlanmasını sağlar. Ancak mikrobiyomun fonksiyonunun doğrudan bilgisini sağlayamaz (8).

2- Metagenomik: Herhangi bir mikroorganizma topluluğunun tüm genomlarının DNA sekanslamasına dayalı analizine denir (9). Elde edilen sekanslar referans genomlara göre haritalanır. Metagenomik yaklaşım bize örnek içerisinde mevcut olan tüm mikropların hem tür düzeyinde tanımlanmasını hem de göreceli olarak yoğunluklarının saptanmasını sağlar. Deri mikrobiyomunun fonksiyonel kompozisyonuna doğrudan erişim sağlar. 16S rRNA sekanslama "orada ne var?" sorusuna yanıt verirken tüm genom shotgun metagenomik sekanslama ek olarak "ne yapıyorlar?" sorusuna da yanıt verebilir (3, 5).

Kültür-Bağımsız Metodların Avantajları (4)

- Kültürde üretilmeyen ve saptanamayan mikroorganizmaları tanımlar.
- Deri mikrobiomunun eksiksiz ve tarafsız görünümünü ve genetik içeriğini elde etmeyi sağlar.
- Bakteriyel popülasyonlar dışında deri ile ilişkili maya, mantar ve viral topluluklar da moleküler metodlarla saptanabilir.

Kültür-Bağımsız Metodların Dezavantajları (3)

- Önemli miktarda DNA gereksinimi vardır. Düşük yoğunlukta topluluklarla kolonize olmuş kuru bölgeler gibi alanlarda uygulanması kısıtlıdır.
- İşlenmesi gereken veri büyük miktardadır.
- Elde edilecek genetik bilginin karşılaştırılabilmesi için referans sekanslarının bilinmesi gerekir.

-Organizmaların canlı ya da ölü olmasını ayırt edemez. Bu nedenle teknik olarak deri mikrobiyomunun öyküsünün analizidir.

-Örneklerin hazırlanması, aletlerin kullanılması ve sonuçların yorumlanması için deneyim gereklidir.

-Maliyeti yüksektir.

İnsan Mikrobiyom Projeleri

A-İnsan Mikrobiyom Projesi

2008-2013 yılları arasında Amerika Birleşik Devletleri Ulusal Sağlık Enstitüsü (National Institute of Health, NIH) öncülüğünde medikal araştırmaların yol haritasının bir parçası olarak 115 milyon dolar bütçe ile gerçekleştirildi. "Orada ne var?" sorusunun cevabı alınmaya çalışıldı (10). Bu projenin amaçları şöyle özetlenebilir:

-İnsanların majör ekolojik nişlerinde bulunan mikroorganizma topluluklarını tanımlamak

-Barsak, genitoüriner sistem ve derideki spesifik ortamların sağlıklı durum ve hastalık durumuna nasıl katkıda bulduklarını anlamak

-Bireyler arası mikrobiyal içerikleri araştırmak

-İnsanların paylaştıkları mikropların benzerlik ve farklılıklarından sorumlu mekanizmaları anlamak

-Mikrobiyal genom sekanslarını içeren bir referans katalog oluşturmak

Bu projede diş hekimleri, jinekolojistler, gastroenterolojistler, otolaringolojistler ve dermatologlar çalışmıştır. 18-40 yaş arası 600 kişi taranarak 242 kişi çalışmaya alındı. Oral kavite, deri, gastrointestinal yol ve vajen bölgeleri örneklenerek toplam 11174 örnek toplandı. 3,5 Tb metagenomik sekanstan fazlası incelendi. Bakteriyel topluluğun 16 S rRNA gen sekanslama ile taksonomik profili ve mikrobiyal topluluğun tüm genom sekanslama (WGS) ile metagenomik profili çıkarıldı. Referans genom kataloqları projenin internet sitesinden herkesin erişimine açılmıştır. Bu proje ve diğer çalışmalar sonucunda sağlıklı bireylerin deri mikrobiyomu tanım-

lanmış ve farklı bölgeler, bireyler ve zamanlar arasında değişimler gösterilmiştir.

