Mikrobiyota ve İmmünite

25 Mart 2017

Dr. Resul Karakuş

Temel Kavramlar

- **Konak nedir?**

  İnsanın varoluşu son gelişmelerle (tekrar) tartışmaya açılmıştır:

- **Bilimsel & Teknik ilerlemeler**

  Bakterilerin Flora olmaktan çıkması

  "Normal Flora" → Mikrobiyota

  → **Paradigma değişikliği ?**

Temel Kavramlar

- **1990'lar:**

  PRR'lerin keşfi

- **2000'li yıllar:**

  Kültürden **bağımsız** mikrobiyol. tanımlama yöntemleri

➔ **Paradigma değişikliğini sağlayan**

temel unsurlar olmuştur

Temel Kavramlar

➔ **“Paradigma değişikliği”**

indirgemeci yaklaşım yerine

(**tekil olguların** anlaşılmasını önceleyen),

olguların bir arada değerlendirilerek anlaşılmasını amaçlayan &

“**tüm kapsam**”ı ele alan yaklaşım

“Sistemler Biyolojisi” (Denis Noble**)**

mikrobiyota ile **varoluş** →

“**bizim**” **gen txkripsiyonunda değişiklik** gibi…

➔ **Temel kavram – tanımlarda değişiklikler**

Temel Kavramlar

Konak (insan) & Mikroorganizma ilişkisi

mütüalizm, komensalizm veya parazitizm

Persistan simbiyotik ilişkideki mikroorganizmalar →
Mikrobiyota olarak adlandırılır

(~ ‘belirli **bir habitat** içinde, eg. GIS, bulunan **mo’lar bütünü**’)

‘habitat oluşturan **niş**’

“Mikrobiyota üyeleri” → “Simbiyontlar”

Simbiyontlar + Konak → “Holobiyont”

Temel Kavramlar

Konak (insan) & Mikroorganizma ilişkisi

-Mikrobiy(gen)om: mikrobiyotanın **total genomu**

-Hologenom: **mikrobiyom + konak genomu**

→**Evrimsel bir bakış açısı ile ilişkili**

Temel Kavramlar

Konak (insan) & Mikroorganizma ilişkisi

→**Evrimsel bakış açısı**:

çok hücreli organizmalar:

izole '**birey**'ler olarak **tanımlanamaz**

doğal koşullarında yaşayan **her hayvan, bitki**,

bir holobiyonttur

Bu çerçevede:

Memeli holobiyontlar,

bir organizmanın ökaryotik ve prokaryotik kısımlarının

birlikte evriminin (co-evolution) bir sonucudur

Temel Kavramlar

Konak İmmünitesi & Mikrobiyota ilişkisi

→ **Kommensallere karşı rafine bir denge**, tolerans

→ **Patojenlere karşı eliminasyon**a dayanan bir reaksiyon bütünü

➔**Daha ziyade**:

→ **Mikrobiyota tüm-organizmanın fizyolojisinin bir parçası**dır
(fizyolojiye entegre)

→ **İmmünite üzerindeki etkisi**,
homeostaza katkısının (önemli) bir parçasıdır

? **Hastalıklara atfedilen:**
«multifaktöryel», «idiopatik» kavramları
bu yapıların etkileşiminde yaşanan bazı sorunlar **?**

Temel Kavramlar

Hijyen Hipotezi

"**İnfeksiyonlar** normalde **immün sistemi uyararak**, aşırı duyarlılık reaksiyonları önler veya azaltır"

Mikrobiyota Hipotezi

"**Mikrobiyota** normalde immün sistem ile **iletişim kurarak**, aşırı duyarlılık reaksiyonlarını önler veya azaltır"

→ **revizyona ihtiyaç var mı?**

Mikrobiyota & İmmünite

Çok katmanlı bir ilişki

gelişimsel (**fetal hayat** → 2 yaş: **ilk 1000 gün**)

mukus

intestinal epitel (IEH)

doğal immün ögeler

edinsel immün ögeler

Fetal Varoluş

İnsan

-Steril (?) bir fetal hayat – relatif kısa dönem

-Mikrobiyota etkisinden bağımsız ?

