

T.C
ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TİBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**AKCİĞER KANSERLİ HASTALARIN
BRONKOALVEOLAR LAVAJ SIVILARINDA AKCİĞER
MİKROBİYOTASININ BELİRLENMESİ**

Ali ÜÇKAYABAŞI

**TİBBİ MİKROBİYOLOJİ DOKTORA PROGRAMI
DOKTORA TEZİ**

**DANIŞMANI
Dr. Öğr. Üyesi Toğrul NAĞIYEV**

ADANA-2022

T.C
ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

AKCİĞER KANSERLİ HASTALARIN BRONKOALVEOLAR LAVAJ SIVILARINDA AKCİĞER MİKROBİYOTASININ BELİRLENMESİ

Ali ÜÇKAYABAŞI

**TIBBİ MİKROBİYOLOJİ DOKTORA PROGRAMI
DOKTORA TEZİ**

**DANIŞMANI
Dr. Öğr. Üyesi Toğrul NAĞIYEV**

**Bu çalışma TDK-2019-12442 nolu proje olarak Çukurova Üniversitesi Araştırma
Projeleri tarafından desteklenmiştir.**

Bu çalışma YÖK 100/2000 Doktora Projesi tarafından desteklenmiştir.

ADANA-2022

TEŞEKKÜR

Eğitim sürem boyunca bilimsel desteklerini esirgemeyen, her zaman hoşgörölü davranan Çukurova Üniversitesi Tıp Faköltesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Başkanımız Sayın Prof.Dr. Fatih KÖKSAL'a, akademik tecrübelerinden faydalandığım, her konuda rahatlıkla ulaşım danıştıım danışman hocam Sayın Dr.Öğr.Üyesi Toğrul NAĞIYEV'e ve Çukurova Üniversitesi Tıp Faköltesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı değerli öğretim üyeleri ve çalışma arkadaşlarıma sonsuz saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmalarıım boyunca maddi, manevi her zaman yanımda olduklarını hissettiğim çalışma arkadaşlarıma ve bölüm çalışanlarına, örnek toplama aşamasında sabırla bana yardımcı olan Balcalı Hastanesi Göğüs Hastalıkları Polikliniği çalışanlarına, özellikle Sayın Doç. Dr. Sedat KULECİ'ye, yeni nesil dizileme ve istatistiksel analizleri yapmamda yardımcı olan Sayın Doç.Dr. Aycan GÜNDOĞDU ve asistanı Arş. Gör. Mehmet HORA'ya teşekkür ederim.

Son olarak, hayatımın her aşamasında olduğu gibi doktora eğitimim süresince de hep yanımda olan sevgili annem Gül ÜÇKAYABAŞI, babam Zihni ÜÇKAYABAŞI, kardeşlerim Mahmut ve İpek'e, sevgili nişanlım Hale ÖKSÜZ'e desteklerinden ötürü sonsuz teşekkür ve sevgilerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
TEŞEKKÜR	iii
İÇİNDEKİLER	iv
ŞEKİLLER DİZİNİ	vii
ÇİZELGELER DİZİNİ	viii
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	ix
ÖZET	xi
ABSTRACT	xii
1. GİRİŞ ve AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	5
2.1. Mikrobiyota ve Mikrobiyom	5
2.1.1. Akciğer Mikrobiyotasının Komponentleri	6
2.1.2. Akciğer Mikrobiyotasının Oluşması	7
2.1.3. Sağlıklı Akciğerlerde Mikrobiyota Kompozisyonu	7
2.2. Kanser	8
2.2.1. Kanser ve İmmün Sistem İlişkisi	11
2.2.1.1. İmmün Gözetim	11
2.2.1.2. İmmün Düzenleme	11
2.3. Mikrobiyota ve Kanser	12
2.3.1. Mikrobiyota ve Kanser İmmünitesi	14
2.3.2. Tümör Mikrobiyomu	15
2.4. Akciğer Kanseri	16
2.4.1. Akciğer Kanserinde Mikrobiyota Kompozisyonu	17
2.5. Mikrobiyota ve Kanser Tedavileri	18
2.5.1. Platin Bazlı Kemoterapötik Ajanlar	20
2.5.2. Alkilleyici Ajanlar	20
2.5.3. Kontrol Noktası İnhibitörleri	21
2.5.4. Adoptif İmmünoterapi	21
2.6. Mikrobiyota ve Karsinogenez İnteraksiyonu ile İlişkili Mekanizmalar	22

2.6.1. Mikrobiyota Disbiyozu	22
2.6.2. Genotoksisite ve Virölans Etkisi	23
2.6.3. Metabolizma	23
2.6.4. İnflamasyon	24
2.6.5. İmmün Cevap	24
2.7. Yeni Nesil Dizileme	25
3. GEREÇ VE YÖNTEM	26
3.1. Örneklerin	26
3.1.1. Örnek Grupları	26
3.1.2. Örneklerin Alınması ve Taşınması	26
3.2. Konvansiyonel Kültür Yöntemleri ile Mikrobiyota Değerlendirilmesi	26
3.2.1. Bakteriyolojik İnceleme	26
3.2.1.1. İdentifikasyon	27
3.2.2. Mikobakteriyolojik İnceleme	28
3.2.2.1. Fenotipik İnceleme	28
3.2.2.1.1. Örneklerin Mikroskopik İncelenmesi	28
3.2.2.1.1.1. EZN Boyama İşlemi (ARB, AARB Boyama)	29
3.2.2.1.2. Kültür Ortamında İzolasyon	29
3.2.2.1.2.1. Lowenstein-Jensen (LJ) Agarda Kültür	29
3.2.2.1.2.2. BACTEC MGIT 960 Sisteminde Kültür	29
3.3. Yeni Nesil Dizileme ile Mikrobiyom Analizi	30
3.3.1. DNA İzolasyonu	30
3.3.1.1. QIAamp DNA Blood Mini Kit ile DNA İzolasyonu	30
3.3.2. Çift İplikli DNA (dsDNA) Kantifikasyonu	31
3.3.3. 16S rRNA Polimeraz Zincir Reaksiyonu ve Sekanslama	31
3.3.3.1. 16S rRNA V3-V4 Gen Bölgeleri için Polimeraz Zincir Reaksiyonu	32
3.3.3.2. PZR Ürünü Görüntüleme	32
3.3.3.3. Amplikon Temizleme	32
3.3.3.4. Temizlenmiş 16S rRNA V3-V4 Amplikonları için Index PZR	33
3.3.3.5. 16s rRNA V3-V4 Dizileme için Kütüphane Oluşturulması	35

3.3.3.6. Kütüphane ve PhiX Kontrolün Hazırlanması ve Cihaza Örnek Yükleme.....	35
3.3.4. Yüksek Çıktılı Yeni Nesil DNA Dizilemesi Sonucu Elde Edilen Verilerin Analizi.....	36
3.4. İstatistiksel Analiz.....	37
4. BULGULAR.....	38
5. TARTIŞMA.....	69
6. SONUÇ ve ÖNERİLER	75
KAYNAKLAR	78
ÖZGEÇMİŞ	89



ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Şekil No:</u>	<u>Sayfa No:</u>
Şekil 2.1. Kanser immün düzenleme sürecinin 3 fazı	12
Şekil 2.2. Antikanser tedavinin mikrobiyota modülasyon mekanizması.....	19
Şekil 2.3. Karsinogenezi modüle eden mikrobiyom mekanizması.....	22
Şekil 3.1. Katalaz testi (Negatif-Pozitif)	27
Şekil 3.2. Koagülaz testi (Negatif-Pozitif)	28
Şekil 3.3. TruSeq Index Plate Fikstür,.....	34
Şekil 4.1. Şube seviyesinde oluşturulmuş OTU tablosu.....	41
Şekil 4.2. Şube seviyesinde oluşturulmuş OTU tablosuna ait renk kodları ve örnek bazında oranları..	42
Şekil 4.3. Sınıf seviyesinde oluşturulmuş OTU tablosu.	43
Şekil 4.4. Takım seviyesinde oluşturulmuş OTU tablosu.	43
Şekil 4.5. Aile seviyesinde oluşturulmuş OTU tablosu.....	44
Şekil 4.6. Cins seviyesinde oluşturulmuş OTU tablosu (bar grafiği).	44
Şekil 4.7. Cins seviyesinde oluşturulmuş OTU tablosu (alan grafiği).	45
Şekil 4.8. Cins seviyesinde oluşturulmuş OTU tablosuna ait renk kodları ve örnek bazında oranları..	46
Şekil 4.9. Beta çeşitlilik Temel Koordinatlar Analizi Görüntüsü (3 Boyutlu).	60

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge No:

Sayfa No:

Çizelge 2.1.	Akciğer kanseri hastalarından alınan çeşitli örnekler ile yapılan çalışmalarda tespit edilen bakteri toplulukları	6
Çizelge 4. 1.	Kültürde İzolasyon Sonuçları	39
Çizelge 4.2.	YND ile tespit edilen mikrobiyom çeşitliliğinin taksonomik birimlere dağılımı	40
Çizelge 4.3.	Hasta grubunda şube ve cins düzeyindeki mikrobiyom çeşitliliğinin risk faktörleri ile karşılaştırılması	40
Çizelge 4.4.	Yeni Nesil Dizileme ile Akciğer Mikrobiyom Analizi Sonucunda Hasta Grubunda Belirlenen En Baskın Beş Bakteri Cinsi ile Kültürde İzolasyon Sonuçlarının Karşılaştırılması.	61
Çizelge 4.5.	Yeni Nesil Dizileme ile Akciğer Mikrobiyom Analizi Sonucunda Kontrol Grubunda Belirlenen En Baskın Beş Bakteri Cinsi ile Kültürde İzolasyon Sonuçlarının Karşılaştırılması.	65
Çizelge 4.6.	Hasta grubu ile Kontrol grubunun karşılaştırılması sonucunda istatistiksel olarak anlamlı derecede baskın olan cinslerin dağılımı.....	66
Çizelge 4.7.	Hasta grubunda akciğer kanserine eşlik eden ek hastalığı olan bireyler ile kontrol grubunun karşılaştırılması sonucunda istatistiksel olarak anlamlı derecede baskın olan cinslerin dağılımı	66
Çizelge 4.8.	Hasta grubunda akciğer kanserine eşlik eden ek hastalığı olmayan bireyler ile kontrol grubunun karşılaştırılması sonucunda istatistiksel olarak anlamlı derecede baskın olan cinslerin dağılımı.....	67
Çizelge 4.9.	Hasta grubunda akciğer kanserine eşlik eden ek hastalığı olan bireyler ile hasta grubunda akciğer kanserine eşlik eden ek hastalığı olmayan bireylerin karşılaştırılması sonucunda istatistiksel olarak anlamlı derecede baskın olan cinslerin dağılımı	68
Çizelge 4.10.	Hasta grubunda sigara içen bireyler ile hasta grubunda sigara içmeyen bireylerin karşılaştırılması sonucunda istatistiksel olarak anlamlı derecede baskın olan cinslerin dağılımı	68

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

ACT	: Adoptif Hücresel Terapi
BAL	: Bronkoalveolar Lavaj
CDT	: Sitoletal Distansiyon Toksini
CTLA4	: Sitotoksik T Lenfosit Antijeni 4
CTX	: Siklofosfamid
Cybb	: Sitokrom β -245 Ağır Zincir
DC	: Dendritik Hücre
DCA	: Deoksikolik Asit
dsDNA	: Çift İplikli DNA
EMT	: Epitelyal Mezenkimal Geçiş
ETBT	: Enterotoksijenik <i>Bacteroides fragilis</i>
EZN	: Ehrlich Ziehl Neelsen
FDA	: Amerika Gıda ve İlaç Dairesi
HT	: Hibridizasyon Buffer
IACR	: Uluslararası Kanser Kayıtları Birliği
ICI	: İmmün Kontrol Noktası İnhibitörleri
IL	: İnterlökin
KOAH	: Kronik Obstrüktif Akciğer Hastalığı
L1	: Ligand1
LJ	: Lowenstein Jensen
MAMP	: Mikrobiyal Patojenle İlişkili Moleküler Kalıp
MGIT	: Mycobacterium Growth Indicator Tube
MLN	: Mezenkimal Lenf Nodları
NFAT	: Aktive Edilmiş T Hücre Nükleer Faktörü
NLR	: NOD Benzeri Reseptörler
NOD2	: Nükleotid Bağlayıcı Oligomerizasyon Alanı İçeren Protein 2
NOX2	: NADPH Oksidaz 2
OTU	: Operasyonel Taksonomik Ünite
PCoA	: Temel Koordinatlar Analizi
PD1	: Programlanmış Hücre Ölümü Proteini 1

PRR	: Patern Tanıyan Reseptör
PZR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
ROS	: Reaktif Oksijen Türleri
STAT3	: Sinyal Transdüseri ve Transkripsiyon Aktivatörü 3
TAA	: Tümörle İlişkili Antijen
TDM	: Tüberküloz Dışı Mikobakteriler
Th	: T Yardımcı Hücre
TIL	: Tümör İnfiltratif Lenfosit
TLR	: Toll Benzeri Reseptörler
Treg	: T Regülatör Hücre
TSA	: Tümör Spesifik Antijen
YND	: Yeni Nesil Dizileme
YNS	: Yeni Nesil Sekans-Next Generation Sequencing
QIIME	: Quantitative Insights Into Microbial Ecology

ÖZET

AKCİĞER KANSERLİ HASTALARIN BRONKOALVEOLAR LAVAJ SIVILARINDA AKCİĞER MİKROBİYOTASININ BELİRLENMESİ

Bütün dünyada yüksek morbidite ve mortaliteye sebep olan akciğer kanseri kansere bağlı ölümlerin yaklaşık %20'sinden sorumlu tutulmaktadır. Günümüzde, onkoloji alanındaki çok önemli gelişmelere rağmen, kanser hala tamamen tedavi edilebilir hastalıklar kategorisinde değildir. İnsan vücudunda doğumdan itibaren kolonize olan mikroorganizma türlerinin ya da hastaneden veya çevreden kazanılan fırsatçı patojen mikroorganizmaların, kanser tedavisine verilen bireysel yanıtlar ve toksisite dahil olmak üzere kompleks karsinogenez aşamalarında rol oynadığı gösterilmiştir. Bu sebeple biz bu çalışmada, akciğer kanser tanısı alan ve almayan hastaların akciğer mikrobiyotasında bulunabilecek mikroorganizmaların varlığını araştırmayı ve bu mikrobiyota kompozisyonlarını karşılaştırmayı amaçladık.

Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Balcalı Hastanesinde Aralık 2019 – Ekim 2020 tarihleri arasında akciğer kanseri tanısı alan 31 hastadan ve pulmoner nodülü olan fakat akciğer kanseri tanısı almamış 13 kontrol grubu bireyden bronkoalveolar lavaj (BAL) örneği alındı. Örneklerden DNA izolasyonu sonrası 16S rRNA gen bölgesi hedef alınarak yeni nesil dizileme (YND) ile akciğer mikrobiyom analizi yapıldı. Ayrıca konvansiyonel kültür yöntemleri kullanılarak örneklerden bakteri identifikasyonu yapıldı.

Çalışmamızda kültürde hasta grubunda *Neisseria* ve *Streptococcus* cinsi bakteriler, kontrol grubunda da *Haemophilus*, *Streptococcus* cinsi bakteriler baskın olarak izole edilmişken, YND ile mikrobiyom analizinde her iki grupta da *Prevotella* ve *Veillonella* gibi anaerob bakteri cinslerinin baskın olduğu tespit edilmiştir. *Lactococcus*, *Pediococcus*, *Anaerobacillus* ve *Friedmanniella* cinsi bakterilerin akciğer kanseri gelişimi ile yakın bir ilişki içinde bulunduğu görüldü.

Çalışmamız Ülkemizde akciğer kanserli hastaların akciğer mikrobiyotasının incelendiği ilk çalışma özelliğini taşımaktadır. Aynı zamanda, dünyada da YND ile akciğer mikrobiyom analizinin kültürde izolasyon ile birlikte değerlendirildiği az sayıda çalışmalardan biridir. Bu sebeple, çalışmamızın akciğer kanserinin mikrobiyota ile ilişkisini aydınlatmaya yönelik çalışmalara ışık tutacağını düşünmekteyiz. Mikrobiyotanın hastalıklarla ilişkisini belirlemek için yapılan çalışmalarda, gerektiğinde YND ile mikrobiyom analizinin uygun besiyerleri kullanılarak konvansiyonel kültür yöntemleri ile de desteklenmesinin, ayrıca akciğer mikrobiyotası ile birlikte bağırsak mikrobiyotasının da incelenmesinin daha faydalı olacağı kanaatindeyiz.

Anahtar Kelimeler: Akciğer kanseri, bronkoalveolar lavaj, mikrobiyom, mikrobiyota, yeni nesil dizileme

ABSTRACT

DETERMINATION OF LUNG MICROBIOTA IN BRONCHOALVEOLAR LAVAGE FLUIDS OF PATIENTS WITH LUNG CANCER

Lung cancer, which causes high morbidity and mortality all over the world, is responsible for approximately 20% of cancer-related deaths. Nowadays, despite the very important developments in oncology, cancer is still not in the category of completely curable diseases. It has been shown that microorganisms colonizing the human body from birth, or opportunistic pathogenic microorganisms acquired from the hospital or the environment, play a role in complex carcinogenesis stages, including personal responses to cancer treatment and toxicity. Therefore, we aimed to investigate the presence of microorganisms that can be found in the lung microbiota of patients with and without lung cancer, and to compare the compositions of these microbiota in this study.