B-Bütünleştirici İnsan Mikrobiyom Projesi

İnsan mikrobiyom projesinin ikinci kısmı olarak 2014 yılında başlanan bu projenin ana amaçları hem mikrobiyom hem de konakçı biyolojik özelliklerini belirlemek ve mikrobiyomun insan sağlığını ve hastalıklarını nasıl etkilediğini anlamaktır (11). Çeşitli – omik teknolojileri kullanılarak mikrobiyomun ve konakçının gen ekspresyonları, proteinleri ve metabolitleri tespit edilmeye çalışılmaktadır. Gebelik ve preterm doğum, inflamatuvar barsak hastalığı ve prediyabet olmak üzere 3 ana konuda mikrobiyom-hastalık ilişkisi araştırılmaya başlanmıştır.

Deri Mikrobiyomunun Özellikleri

Deri mikrobiyomunun yapısı: İnsan mikrobiyom projesi sayesinde, 16S rRNA gen filotiplendirme sonucunda bakteriyel deri mikrobiyomunda en az 19 fila tanımlandı. Herbir deri kısmının fizyolojik özelliğine göre gruplama yapıldığında taksonomik çeşitliliğin sırasıyla en fazla kuru bölgeler, nemli bölgeler ve sebase bölgelerde olduğu saptandı. Bir kişinin farklı deri bölgeleri karşılaştırıldığında mikrobiyal çeşitlilik farklıdır. Kişiler benzer deri bölgeleri karşılaştırıldığında, palmar bölgeler hariç diğer bölgelerin mikrobiyal çeşitliliği benzerdir. El mikrobiyomu hem kişinin kendisinin el yıkama alışkanlıkları ve çeşitli çevresel elemanlara temasları nedeniyle kişiler arasında farklılıklar göstermektedir (4).

Derinin mikrobiyal yapısı kalıcı ya da geçici olabilir. Sağlıklı bireylerde bulunan kalıcı deri bakterileri 4 farklı filaya ayrılır: Actinobacteria (%51,8), Firmicutes (%24,4), Proteobacteria (%16,5) ve Bacteroidetes (%6,3). Tanımlanan generaler arasında en sık saptananlar: Corynebacterium, Propionibacterium ve Staphylococcus'tur (12, 13).

Deri mikrobiyomunun içeriğine etki eden faktörler: İnsan mikrobiyomu her bir birey için benzersiz çeşitlilikte ve yoğunluktadır. Kişiler arası deri mikrobiyomu farklılıklarına intrinsik faktörler (yaş, genetik yapı, konakçı immün sistemi vb) ve eksternal faktörler (nem, mevsimsel hava şartları, eski antibiyotik tedavileri, giysi tipleri, losyon/krem

kullanımı, temizleyiciler, deodorantlar, antipersperantlar, hijyen sıklığı, diğer çevre yüzeyleri vb) etki etmektedir (4). Derinin topografik özellikleri başta olmak üzere en önemli etkenler aşağıda kısaca gözden geçirilmiştir.

Derinin bölgesel anatomisi (topografi): Derinin sebum içeriği, kıl yoğunluğu, apokrin/erkin aktivite, oklüzyon derecesi gibi faktörlerdeki farklılıklar derinin topografik özelliklerinde değişikliklere neden olur. Farklı mikroçevreler belirli türlerin gelişmesini sağlamaktadır. Kuru bölgelerde (önkol, kalça) *Corynebacteria*, β -*proteobacteria*, *Flavobacteriales*; nemli bölgelerde (aksilla, antekübital ve popliteal fossalar) *Corynebacteria*, β -*proteobacteria*, *Staphylococcus*; sebace bölgelerde (yüz, gövde üst bölge) *Propionibacterium*, *Staphylococcus* en baskın ana bakteri cinsleridir (12).