Fetal Varoluş

MICROBIOTA

The maternal microbiota drives early postnatal innate immune development

Science, 2016;351:1296

Fare (germ-free)

gestasyonel, **geçici** bir **kolonizasyon** oluşturuluyor (*E. Coli* HA107)

doğumdan önce yine germ-free olmaları sağlanıyor

normal yoldan doğum gerçekleşiyor

➔

metabolik, fizyolojik süreçler için bir hazırlık:

epitelyal farklılaşma, mukus sekresyonu

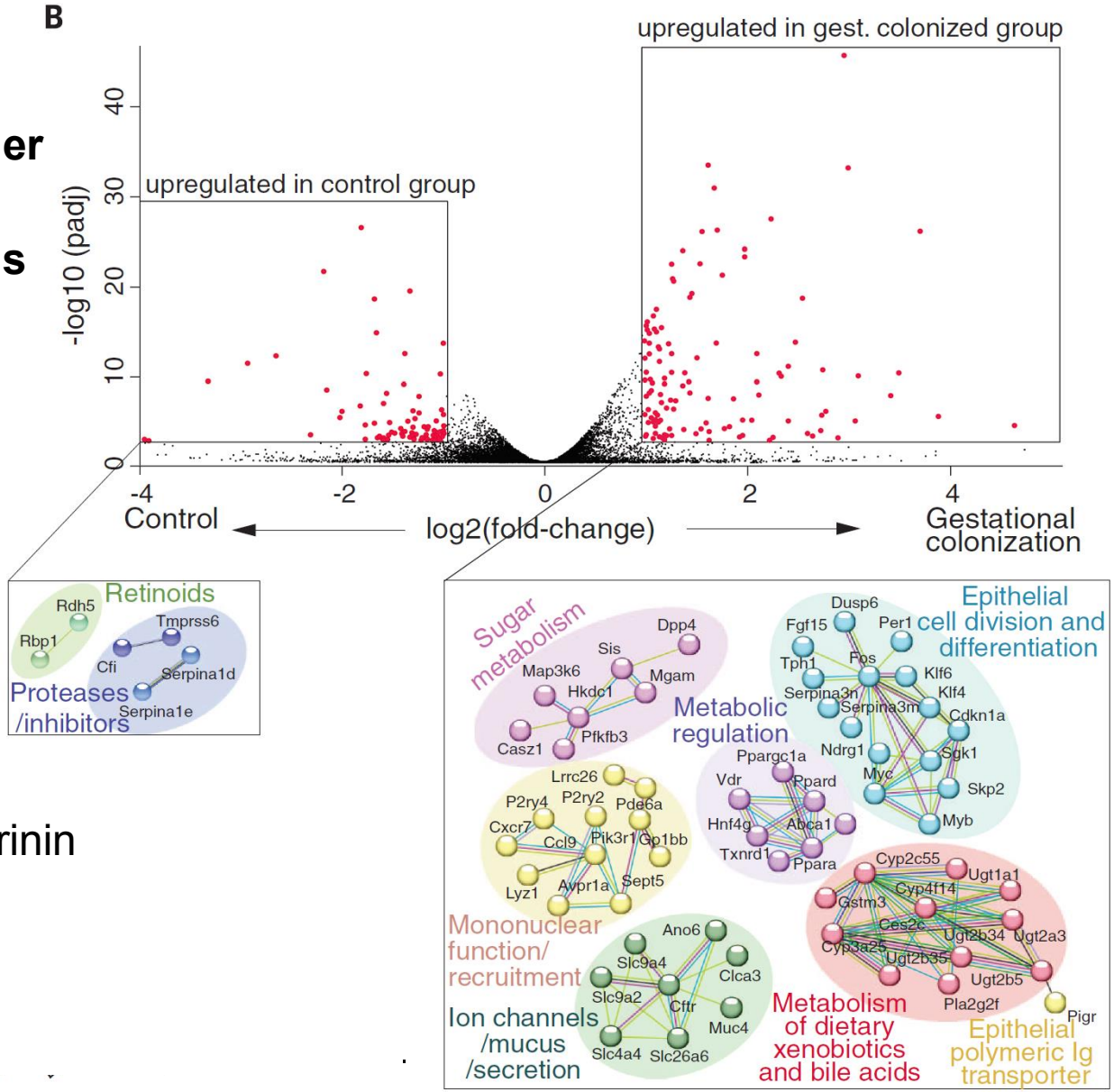
şeker ve diğer besinlerin **metabolizma**sı,

mononükleer hücreler için zemin hazırlanması

Polimerik-Ig reseptörü

Gestasyonel **mikrobiyal metabolit ve moleküller** →

YD'nın doğal immün hücrelerinin gelişimi üzerinde etkili



Fetal Varoluş

Fare (germ-free) → **bu etki nasıl oluşuyor** ?