Bronchoalveolar lavage (BAL) samples were collected from 31 patients diagnosed with lung cancer and 13 controls with pulmonary nodules but not diagnosed with lung cancer at Balcali Hospital of the Faculty of Medicine of Cukurova University between December 2019 and October 2020. After DNA isolation from the samples, lung microbiome analysis was performed by next generation sequencing (NGS) by targeting the *16S rRNA* gene region. In addition, bacteria were identified from the samples using conventional culture methods.

In our study, *Neisseria* and *Streptococcus* species in the patient group, *Haemophilus* and *Streptococcus* species in the control group were dominantly isolated in the culture when anaerobic bacteria such as *Prevotella* and *Veillonella* were found be dominant in both groups in microbiome analysis by NGS. *Lactococcus*, *Pediococcus*, *Anaerobacillus* and *Friedmanniella* were found to be closely related to the development of lung cancer.

Our study is the first in our country to examine the lung microbiota of patients with lung cancer. In addition, our study is one of the few studies in the world in which lung microbiome analysis by using NGS was evaluated together with isolation in culture. Therefore, our study will shed light on studies aimed at illuminating the relationship between lung cancer and microbiota. In studies conducted to determine the relationship of microbiota with diseases, we are of the opinion that it would be more beneficial to support microbiome analysis by using NGS with conventional culture methods using appropriate media, if necessary, and to examine gut microbiota together with lung microbiota.

Key Words: Bronchoalveolar lavage, microbiome, microbiota, next generation sequencing, lung cancer

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Bütün dünyada yüksek morbidite ve mortaliteye sebep olan akciğer kanseri kansere bağlı ölümlerin yaklaşık %20'sinden sorumlu tutulmaktadır. Bu hastalığın 2018 yılında 1,76 milyon kişinin ölümüne yol açtığı bildirilmiştir. Akciğer kanserli hastaların 5 yıllık sağkalım oranları %20'den azdır¹. Günümüzde, karsinogenezde moleküler mekanizmalar tespit edilerek, bunların terapötik hedef olarak kullanılması ve bu süreçte rol oynayan birçok faktörün net olarak tanımlanması ile sağkalım oranında başarılar elde edilmiş ve sürveyans uzatılabilmektedir, ancak kanser tam olarak tedavi edilebilir bir hastalık haline getirilememiştir. Kanser etyopatogenezinde sorumlu potansiyel faktörlerin tespit edilmesi amacıyla çok sayıda araştırma yapılmaktadır. Bu doğrultuda kanser kaynaklı bireysel, toplumsal ve ekonomik kayıplar azaltılabilecek veya önlenilecek, belki de yakın gelecekte kanser tamamen tedavi edilebilir hastalıklar arasında yerini alabilecektir²⁻³.

Etiyopatogenezinde birçok etkenin olduğu, halen tam olarak anlaşılamamış aktif bir süreç olan karsinogenez, hasarlı olmayan sağlam bir vücut hücresinin genetik ve epigenetik modifikasyonlar sonrasında kanser hücresine dönüşüm süreçlerinin tamamını kapsamaktadır. Genetik hasarın başlatılması tümör baskılayıcı genler ve protoonkogenlerin etkin rol oynadığı, irreversibl faza geçiş ve sonucunda organizmanın kanser hücrelerine maruz kaldığı, çevresel toksik maddeler, iyonize radyasyon, beslenme bozuklukları, immün sistem anomalileri gibi birçok faktör karsinogenezi başlatabilmektedir. Son zamanlarda yapılan çalışmalarda mikrobiyotanın da multifaktöriyel karsinogenez aşamalarında aktif rol aldığı gösterilmiştir⁴. Kanser tedavisinde özellikle son zamanlarda onay almış, tümörleri spesifik olarak hedef alan terapötik yaklaşımlar ile başarı şansı artmıştır. Bunlara, serviks kanserinin profilaktik tedavisinde kullanılan anti-insan papillomavirüs aşılıları ile metastatik melanomlarda immünoterapide kullanılan, sırasıyla sitotoksik T lenfosit antijeni 4'ü (CTLA4) ve programlanmış hücre ölüm proteini 1'i (PD1) hedef alan ipilimumab ve pembrolizumab isimli ilaçların kullanılması örnek olarak gösterilebilir⁵.

Kanser tedavilerindeki gelişmelere rağmen, birçok kanser çeşidi, yüksek mortalite oranı ile seyretmektedir. Tedavi yanıtı, etkinliği ve tedaviye direnç gibi hastaya özgü süreçlerin mekanik olarak anlaşılması, yeni terapötik stratejilerin

geliştirilmesinde ve personalize edilmiş tedavi protokollerinin uygulanması için kullanılacak mevcut ilaçların etkinliğinin optimize edilmesinde çok önemlidir⁶.

İnsan vücudunun değişik bölgelerinde doğumdan itibaren kolonize olan ve homeostaziste aktif rol oynayan mikroorganizmaların hematopoez, inflamasyon ve immünite başta olmak üzere birçok fizyolojik fonksiyon üzerindeki etkileri “İnsan Mikrobiyota Projesi” kapsamında yapılan çalışmalarda büyük ölçüde açığa kavuşturulmuştur⁴. Özellikle de kanser dahil pek çok hastalıkla ilişkisinin gösterilmesi ile bu alanda çalışmalar hız kazanmış ve mikrobiyotanın artık yeni bir organ olarak değerlendirilmesi gerektiği görüşü ortaya çıkmıştır^{5,8-10}. Yaş, coğrafi farklılıklar, diyet alışkanlıkları, antibiyotikler, probiyotikler gibi faktörler ve intestinal motilite, pH, redoks durumu, mikronutrientler, sekresyonlar (asit, safra, mukus, enzimler) gibi tanımlanmış birçok etiyolojik faktörün bağırsak mikrobiyota kompozisyonunda yol açtığı bazı değişiklikler diabetes mellitus, kardiyovasküler hastalıklar ve kanser dahil birçok kronik hastalık ile ilişkili bulunmuştur¹¹⁻¹³.

Dünya üzerinde tahmin edilen, 10¹² farklı mikrobiyal türden sadece 11’i Uluslararası Kanser Kayıtları Birliği (IACR) tarafından insan kanserojenleri veya onkomikropolar olarak tanımlanmıştır. Bu mikroorganizmalar yılda tahmini 2.2 milyon kanser vakasına neden olurlar. Elde edilen veriler ışığında, mikroorganizmaların genotoksin aracılı mutagenез yoluyla kanserleri başlattığı gösterilmiştir. Özellikle kolorektal, baş, boyun ve idrar yolu kanserlerinde kolibaktin, sitoletal distansiyon toksini (CDT) ve *Bacteroides fragilis* toksininin neden olduğu mutasyonlar tespit edilmiştir¹⁴⁻¹⁹.

İlk olarak yaklaşık 200 yıl önce, William B. Coley ısı ile inaktive ettiği streptokokları, kanserli hastalara enjekte ederek efektif bir antitümör cevabı almıştır. Bu çalışması ile ilk immünoterapi anti-kanser tedavisini uygulamış ve tümörlü hücrelerin büyümesinde, immün sistemin rolünü göstermiştir⁶. Daha sonra 1920’lerde yüzeysel mesane kanseri olan hastalara, intravenöz olarak *Mycobacterium bovis* enjekte edilmiş ve mikrobiyal immün aktivasyonunun, kanser hücrelerini ortadan kaldırdığını göstererek, hastaların sağkalım oranının artması ile sonuçlanan bir anti-kanser immün cevap alınmıştır²⁰.

Mikrobiyota, vücudumuzun değişik bölgelerinde simbiyotik olarak yaşayarak immünolojik, hormonal ve metabolik homeostazisimiz için hayati önem taşıdığı bilinen

mikroorganizmalar bütünü tanımlar. Mikrobiyom ise, gelişmiş moleküler yöntemler kullanılarak herhangi bir yaşam alanında canlılığı ispatlanamasa da birarada tespit edilebilen mikroorganizmalar topluluğudur. Diğer bir deyişle, mikrobiyota mikrobiyomu oluşturan bütün canlı üyelerden ibarettir. Mikrobiyotanın kanser ile ilişkisi üzerine yapılan çalışmaların çoğunda, bakteriyel mikrobiyoma odaklanılmıştır. Bakteriler üretmiş oldukları toksinleri ile DNA onarımı, hücre bölünmesi ve apoptozisi kontrol eden proteinlerin ekspresyonlarını değiştirerek hücrelerin anormal büyümesine sebep olup hücre döngüsünü bozabilirler^{21,22}. Ayrıca, bakteriler konağın malign hücrelere karşı immün cevap oluşturmalarını da modüle edebilirler. Son zamanlarda yapılan çalışmalarda, mikrobiyota kompozisyonu ile klinik immünoterapi arasında bir ilişki olduğu gösterilmiştir. Hayvan modelleri üzerinde yapılan çalışmalarda, mikrobiyotanın solid tümörlerin immün kontrol noktası inhibitörlerinin (ICI), özellikle de CTLA4'ün ve PD1/ligand 1'in (L1) sensitivitesini modüle ettiği gösterilmiştir²³⁻²⁵.