•**Cinsiyet:** Cinsiyet mikrobiyal topluluk yapısına katkıda bulunabilir ama bu faktörün önemi vücut bölgesine göre değişebilir. Özellikle steroid üretiminin cinsiyetler arasında farklı olması nedeniyle deri kalınlığı, kıl yoğunluğu, sebace gland aktivitesi değişmektedir. Cinsiyetin mikrobiyoma etkisi vücut bölgesine göre değişebilir (14).

•**Yaş:** Deri yaşla olgunlaştıkça belirli deri bölgelerindeki kalıcı mikrobiyom etkilenmektedir. Uterin hayatta steril olan deri, doğumdan sonra hızla mikroplarla kolonize olmaya başlar. Normal vajinal yolla doğanların deri mikrobiyomu annenin vajinal mikrobiyomuna benzer. *Lactobacillus* ve *Prevotella* yoğunluktadır. Sezaryenle doğanlarınki ise daha çok anne derisinininkileri taşır. Deri *Acinetobacter*, *Bacillales*, *Micrococcineae* ve *Staphylococcus* ile kolonizedir. Normal doğumla doğanlar, sezaryenle doğanlardan daha çok deri bakteriyel topluluklara sahipler. Bebekler çevre ile temas ettikçe, derinin farklı bölgeleri farklı nem, sıcaklık ve glandüler özellikler kazandıkça çeşitliliği gittikçe artan farklı deri mikrobiyomları gelişir. Küçük çocuklarda *Streptococcus*, *Betaproteobacteria*, *Gammaproteobacteria* baskın iken postadölesan gençlerde ve erişkinlerde bu türler çok azalır ve *Propionibacterium* ve *Corynebacterium*' u içeren lipofilik bakteriler baskın hale gelmeye başlar (14, 15,16).

•**İmmün sistem:** Herhangi bir zamanda derimizi $107/cm^2$ bakteri kolonize etmektedir. Bunların büyük kısmının stratum korneumda bulunduğu bilinmesine rağmen yakın zamanda epidermisin derinlerinde ve hatta dermiste de yerleştikleri saptanmıştır (17). Bu nedenle konakçının derinin immün yanıtını kontrol etmesi gereklidir. Aksi halde persistan bir aktivasyon kronik inflamatuvar hastalıklara neden olabilir.

Mikrobiyomla ilgili çalışmalar teknolojik olarak daha çok ilerleme göstermesi nedeniyle bakteriler hakkında önemli bilgiler elde edilebilmektedir. Mikrobiyomun diğer üyeleri olan virüsler, mantarlar, mayalar ve akarlar hakkında bilgilerimiz daha az olup metodların gelişmesi ile artış gösterecektir.

Deri viromu: Virüsler kendileri hastalık yapmaları dışında gen transferinde önemli vektörler olup bakterilerde önemli genetik varyasyonlara neden olabilmektedir (9). Vucudumuzun viral mikrobiyomunun araştırılması ile farklı tipteki mikropların kompleks etkileşimlerinin anlaşılacağı düşünülmektedir. İnsan viromu hakkında çok az bilgi mevcuttur. Bu durumun nedenleri arasında virüslerin hücre kültürlerinde amplifiye edilmesinin zor olması, mevcut metagenomik tekniklerin çok küçük genom yapısını saptayamaması, metodların çoğunlukla total DNA'nın sekanslanmasına dayanması nedeniyle RNA virüslerinin tespit edilememesi, virüslerin hızlı evrimleşmesi nedeniyle viral genom kütüphanelerinin oluşturulamaması, karmaşık veri bankalarına gereksinim olması sayılabilir.

Derinin fungal mikrobiomu: *Malassezia* en sık rastlanan fungal deri kommensali olarak karşımıza çıkmaktadır. Lipofilik mantar olup en sık yağlı bölgeler olan yüz, skalp ve sırtta bulunur. Lipaz, fosfolipaz ve alerjenler üretir. Bunlar inflamasyonu ve immün yanıtı tetikleyerek deri bütünlüğünü bozabilir. 18S rRNA gibi filogenetik belirteçler kullanılarak saptanabilir (18, 19).