Maternal Kolonizasyon →

Maternal Ab'ların (**IgG**) **fetusa transferi** ile gerçekleşiyor

Etki, **kolonize gebelerden alınan serum**un,
kolonize edilmemiş gebelere transferi ile **sağlanabiliyor**

Yorum:

intestinal maruziyet →

IgG'ler **steril bakteriyel fragmanlar**ı ve **molekülleri bağlar**
mikrobiyal ürünler bu biçimde **fetusa geçiyor** olabilir

Fetal Varoluş

Maternal Kolonizasyon →

- özellikle **defensin** gibi,
  anti-mikrobiyal etkili **peptidlerin ekspresyonunda artış**
- **IgA**'nın mukozal alanlara transportunu sağlayan
  Poly-Ig-R'ünde artış
- özellikle **ILC3** olmak üzere,
  ILC'lerde artış

➔ "**gelecek-olan-mikrobiyota**" için hazırlamaktadır

Organ System	Number of Different Bacterial Species
Gut	500-1000
Skin	>200
Eyes	<10
Oral cavity	750+
Vagina	Varies with menstrual cycle and race; primarily lactobacillus (20+ types)
Lungs	Few
Stomach	<10

bağırsak bir prototip

fizyolojik etkisi sistemik

Mukus

Mukus tabaka

- **Goblet** hücreleri → yoğun **glikolize, müsinöz proteinler**
- oluşumu **mikrobiyota tarafından indüklenir**
  (germ-free'lerde çok ince kalır)
- **kalınlığı** ve **sürekliliği** **mikrobiyota yoğunluğu ile korele**
- mikrobiyota ile **direk teması önler**,
  ancak **metabolit ve komponentler epitele ulaşabilir**

- **yapıtaşı** (Muc-2) açısından **benzer**, **işlevsel açıdan farklı**
  → **iki katman**dan oluşur

Mukus

Dış katman

örgü açısından **daha gevşek**

➔ mikrobiyota için:

dayanak (anchor) noktası

besin kaynağı (proteoglikanlar)