Elde edilen veriler ışığında epitelyal yüzeylerde yaşayan kommensal ve mutual mikroorganizma türlerinin ya da hastaneden veya çevreden kazanılan özellikle tüberküloz dışı mikobakteriler (TDM) gibi fırsatçı patojen mikroorganizmaların karsinogenez ve prognozundaki rolü tam açıklanamamış olsa da, vücudumuzda kolonize olan bu mikroorganizmaların kanserin başlangıcı, progresyonu ve vücuttaki yaygınlığı, kanser tedavisine verilen kişisel yanıtlar ve toksisite ile ilişkili oldukları bilinmektedir. Özellikle çocukluk döneminde kazanılan mikrobiyotanın şekillenerek daha sonraki yaşam için immünolojik yanıtları etkileyebileceği, ayrıca antikanser tedavilere yanıt ve toksik yan etki eğilimlerini de değiştirebileceği, yani dolaylı olarak da olsa karsinogenezin her aşamasında anahtar bir rol oynayabileceği ile ilgili yeni kanıtlar ortaya çıkmaktadır. Çalışmaların genelinde bağırsak mikrobiyotası üzerine odaklanılmış, bu çalışmalar sonucunda bağırsaktaki mikrobiyal dengesizliğin homeostazis mekanizmalarını bozarak lokal etkisiyle beraber vücut genelinde de infeksiyon hastalıklarına duyarlılığın artmasına, otoimmün durumlara ve karsinogeneze katkıda bulunduğu gösterilmiştir^{2,3,5,7-13,26,27}. Sindirim sistemi kanserlerine katkısına ek olarak, bağırsak mikrobiyotasının hem doğrudan hem de “bağırsak-akciğer eksenini” adı verilen organlararası etkileşim mekanizmaları ile akciğer mikrobiyotası üzerinden immün yanıt, enflamasyon, metabolizma, genotoksisite ve virülans etki modülasyonu ile akciğer kanseri dahil kronik akciğer hastalıklarının başlangıcı ve gelişiminde de

önemli bir rol oynadığı bildirilmiştir^{7,8,28-34}. Ancak akciğer kanserine lokal etki gösterdiği düşünülen akciğer mikrobiyotası üzerine yeterli sayıda çalışma bulunmamaktadır.

Akciğer kanserli hastalarda mikroorganizmaların gözardı edilerek uygulanan tedavi stratejilerinin başarısızlıkla sonuçlanması ve bütün dünyada bu hastalığın yüksek morbidite ve mortaliteyle seyretmesi göz önüne alındığında, biz bu çalışmayla akciğer kanser tanısı alan ve almayan hastaların akciğer mikrobiyotasında bulunabilecek mikroorganizmaların varlığını araştırmayı ve bu mikrobiyota kompozisyonlarını karşılaştırmayı amaçladık.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. Mikrobiyota ve Mikrobiyom

Mikrobiyota, vücudumuzun değişik bölgelerinde simbiyotik olarak yaşayarak immünolojik, hormonal ve metabolik homeostazisimiz için hayati önem taşıdığı bilinen mikroorganizmalar bütünüdür. Mikrobiyom ise, gelişmiş moleküler yöntemler kullanılarak herhangi bir yaşam alanında canlılığı ispatlanamasa da birarada tespit edilebilen mikroorganizmalar topluluğudur. Diğer bir deyişle, mikrobiyota mikrobiyomu oluşturan bütün canlı üyelerden ibarettir. Bir insan vücudunda yaklaşık 40 milyon hücre ve 22 bin gen bulunmasına karşın aynı zamanda insan vücudu 900 farklı bakteri, 360 farklı mantar türünün ve çeşitli organizmaların dahil olduğu 100 trilyon mikroorganizma hücresi ve 2 milyon mikrobiyal gene de ev sahipliği yapmaktadır³⁵. Bu mikroorganizmalar, başta gastrointestinal kanal, oral kavite, vajina, deri gibi tüm mukozal yüzeylerde bulunurlar ve vücudun farklı kısımlarında, farklı dominant tür olarak görülmektedirler³⁶.

İnsan mikrobiyotasının şekillenmesinde başta doğum ve beslenme etkiliyken; yaş, coğrafi farklılıklar, diyet alışkanlıkları, antibiyotikler, probiyotikler gibi faktörler, intestinal motilite, pH, redoks durumu, mikronutrientler, sekresyonlar (asit, safra, mukus, enzimler) gibi tanımlanmış birçok etiyolojik faktör de mikrobiyotanın kompozisyonunun farklılık göstermesine neden olur^{3,10}.

Normal fizyolojik şartlarda mikrobiyotanın; hematopoez, inflamasyon ve immünite başta olmak üzere insan sağlığı üzerinde birçok fonksiyonu bulunmaktadır, ancak yapılan çalışmalarda mikrobiyota kompozisyonundaki değişiklikler diabetes mellitus, kron, obezite, romatoid artrit, enfeksiyon, kanser, otoimmün ve kardiyovasküler hastalıklar dahil birçok kronik hastalık ile ilişkili bulunmuştur. Mikrobiyotanın insan sağlığı ve kanser dahil pek çok hastalıkla ilişkisinin gösterilmesi ile bu alanda çalışmalar hız kazanmış ve mikrobiyotanın artık, yeni bir organ olarak değerlendirilmesi gerektiği görüşü ortaya çıkmıştır. Gelecekte mikrobiyotanın ilaçlar için hedef olarak kullanılabileceği ve böylece, birçok hastalığın tedavisinde biyobelirteç olarak ön plana çıkabileceği düşünülmektedir^{3,10}.

2.1.1. Akciğer Mikrobiyotasının Komponentleri

Akciğerler sürekli olarak, üst solunum yollarında bulunan ve havada asılı kalan mikroorganizmalara maruz kalmaktadır. Yakın zamana kadar, akciğerlerde geleneksel kültür yöntemleri ile nadiren bakteri izole edildiği için, alt solunum yollarının steril olduğu kabul edilmiştir. Sağlıklı kişilerde kültür teknikleri ile izole edilen bakterilerin üst solunum yolları florasına ait olduğu düşünülmüştür, bunun dışında alt solunum yollarında bakterilerin bulunması patolojik olarak değerlendirilmiştir³⁷⁻³⁹. Günümüzde insan akciğerlerindeki bakteri biyokütlesi az olmasına rağmen, bakteri DNA'sı alt solunum yollarında sıklıkla bulunmakta ve yeni nesil sekans (YNS) teknikleri ile tespit edilmektedir^{27,37,40-42} (Çizelge 2.1).

Çizelge 2.1. Akciğer kanseri hastalarından alınan çeşitli örnekler ile yapılan çalışmalarda tespit edilen bakteri toplulukları⁴³

Bakteri taksonları	Çalışmada kullanılan örnek sayısı	Materyal
<i>Granulicatella</i> , <i>Abiotrophia</i> , <i>Streptococcus</i>	16	Balgam
<i>Granulicatella</i> , <i>Streptococcus</i> , <i>Mycobacterium</i>	10	Balgam
<i>Veillonella</i> , <i>Megasphaera</i>	28	Bronkoalveolar lavaj
<i>Cyanobacteria</i>	29	Akciğer dokusu
<i>Streptococcus</i> , <i>Neisseria</i>	42	Korunmuş fırça örneği
<i>Streptococcus</i> , <i>Prevotella</i>	40	Akciğer dokusu
<i>Acidovorax</i>	176	Akciğer dokusu
<i>Streptococcus</i> , <i>Veillonella</i>	85	Havayolu fırça örneği

Yapılan çalışmaların birçoğu, akciğerde tespit edilen bakteriyel DNA'ların, cansız mikroorganizmalardan kaynaklandığı göstermiştir^{41,42,44}. Willis ve arkadaşları yapmış olduğu çalışmada, sinüs dokusundan elde edilen bakteriyel DNA'ların yarısının cansız mikroorganizmalardan kaynaklandığını tespit etmişlerdir⁴⁵. Akciğerlerin immün hücreler tarafından aktif olarak denetlenmesi, bakterilerin sağlıklı akciğerlerde nadiren bulunduğu dair geleneksel görüşü desteklemektedir⁴¹. Segal ve arkadaşları yapmış olduğu çalışmada, akciğer örneklerindeki bakteriyel DNA'ları negatif kontrol örneklerinden ayırt edememişlerdir³⁵. Bu bulgular, akciğerlerde izole edilen bakteri DNA'larının canlı olmayan organizmalardan kaynaklandığını desteklemektedir⁴⁶⁻⁴⁸.

Fakat son zamanlarda yapılan çalışmalarda ise, uygun protokoller uygulandığında alt solunum yollarında bulunan mikroorganizmaların kültürlenebileceği gösterilmiştir, bu da mikrobiyotanın sadece bakteriyel DNA veya kalıntılarından oluşmadığını desteklemektedir^{49,50}.