Deri mikrobiyomunda artopodlar: Başlıca önemlisi demodex akarı olup lipofiliktir. *D. folliculorum* kıl folliküllerinde, *D. brevis* sebace glandlar ve göz kapağı kenarındali meibomial glandlarda bulunur (20).

Deri mikrobiyomunun kimliği ve özellikleri ile ilgili gelişmeler gün geçtikçe artmaktadır. Deri mikrobiyomunun özelliklerinin bilinmesi sayesinde deri hastalıklarının patogenezinin daha iyi anlaşılacağı ve yeni tedavi alternatiflerinin geliştirileceği ön görülmektedir.

Kaynaklar

- 1 Lederberg J, McCray AT. 'Ome sweet 'omics—a genealogical treasury of words. *Scientist*. 2001;15:8.
- 2 Savage DC. Microbial ecology of the gastrointestinal tract. *Annu Rev Microbiol* 1977; 31: 107-133.
- 3 Grice EA, Segre JA. The human microbiome: our second genome. *Annu Rev Genomics Hum Genet* 2012; 13: 151-170.
- 4 Kong HH, Segre JA. Skin microbiome: looking back to move forward. *J Invest Dermatol* 2012; 132: 933-939.
- 5 Morgan XC, Huttenhower C. Chapter 12: Human microbiome analysis. *PLoS Comput Biol* 2012; 8: e1002808.
- 6 Findley K, Grice EA. The skin microbiome: a focus on pathogens and their association with skin disease. *PLoS Pathog* 2014; 10: e1004436.
- 7 Wilson M. Microbial Inhabitants of humans: their ecology and role in Health and Disease. Cambridge University press, 2005; 31-33.
- 8 Lane DJ, Pace B, Olsen GJ, Stahl DA, Sogin ML, Pace NR. Rapid determination of 16S ribosomal RNA sequences for phylogenetic analyses. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1985; 82: 6955-6959.
- 9 Kong HH. Skin microbiome: genomics-based insights into the diversity and role of skin microbes. *Trends Mol Med* 2011; 17: 320-328.
- 10 <http://hmpdacc.org> (Erişim Tarihi: 21-12-2016).
- 11 <http://hmp2.org> (Erişim Tarihi: 21-12-2016).
- 12 Grice EA, Kong HH, Conlan S, ve ark. Topographical and temporal diversity of the human skin microbiome. *Science* 2009; 324: 1190-1192.
- 13 Grice EA, Segre JA. The skin microbiome. *Nat Rev Microbiol* 2011; 9: 244-253.
- 14 SanMiguel A, Grice EA. Interactions between host factors and the skin microbiome. *Cell Mol Life Sci* 2015; 72: 1499-1515.
- 15 Dominguez-Bello MG, Costello EK, Contreras M, ve ark. Delivery mode shapes the acquisition and structure of the initial microbiota across multiple body habitats in newborns. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2010; 107: 11971-11975.
- 16 Grice EA, Kong HH, Renaud G, ve ark. A diversity profile of the human skin microbiota. *Genome Res* 2008; 18: 1043-1050.
- 17 Nakatsuji T, Chiang HI, Jiang SB, Nagarajan H, Zengler K, Gallo RL. The microbiome extends to subepidermal compartments of normal skin. *Nat Commun* 2013; 4: 1431.
- 18 Xu J, Saunders CW, Hu P, ve ark. Dandruff-associated *Malassezia* genomes reveal convergent and divergent virulence traits shared with plant and human fungal pathogens. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2007; 104: 18730-18735.
- 19 Findley K, Oh J, Yang J, ve ark. Topographic diversity of fungal and bacterial communities in human skin. *Nature* 2013; 498: 367-370.
- 20 Lacey N, Kavanagh K, Tseng SC. Under the lash: Demodex mites in human diseases. *Biochem (Lond)* 2009; 31: 2-6.