kataliz ile →

asetik asit, laktat → **patojenlere toksik**

proprionat ve butirat → **epitel için enerji kaynağı**

10x daha fazla bakteri barındırır

İç katman

çapraz-bağ **örgüsü yoğun**

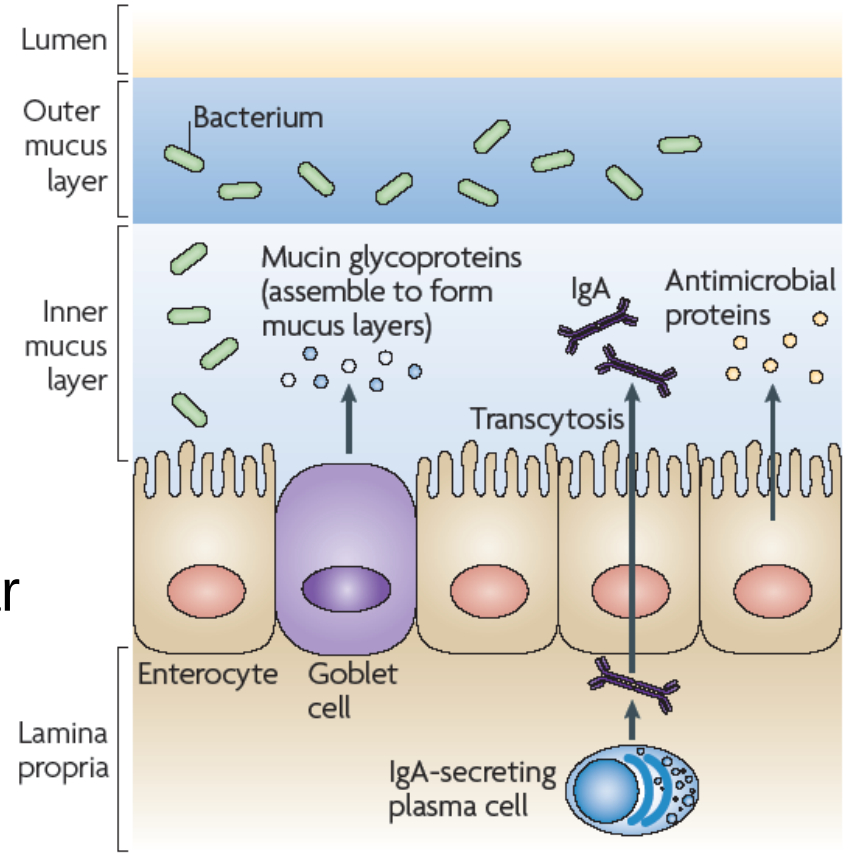
epitele **adheran**

mo için relatif **geçirgen değil**

yoğun olarak **AMP**

+ **sIgA** içerir

bir mayın tarlası gibi, bir rezervuar



İntestinal Epitel

Epitel tabaka

İntestinal yüzey → ~**300m²** ? … **60-80m²**

çokça PRR barındırır (membran + sitozolik)

lüminal - bazolateral membran **PRR'leri farklı**dır

"**alıcı-dağıtıcı**" aparat işlevi +

lüminal içeriği: algılama, tanıma, uyarıları iletme

müsin ve AMP'leri → **apikal** sekresyon

SK ve KK'leri → **internal** sekresyon

İntestinal Epitel

- mukusa **diffüze olan** **metabolitler & komponentler**

  → **PRR'ler üzerinden**,

  gen ekspresyonunu değiştirebilir

- **ekspresе PRR'ler**:

  * birçok **TLR** üyesi
  * **NOD** üyeleri (NOD1, NOD2)
  * **İnflamazom oluşturabilen üyeler**

    (NLRC4, NLR family CAspaseRecruitmentD-containing protein 4)

    (NLRP6, NACHT-, LRR- and PYD-domain-containing protein 6)

İntestinal Epitel

PRR'ler '**stratejik**' **bir dağılım** sergiler

mikrobiyota → **non-invazif**

→ **apikal PRR**'ler (TLR) ile temas

(apikal TLR'lerde aktiv. eşiği yüksek

tonik, sürekli uyarım ?)

patojenler → **invazif** stratejiler +, virülans faktörleri

→ **sitozolik PRR** ile tanınma ➔ inflamat. yanıt

bazolateral PRR'ler (TLR) ile temas

→ "**güvenlik açığı**" **algısı ➔ inflamat. yanıt**

İntestinal Epitel

Epitel tabaka

"**co-adaptation**" **?**

bazı mikrobiyota üyelerinde,

olası temas durumunda,

"**primum-non-nocere**" eğilimi +

Bacteroides & *Lactobacillus*

TLR'ler ile yoğun temas

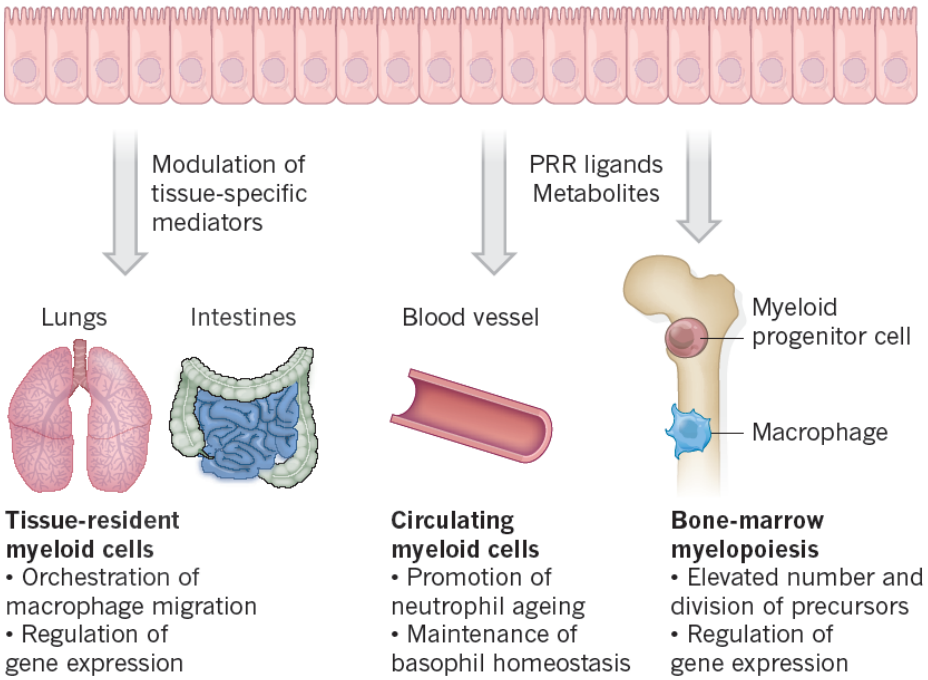
→ **NF-kB aktivasyonu önlebilir**

(NF-kB,

TLR inflamatuar yanıtlarında hub konumundadır)