2.1.2. Akciğer Mikrobiyotasının Oluşması

Hayvan modelleriyle yapılan çalışmalarda, yaşamın ilk 2 haftasında akciğerlerde bakteri popülasyonunun arttığı tespit edilmiştir⁵¹. Yapılan çalışmalarda, erken dönemde *Gammaproteobacteria*, *Firmicutes*'e ait bakteri taksonları hakimken, ileri dönemde özellikle *Bacteroidetes* şubesine ait çeşitli bakteri taksonlarının baskına hale geldiği gösterilmiştir. Mikrobiyota kompozisyonu değişikliklerinin, çevresel alerjenlere toleransı arttıran, PD1 bağımlı T regülatör (Treg) hücrelerinin artmasıyla ilişkili olduğu düşünülmektedir. Bu nedenle akciğer mikrobiyotası, akciğer immün sistemini şekillendirir ve organı inhale mikroorganizmalara karşı korumada kilit rol oynar⁵¹.

İnsanlarda alt solunum yollarına mikroorganizmalar, yaşamın ilk 2 ayında yerleşir⁵². Erken doğan bebeklerde akciğer mikrobiyota kompozisyonu, doğum şekline bağlı olarak değişmektedir^{53,54}. Alt solunum yollarına mikroorganizma yerleşmesinin mikroaspirasyonlara bağlı olduğu düşünülmektedir. Normal kişilerde, akciğer mikrobiyotası değerlendirildiğinde, bazı spesifik bakterilerin göreceli olarak bol miktarda bulunmasına karşın, bunun üst havayollarından kaynaklanıp kaynaklanmadığı bilinmemektedir⁴². Çünkü sağlıklı bireylerde de mikroaspirasyonlar görülmektedir. Bunun ötesinde, normal bireylerde görülen mikroaspirasyonların, kronik obstrüktif akciğer hastalığı (KOAH), astım, uyku apne sendromu, kistik fibrozis ve kronik akciğer enfeksiyonu olan hastalarda daha fazla olduğu bilinmektedir. Bu durum hastalıklı bireylerdeki mikrobiyota çalışmalarında bir sorun olmaya devam etmektedir. Ayrıca çeşitli çevresel maruziyetler ve sık antibiyotik kullanımı da alt solunum yolu mikrobiyotası üzerine bir etki oluşturmaktadır⁴².

2.1.3. Sağlıklı Akciğerlerde Mikrobiyota Kompozisyonu

Kültürden bağımsız teknikler kullanılarak yapılan analizlerde, özellikle *Firmicutes* şubesine ait *Veillonella*, *Streptococcus* ve *Bacteroidetes* şubesine ait *Prevotella* gibi oral kommensal bakterilerin sağlıklı akciğerlerde bol miktarda

bulunduğu tespit edilmiştir^{16,19,21,41,42}. Sağlıklı kişilerde faringeal sekresyonların mikroaspirasyonu, akciğer mikrobiyotasının temelini oluşturmaktadır²²⁻²⁵.

Segal ve ark. akciğer mikrobiyomunu bakteri yükü ve taksonları baz alarak "pnömotip" adı verilen iki grupta sınıflandırmışlardır. Birinci grupta bakteri popülasyonu fazladır. *Prevotella* ve *Veillonella* gibi oral kommensal mikroorganizmalarca zengindir ve supraglotik baskın taksonlar pnömotipi olarak adlandırılmıştır. İkinci grupta ise, bakteri yükü azdır. *Acidocella* ve *Pseudomonas* gibi çevresel taksonlar bulunur ve arka plan baskın taksonlar pnömotipi olarak adlandırılmıştır. Oral kommensal mikroorganizmaların bol miktarda bulunduğu mikrobiyomla, akciğerin immün durumunun modülasyonunda anahtar rol oynayan T yardımcı 17 (Th17) hücreleri ile ilişkili lokal inflamatuvar cevapla korele olduğu gösterilmiştir⁴². Yapılan başka bir çalışmada ise, akciğer mikrobiyomunun oral kavite ve diğer bölgelerden farklı mikroorganizma topluluğu içerdiği, özellikle proteobakterilerin baskın olduğu (%60) tespit edilmiştir⁵⁵.

2.2. Kanser

Kanser büyüme özellikleri bozulmuş hücrelerin klonal yayılımıdır ve somatik genetik hastalıkların en sık, en yaygın ve aynı zamanda en komplike olanıdır⁵⁶. Batı toplumlarında her üç insandan birinde kanser gelişmekte ve beşte biri ölmektedir^{56,57}. Tüm kanserler, DNA dizisindeki birtakım anormalliklerle oluşmaktadır. Kanserlerin %10- 15 sinin, kalıtsal olduğu yani ebeveynlerden gelen genlerle aktarıldığı, geriye kalan %85-90' lık kısmını ise yaşam boyunca canlı hücrelerdeki DNA'nın, mutajenlere maruz kalması, hücre DNA sındaki hafif progresif değişiklikler ve replikasyonda hatalar oluşması ile şekillendiği düşünülmektedir. Bazen oluşan bu mutasyonlardan biri, içinde bulunduğu hücrenin büyümesini ve bu hücreden türeyen bir kanser klonunun oluşmasını sağlar. Kanser multifaktöryel olup, bakterilerden virüslara, radyasyondan kalıtıma, çevresel faktörlerden beslenme alışkanlığına ve kimyasallara kadar birçok faktör kanser oluşumunda suçlanmaktadır⁵⁸⁻⁶³. Kalıtım yoluyla kanser meydana gelme olasılığı çevresel faktörlere oranla çok daha azdır. Genlerin, bazı hastalıklara karşı yatkınlığa neden olup olmadıkları konusundaki araştırmalar halen devam etmektedir. Normalde tümör gelişimini önleyen tümör baskılayıcı genlerdeki bir bozukluğun, kalıtsal olarak

aktarılması ve sigara gibi bir karsinojenin ilave katkısı ile bireyler kansere yatkın bir hale gelebilmektedirler⁶⁴⁻⁶⁶.

Çevresel olarak maruz kaldığımız birçok kimyasal madde, kansere sebep olmaktadır. İlaçlar ve yağlı yiyecekler, bazı küfler (alfatoksinler), iyottan fakir diyet, kırmızı etten zengin diyetler, yanmış yağları içeren besinler de kansere sebep olan önemli çevresel faktörlerdendir. Sigara, alkol, hardal gazı, benzen, kömür tozu ve zifti, madeni yağlar, naftalin ve asbestos da diğer kimyasal kanser yapıcı etkenlerdir⁶⁴⁻⁶⁶.

Kansere sebep olan fiziksel etkenler içinde, radyasyon, ısı, güneş ışığı, mekanik darbeler bulunmaktadır. İyonize radyasyon gibi ışınlamalar (x, gama ışınları, nükleer emisyonlar, ultra viole ışınları) biyolojik makromoleküllere direkt olarak etki edebilecek yeterli intrinsic (quantum) enerjiye sahiptirler. Böylelikle biyolojik makromoleküllerden elektron kopartabilir ya da bunları pozitif yükle yükleyebilir⁶⁴⁻⁶⁶. Bu ise DNA'da tek ve çift zincir kırıkları ile baz ya da şekerde modifikasyonlara sebep olur. Son yıllarda elektrikli ev aletlerinden yayılan, düşük ve yüksek frekanslı manyetik alanların da (non-iyonize ışınlamalar) DNA üzerinde hasar oluşturduğuna dair çalışmalar mevcuttur^{67,68}.

Serbest radikaller, bir veya daha fazla ortaklanmamış elektron ihtiva ettiklerinden oldukça reaktiftirler. Biyolojik sistemlerdeki en önemli serbest radikaller oksijenden oluşan reaktif oksijen türleridir (ROS). ROS'un kanser oluşumunun farklı evrelerine etki ettiği ve böylece kanser oluşumunda birçok roller üstlendiğine dair önemli kanıtlar vardır^{61,69}. ROS oluşumunu ve bunun oluşturduğu hasarı önlemek için vücutta bulunan savunma mekanizmalarına antioksidan koruma sistemi (antioksidanlar) denir. Hücresel oksidan sisteme karşı antioksidan koruma sistemi, gerekli dengeyi sağlar. Hücresel oksidan sistemin aşırı yüklenmesi yüzünden bu kritik denge bozulduğu zaman (oksidatif stres) ROS, hücre hasarı oluşturur⁶⁴.

Oksidatif strese bağlı olarak gelişen, DNA hasarı eğer onarılmazsa, premutajenik özellik gösterir⁶⁴. Mitozun hasarlı kopyalanmış DNA ile devamı, tümör hücresi ile sonlanabilir. Ayrıca ROS, protein ve lipid peroksidasyonu ile plazma membranında hücresel aktiviteleri etkileyerek yapısal değişiklikler oluşturabilir. ROS membrana bağlı protein kinazları, büyüme faktörleri ve reseptörlerini böylece de sinyal iletimini, onkogen aktivasyonunu ve baskılayıcı genlerin inaktivasyonunu etkileme yeteneğine

sahiptirler. Bu da göstermektedir ki ROS, onkogenler ve kanser oluşumu üzerinde önemli etkiye sahiptir⁶⁹.

Çevresel faktörlerin ve beslenme alışkanlıklarının olumlu yönde olması ise kanserlerden korunmada oldukça önemlidir. Meyve ve sebze tüketiminin akciğer, mide, meme, pankreas, kalın bağırsak, gırtlak ve yemek borusu kanserlerini önlediğine dair pek çok bilimsel bulgu vardır. ROS'un karsinogenezdeki olumsuz etkilerine karşı, meyve ve sebzelerin içermiş olduğu antioksidanlar ve posalı yapıları sayesinde koruyucu etki gösterdiği belirlenmiştir⁷⁰.

Genetik değişiklik replikasyonla yayıldığından dolayı karsinogenesis için hedef hücreler, dokularda sürekli yenilenen kök hücreleridir⁷⁰. Tümör oluşumu, neoplastik transformasyon (genetik defektlerin gelişimiyle normal hücrenin neoplastik hücreye dönüşümü) ve neoplastik gelişim olarak ikiye ayrılır. Onkogenesis ve karsinogenesisde olayların ilk basamağını neoplastik transformasyon oluşturmaktadır^{71,72}. Neoplastik transformasyon spontan olabileceği gibi çeşitli şekillerde indüklenerek de (baz çifti değişikliklerini, mispairing, delesyon, translokasyonları ve amplifikasyonları) oluşabilir⁷⁰. Başka bir deyişle oluşan neoplastik transformasyon, DNA replikasyonunun ve tamir mekanizmalarının düzgün çalışmaması sonucu hücrelerde oluşan mutasyonların sonucudur. Mutasyonlar, büyüme kontrolünün kaybı^{73,74} ile sonuçlanarak, protoonkogenler, tümör baskılayıcı genler, tümör baskılayıcı genleri düzenleyici genler ve büyümeyi kontrol eden genlerde oluşur⁷⁵⁻⁷⁷.

Onkogenesisin ikinci basamağında yer alan neoplastik gelişme, kanser hücrelerinin klonal proliferasyonuna yol açarak,^{70,78} önce çevre dokulara sonra da uzak dokulara yayılarak büyümesini sağlar⁷⁹. Sürekli proliferasyonla tümörün biyolojik davranışında malignansiye doğru giden progressif değişiklikler ortaya çıkar⁸⁰.

Kansere sebep olan etmen her ne olursa olsun, sonuçta hücrenin genetik malzemesinde bozulma meydana gelir. Tek bir gendeki mutasyondan çok, birkaç gende birden oluşan hasar (hücre sayısının artması yönünde çalışan genler onkogenler, tümör önleyici genler ve DNA onarım genleri) kanser oluşumunda rol oynamaktadır⁸¹.

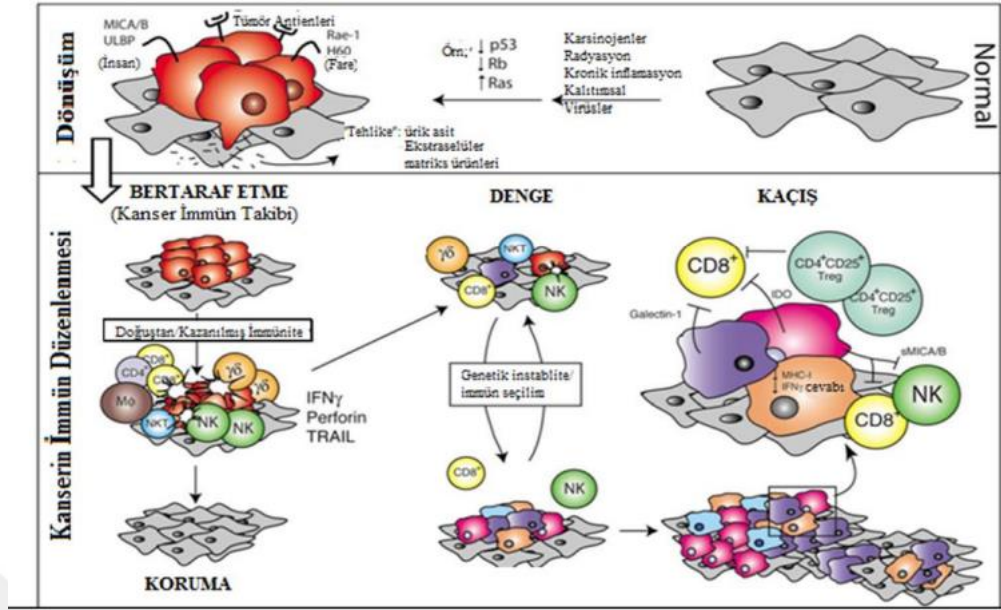
2.2.1. Kanser ve İmmün Sistem İlişkisi

2.2.1.1. İmmün Gözetim

Bağıışıklık sistemi, transforme olmuş hücrelerin büyümesini engeller ve bunları çoğalıp zararlı hale gelmeden yok eder. Bu durum kanser immün gözetimi olarak adlandırılır⁸². Kanser immün gözetimi bu görevini karsinogenezisin inhibisyonu ve düzenli hücre homeostazının sürdürölmesiyle sağlar⁸³. Günümüzde immün gözetim teorisine göre tümör hücreleri, bağıışıklık hücreleri için pasif bir hedef değildir. Bağıışıklık hücrelerinden kaçma ve konak immün sistemini etkisiz hale getirme yeteneğine de sahiptirler. Hatta tümör hücresi ile immün hücreler arasındaki etkileşimlerde sıklıkla immün hücreler ölmeaktadır⁸⁴.

2.2.1.2. İmmün Düzenleme

Farelerde yapılan çalışmalar, immün sistemin kanseri önleyici özelliğinin yanında kanser oluşumuna yardım ettiğı durumların da olduğunu ortaya koymuştur. İmmün sistemin bu iki etkili özelliğinden dolayı immün gözetim teriminin immün sistemin kanserle olan ilişkisini tam olarak karşılamadığı düşünölmektedir. Bunun yerine önerilen immün düzenleme tanımı ise hem tümör oluşumunu engelleme hem de neoplastik hastalığın oluşumunu biçimlendirme işlevini tanımlar⁸². Kanser immün düzenlemesi üç dinamik fazdan oluşan bir süreçtir. Kanserın 3 E'si olarak tanımlanan bu süreçler; elimination (bertaraf etme), equilibrium (denge) ve escape (kaçış) olarak tanımlanır. Elimination genel olarak immün gözetim kavramının özelliklerini ortaya koyar. Equilibrium ise eliminasyon fazındayken immün sistem tarafından tam olarak ortadan kaldırılamamış tümörlerin latent periyot evresidir. Escape fazında ise equilibrium fazındaki tüm kısıtlamalara rağmen immünolojik bariyerleri geçebilen tümörlerin büyüüp çoğaldığı evredir⁸⁵ (Şekil 2.1).



Şekil 2.1. Kanser immün düzenleme sürecinin 3 fazı⁸⁵

2.3. Mikrobiyota ve Kanser

Mikrobiyota, vücut alanımızı paylaşan komensal, simbiyotik ve patojenik mikroorganizmaların ekolojik topluluğudur⁸⁶. Bu mikroorganizmalar arasında protozoa, mantarlar, bakteriler ve virüsler bulunur ve organlara spesifik mikrobiyal topluluklar oluştururlar. Mikrobiyotanın büyüklüğü ve kompozisyonu, konakçı ve çevresel faktörlerden etkilenir, vücudun farklı kısımlarına göre değişiklik gösterir. Mikroorganizmalar insanlarda hastalık oluşmasına ve immün cevabın değişmesine katkıda bulunabilir. Mevcut tahminlere göre, mikrobiyal hücre sayısı konakçı hücre sayısına eşittir ve toplam mikrobiyota ağırlığı vücut ağırlığının 0.2 kilogramını oluşturur³⁶. Mikroorganizmalar, ökaryotik hücrelere kıyasla 100 kat daha fazla gene sahip olduğu düşünülmektedir. Mikroorganizma ve konak “holobiont” adı verilen karmaşık prokaryotik ökaryotik ilişkilerin bir arada bulunduğu ve konağın fizyolojisi üzerinde önemli etkisi bulunan bir ekolojik birime dönüşmüştür. Bu etkileşim hem konağın genetiği ve immün cevabı gibi endojen faktörler ile hem de beslenme, biyocoğrafik lokalizasyon ve ilaç profilleri gibi çevresel faktörler ile regüle edilmektedir⁸⁷⁻⁹⁰.

Mikroorganizmaların enfeksiyon hastalıklarına neden olduğu bilinmesine rağmen, kanser dahil olmak üzere birçok bulaşıcı olmayan hastalıkların etyopatogenezinde rol oynadığı gösterilmiştir⁹¹. İnsanlar üzerinde yapılan epidemiyolojik çalışmalarda mikroorganizmaların kanserle ilişkisi gösterilmiş, spesifik

mikroorganizmaların kanserler üzerinde ki etyopatojenik rolünü kanıtlamak için hayvan modelleri kullanılmıştır^{2,92}.