Doğal İmmünite

Myeloid Hücreler



NRI, 2016;535:65

Myelopoiez,
intestinal mikrobiyota,
serum **TLR-ligand yoğunluğu** ile
korrelasyon göstermekte

Fetal hayatta,
annenin mikrobiyotası ile !

Fare:
gebelikte antibiyotik →
yavrularda nötrofil sayıları düşük
(hem dolaşım, hem öncül düzeyinde)

Mikrobiyota:

Dokulardaki **yerleşik makrofajlara katkı +**
(gelişimsel, anti-inflamat. kapasite)

Doğal İmmünite

Myeloid Hücreler

Microbiota-Derived Compounds Drive Steady-State Granulopoiesis via MyD88/TICAM Signaling

The Journal of Immunology

2014;193:527

- **germ-free** fare, **geçici kolonizasyon**
- **mikrobiyota**ya **spesifik bir IgG oluşumu gözlenmiyor**
  - →**myelopoiez artış** gösteriyor
  - →kolonizasyon **etkisi serumla transfer** edilebiliyor

→adaptif immüniteyi uyarmayacak düzeyde düşük, **mikrobiyal Ag ve TLR-ligandları varlığı** yeterli

Doğal İmmünite

Doğal Lenfoid Hücreler

"**Innate lymphoid cell**, **ILC**"

* Ag-spesifitesi yok; **mukozal alanlarda yoğun H'ler**
* bu grubun ilk tanımlanmış hücresi **klasik NK**'dır

→'**Non-sitolitik ILC**'

* eksprese ettikler**i tf'leri**, **SK** panelleri, **efektör fx**'a göre:

ILC1, ILC2, ILC3

* **ortak özellikleri**:

çevresel uyarıları entegre eder,

çok hızlı SK sentezler,

diğer immün hücrelerle etkileşir

Doğal İmmünite

"**ILC3**"

* gerek **mikrobiyota**, gerek **infeksiyon**larda **ön planda**
* **gelişimi ve fonksiyonu mikrobiyota bağımlı**
  (ILC1 ve ILC2 → gelişim bağımsız, fonksiyon bağımlı)

* ILC'ler içinde en **heterojen grup**

* **PRR ekspresе etmez**ler

* **lümene fukoz gönderir** → mikrobiyota için besin

Doğal İmmünite

"**ILC3**"

* **metabolit sensörleri +**

AhR:**Fitokimyasallar**

VitA eks'de → yanıt vermede zorluk

VitD eks'de → bozulmuş yanıt

bakteriyel metabolitler – SCFA, indol, etanolamin…

* **homeostatik mikrobiyota ilişkisi**nde,

sürekli **IL-22 sentezi**

→ **IL-22**:

doku-protektif; müsin ve AMP uyarımı sağlar

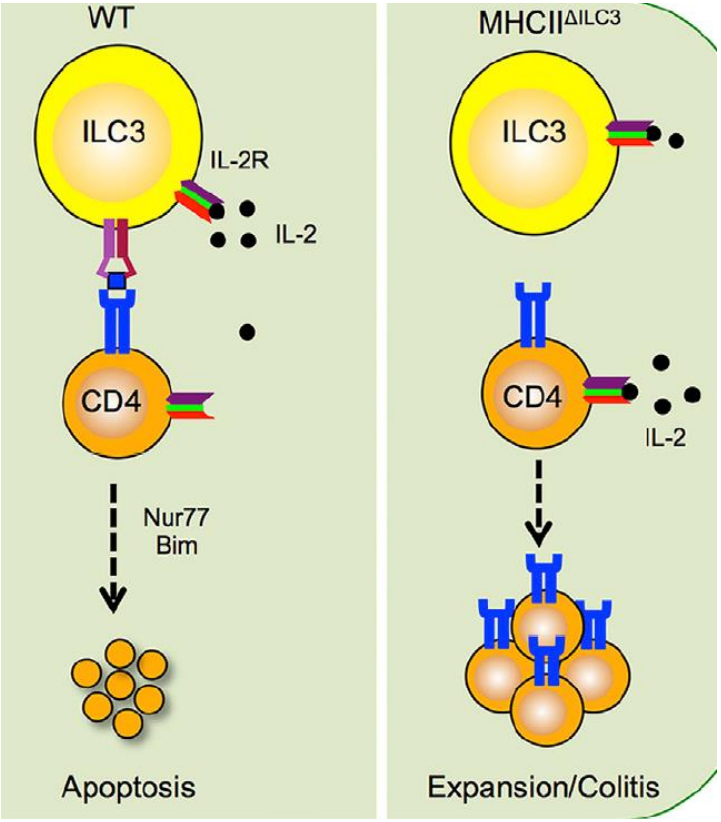
Doğal İmmünite

"**ILC3**"

* **MHC sII xpr +** → naive intestinal **CD4+'lere Ag sunar** ?!!!

  antijenik fragmanlar? metabolitler – yoğunluğu ?

* Hücre **proliferasyonu değil**, **tolerans indüklenir**



Immunity, 2015;43:12.

ILC you in the gut

IMMUNE TOLERANCE

Group 3 innate lymphoid cells mediate intestinal selection of commensal bacteria-specific CD4$^+$ T cells

Science, 2015;348:1031.

Edinsel İmmünite

Mikrobiyota ile kontrollü bir varoluş,
edinsel immünite ile mümkün

"**birlikte-evrim**" bu noktada daha olası

Mikrobiyota varlığı →
infeksiyon riskinin azaltılması
+ metabolik olarak "**ek avantaj**"
→ sağkalım-avantajı

Edinsel İmmünite

DC'ler

Doğal ile Edinsel arasında **önemli bir köprü**

Klasik olarak aktivasyon:

PRR'ler üzerinden

Metabolitler bu **aktivasyon eşiğine katkı** yapmakta

(**diyet / endojen** kaynaklı)

endojen = **komşu hücreler** ve/veya **mikrobiyota**

Özellikle SCFA dengesi

→ **tolerojenik durum, anti-inflamatuar fenotip**

Edinsel İmmünite

Treg'ler

Mikrobiyota homeostazında,

asıl etkili edinsel immünite elemanlarıdır

CD4+T-hücre alt-grubu

nTreg → timusta

iTreg → periferik dokular

(FoxP3 negatif olanlar → **Tr1**)

Edinsel İmmünite

iTreg'ler

homeostazda ağırlıklı TGF-β & IL-10 profili sergiler

(TGF-β ortamı IEH'ler tarafından sağlanır)

yoğun CTLA-4 xpr ederler

→ **CTLA-4 + TGF-β + IL-10** → Th1, Th2, Th17 eğilimini **baskılar**

yüzeyde TLR2 xpr ederler

mikrobiyota polisakkaritleri (Bacteroides fragilis – **PSA**)

TLR2'yi uyarabilir → **IL-10 sentezi** sağlanır

mikrobiyotaya dair bu tür moleküller =

SAMP, **Simbiyont Assosiye Moleküler Patern**

sIgA havuzu için elzem olduğu düşünülmektedir

Edinsel İmmünite

sIgA

kaynağı B-lenfositler → **plazma hücreleri**

sIgA > **%70'i mikrobiyotaya karşı** reaktif

mikrobiyota → intestinal epitel → **APRIL** – bazolateral

APRIL:

T-bağımsız olarak,

B-lenf.'lerden IgA sentezini indükler

iTreg → T_{FH} dönüşümü:

T-bağımlı olarak IgA sentezi

Edinsel İmmünite

sIgA

T-bağımsız sentez:

düşük afiniteli; epitele distal mikrobiyotaya karşı

T-bağımlı sentez:

yüksek afiniteli; epitele proksimal mb'ya karşı

Mikrobiyota çeşitliliği arttıkça, sIgA havuzu genişlemekte

Mikrobiyotaya bağlanması → bakteriyel NO'yu baskılıyor

Başlıca rolü: **mütüalizmi sağlamak** ?!!

… arkası yarın: Triclosan ve maceraları