Dünya üzerinde tahmin edilen, 10^{12} farklı mikrobiyal türden sadece 11'i IACR tarafından insan kanserojenleri veya onkomikroplar olarak tanımlanmıştır. Bu mikroorganizmalar yılda tahmini 2.2 milyon vakaya neden olurlar^{14-19,92-94}. Elde edilen veriler ışığında, mikroorganizmaların genotoksin aracılı mutagenез yoluyla kanserleri başlattığı gösterilmiştir. Özellikle kolorektal, baş, boyun ve idrar yolu kanserlerinde kolibaktin, CDT ve *Bacteroides fragilis* toksininin neden olduğu mutasyonlar tespit edilmiştir¹⁴⁻¹⁹.

Karsinogenez, hasarlı olmayan sağlam bir vücut hücresinin genetik ve epigenetik modifikasyonlar sonrasında kanser hücresine dönüşüm proseslerinin tamamını kapsamaktadır. Genetik hasarın başlatılması tümör baskılayıcı genler ve protoonkogenlerin etkin rol oynadığı, bir dizi genetik ve moleküler farklılıklar sonrasında, irreversibl faza geçiş ve sonucunda organizmanın kanser hücrelerine maruz kaldığı etyopatojenezinde birçok etkenin olduğu, halen tam olarak anlaşılamamış aktif bir süreçtir. Çevresel toksik maddeler, iyonize radyasyon, beslenme bozuklukları, immün sistem anomalileri gibi birçok faktör karsinogenez başlatabilmektedir. Son zamanlarda yapılan çalışmalarda mikrobiyotanın da multifaktöriyel karsinogenez aşamalarında aktif rol aldığı gösterilmiştir⁴. Son 50 yıl içinde, cerrahi, kemoterapi, radyoterapi, immunoterapi ve hormonal terapi gibi çeşitli yaklaşımlar ile kanser tedavisinde ilerlemeler kaydedilmiştir. Özellikle son zamanlarda onay almış, tümörleri spesifik olarak hedef alan terapötik yaklaşımlar ile tedavide başarı şansı artmıştır. Örnek olarak, serviks kanserinin profilaktik tedavisinde kullanılan anti-insan papillomavirüs aşıları ile metastatik melanomlarda immunoterapide kullanılan, CTLA4'ü ve PD1'i hedef alan, ipilimumab ve pembrolizumab verilebilir⁵.

Kanser tedavilerindeki gelişmelere rağmen, birçok kanser çeşidi, yüksek mortalite oranı ile seyretmektedir. Tedavi yanıtı, etkinliği ve tedaviye direnç gibi hastaya özgü süreçlerin mekanik olarak anlaşılması, yeni terapötik stratejilerin geliştirilmesinde ve personalize edilmiş tedavi protokollerinin uygulanması için kullanılacak mevcut ilaçların etkinliğinin optimize edilmesinde çok önemlidir⁶.

İlk olarak yaklaşık 200 yıl önce, William B. Coley ısı ile inaktive ettiği streptokokları, kanserli hastalara enjekte ederek efektif bir antitümör cevabı almıştır. Bu

çalışması ile ilk immünoterapi anti-kanser tedavisini uygulamış ve tümörlü hücrelerin büyümesinde, immün sistemin rolünü göstermiştir⁶. Daha sonra 1920'lerde yüzeysel mesane kanseri olan hastalara, intravenöz olarak *Mycobacterium bovis* enjekte edilmiş ve mikrobiyal immün aktivasyonunun, kanser hücrelerini ortadan kaldırdığını göstererek, hastaların sağkalım oranının artması ile sonuçlanan bir anti-kanser immün cevap alınmıştır²⁰.

Mikrobiyotanın kanser ile ilişkisi üzerine yapılan çalışmaların çoğunda, bakteriyel mikrobiyoma odaklanılmıştır. Bakteriler üretmiş oldukları toksinleri ile DNA onarımı, hücre bölünmesi ve apoptozisi kontrol eden proteinlerin ekspresyonlarını değiştirerek hücrelerin anormal büyümesine sebep olup hücre döngüsünü bozabilirler^{21,22}. Ayrıca, bakteriler konağın malign hücrelere karşı immün cevap oluşturmalarını da modüle edebilirler. Son zamanlarda yapılan çalışmalarda, mikrobiyota kompozisyonu ile klinik immünoterapi arasında bir ilişki olduğu gösterilmiştir. Hayvan modelleri üzerinde yapılan çalışmalarda, mikrobiyotanın solid tümörlerin immün kontrol noktası inhibitörlerini, özellikle CTLA4'ün ve PD1/L1 sensitivitesini modüle ettiği gösterilmiştir²³⁻²⁵.

Bakteriler haricinde mikroorganizmaların, özellikle virüslerin kansere neden olduğu bilinmektedir. İnsanlarda kansere neden olduğu bilinen virüsler arasında insan herpes virüsleri 4 ve 8, hepatit B virüsü ve hepatit C virüsü, insan T-lenfotropik virüs-I, insan papilloma virüs 16,18 ve merkel hücresi polyomavirüs bulunur^{92,95}. Bakteriler arasında *Helicobacter pylori* ve *Salmonella typhi*'nin gastrik kanser ve kolanjiyokarsinom gelişimine katkıda bulunduğu bilinmektedir^{96,97}. Protozoal parazitler arasında *Schistosoma haematobium* ve *Opisthorchis viverrini* idrar kesesi ve safra kesesi karsinogenezinde rol oynayabilir⁹⁸. Bazı parazitlerin, bakterilerin ve virüslerin onkojenik potansiyelinin olduğu bilinmekle birlikte, insan mikrobiyotasının karsinogenezde nasıl bir rol oynadığı ve prognozunu nasıl etkilediği açık değildir. Günümüzde bu bilgilerin aydınlatılması YNS gibi donanımlı cihazlarla, yüksek verimli DNA dizilemesi neticesinde mümkün olmuştur^{3,10}.

2.3.1. Mikrobiyota ve Kanser İmmünitesi

İmmün sistem ve kanser etkileşimi, kanserin önlenmesinde ve progresyonunda anahtar bir rol oynar. Mikrobiyotanın son zamanlarda immün sistemi modüle etme

kapasitesi olduğu ve dolayısıyla kanser immünesini etkilediği düşünölmektedir. Mikrobiyota kanserin eliminasyon, denge ve kaçış gibi tüm aşamaları üzerinde etkisi olabilmektedir. Eliminasyon sırasında kanser hücreleri tarafından üretilen yabancı epitoplara, T hücrelerinin kanser hücrelerini ortadan kaldırdığı bir immün cevabı indökler. Mikrobiyota, bu T hücre aracılı tümörisidal aktiviteyi modöle edebilir^{99,100}. Fareler üzerinde yapılan çalışmalarda antibiyotiklerin kullanılması, adaptif T hücre transferinin etkinliğini önemli ölçöde azaltmıştır^{101,102}.

Tümörler büyödöğö, anjiyogenez ile ilişkili mekanizmalar ortaya çıkar, tümör infiltre eden miyeloid hücrelerin birikimi ile karakterize olan tümör bölgelerini çevreleyen lokal inflamasyona neden olurlar¹⁰³⁻¹⁰⁵. Bu tümör infiltre eden miyeloid hücrelerin tümörisidal potensiyalinin, mikrobiyotadan kaynaklanan sinyallere bağlı olduğu ileri sürölmöştür¹⁰⁶.

Eliminasyon aşamasında hayatta kalan kanser hücreleri, tümör büyümesi ile reaktif immün tepkisi arasında dinamik bir denge yaratacak şekilde yayılmaya başlar. Kanser hücreleri mutagenез veya epigenetik modifikasyonların birikmesiyle immün sörveyans tarafından tanınmaz hale geldiğinde kanser kaçış fazına girer. Bu fazda mikrobiyota, tümörü infiltre eden miyeloid hücrelerin aktivitesini ve Treg indöksiyonunu modöle edebilir^{99,106,107}.

2.3.2. Tümör Mikrobiyomu

Tümörlerde, mikroorganizma kolonizasyonu ilk olarak 1950'li yılların başlarında bildirilmiş ve daha sonra yapılan birçok çalışmada, tümör mikroçevresinde bakteri kolonizasyonu gösterilmiştir^{108,109}. Kemirgen modellerinde, bakterilerin tümör dokularında lokalize olduğu ve çoğaldığı gösterilmiřtir¹¹⁰. Tümör büyümesi, tümör mikroçevresine bakteri girişine izin verdiği düşünölen yeni bir damar sisteminin gelişmesine neden olur. Bu oluşan yeni damar sistemi, tümör hücrelerine yeteri kadar kanı taşıyamaz. Kan taşınmaması ve hızla çoğalan tümör hücrelerinin artan oksijen ihtiyacı, tümör içinde nekroza ve hipoksiye sebep olur. Bu faktörler, bakterilerin çoğalması için predispozan faktörlerdir¹¹¹.

Tümör mikroçevresindeki mikroorganizma kolonizasyonu, vücudun herhangi bir yerinde oluşabilen enfeksiyondan kaynaklanabildiği gibi, gastrointestinal epitel bariyerin bozulması ile mikroorganizmaların bağırsak lümenine translokasyonu

sonucunda da gelişebilmektedir¹¹¹. Yapılan çalışmalarda, oral mikrobiyomun kommensal bir üyesi olan *Fusobacterium nucleatum*'un kolon adenokarsinomu olmak üzere birçok patojenik durumla ilişkili olduğunun gösterilmesi, tümör mikrobiyomu ile lokal tümör immünitesi arasında kompleks bir etkileşimin var olduğunu ileri sürmektedir. Kolon adenokarsinomunda *F. nucleatum*, doğal öldürücü hücrelerin sitotoksitesini ve T hücre aktivasyonunu inhibe ederek tümör hücrelerinin ortadan kaldırılma yeteneklerini sınırlamaktadır¹¹²⁻¹¹⁵.

2.4. Akciğer Kanseri

Bütün dünyada yüksek morbidite ve mortaliteye sebep olan akciğer kanseri kansere bağlı ölümlerin yaklaşık %20'sinden sorumlu tutulmaktadır. Bu hastalığın 2018 yılında 1,8 milyon kişinin ölümüne yol açtığı bildirilmiştir. Erkeklerde, prostat kanserinden sonra, kadınlarda ise meme kanserinden sonra en sık görülen 2. kanser çeşididir. Akciğerin tek veya her iki lobunda gelişebilmektedir. Akciğer kanserinde en önemli risk faktörü tütün kullanımıdır^{1,27,116}. Akciğer kanseri, tipik olarak 60-70 yaş arasındaki kadın ve erkeklerde görülür. Akciğer kanseri gelişiminde sigara içimi en önemli nedendir. Kitlenin yerleşim yeri, invazyonu ve lokal veya uzak metastazına göre klinik bulgular değişiklik gösterir¹¹⁷.

Dünya sağlık örgütü, akciğer kanserinin histolojik bulgulara göre sınıflandırılmasını 2011 yılında güncellemiştir¹¹⁷. Büyüme hızı, yayılımı, metastazın zamanlaması, kemoterapi ve radyoterapiye yanıtına göre temelde küçük hücreli dışı ve küçük hücreli olmak üzere iki ana başlık altında toplanmıştır. Küçük hücreli dışı akciğer kanserleri de kendi aralarında; adenokarsinom, skuamöz hücreli karsinom ve büyük hücreli karsinom olarak subgruplara ayrılmıştır. Buna göre tüm akciğer kanserlerinin yaklaşık %83'ü küçük hücreli dışı akciğer kanseri, %16'sı küçük hücreli akciğer kanserinden oluşmaktadır¹¹⁸.

Günümüzde, modern tıbbın amacı kanser ortaya çıkmadan engellemektir. Bu nedenle sigara başta olmak üzere tütün ürünlerinin kullanılmaması, alkol tüketimini sınırlamak, fiziksel aktiviteyi arttırmak, taze sebze ve meyveler sayesinde vitamin ve mineral desteği, çok fazla kırmızı et ve hazır gıda tüketmemek, stresi kontrol etmek ve uzun saatler boyunca güneş ışıklarına maruz kalmamak gibi önlemler kanserin ortaya çıkmasını engellemek açısından önemlidir¹¹⁶.

Onkoloji alanındaki gelişmelere rağmen, kanser hala tamamen tedavi edilebilir hastalıklar kategorisinde değildir. Ancak, kompleks karsinogenez aşamalarında rol oynayan faktörlerin tespit edilmesi ile bu yolda önemli adımlar atılmaktadır. Karsinogenez sürecinde vücudumuzun epitelyal yüzeylerinde yaşayan kommensal mikroorganizma türlerinin aktif rol oynadığı, aynı zamanda kanser tedavisine verilen kişisel yanıtlar ve toksisite ile de ilişkili olduğu İnsan Mikrobiyota projesi kapsamında son dönemde elde edilen veriler ile gösterilmiştir^{1,3,27,116}.

Sonuç olarak, kanser oluşumu ve tedavisi aşamalarında anahtar role sahip major bir faktörün daha ortaya çıkarılması, kansere bağlı kişisel, toplumsal ve ekonomik kayıpları azaltacaktır³.

2.4.1. Akciğer Kanseri Mikrobiyota Kompozisyonu

Akciğer kanseri hastalarında akciğer mikrobiyomu ile ilgili az sayıda çalışma yapılmış olmasına rağmen, yapılan çalışmalarda kontrol grubu bireylere kıyasla *Granulicatella*, *Abiotrophia* ve *Streptococcus* cinsi bakterilerin çok daha fazla oranda bulundukları gözlenmiştir. Ancak kanserli hastalarda bakteriyel çeşitliliğin, kontrol grubu bireylere göre çok daha az olduğu tespit edilmiştir^{33,48,119-122}.

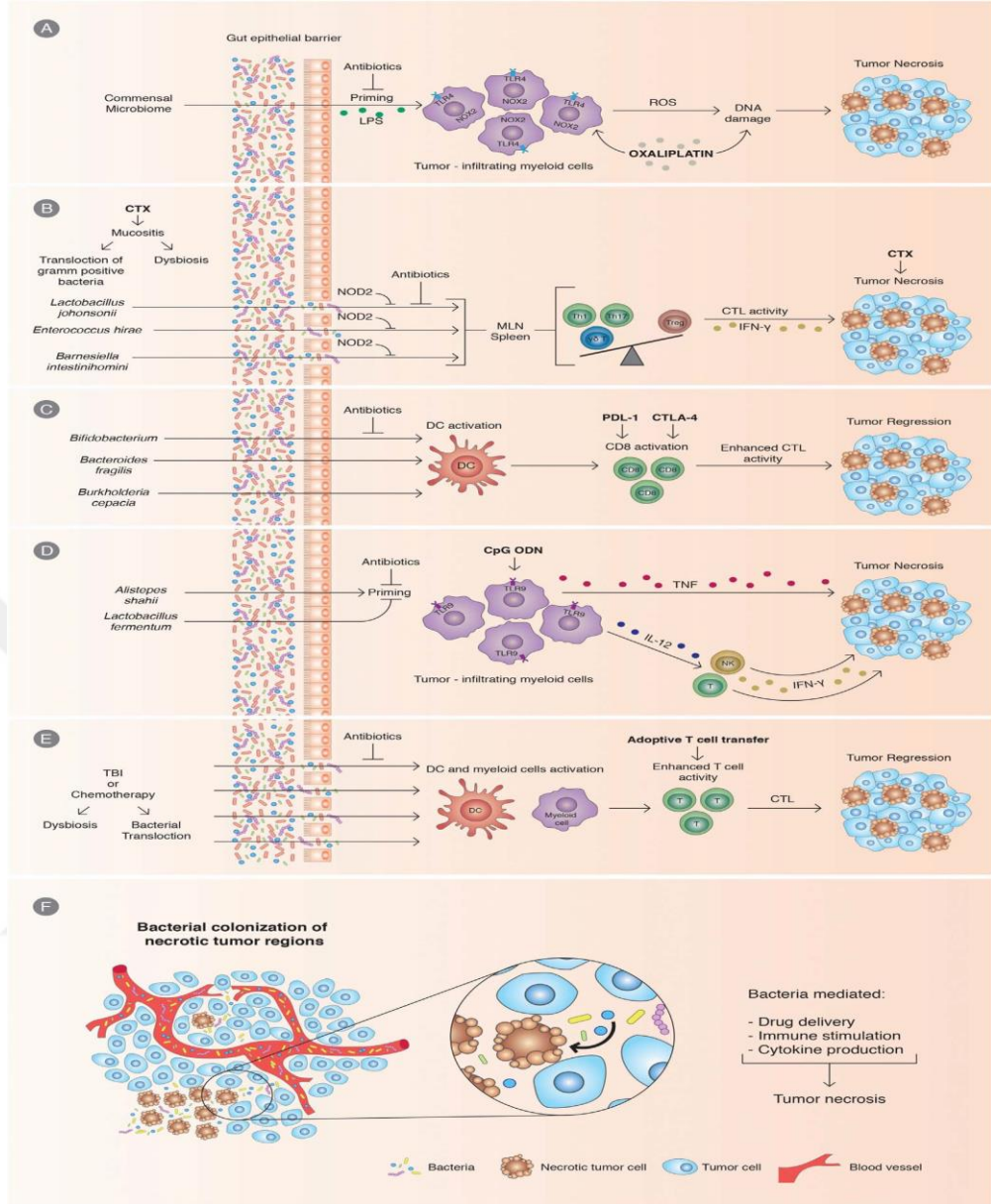
Yapılan çalışmalar, bronkoalveolar sıvıların akciğer kanser hastaları ile sağlıklı bireyler arasındaki bakteriyel çeşitliliği tespit etmek amacı ile bir tarama aracı olarak kullanılarak akciğer kanseri gelişimini önceden tahmin edebileceğini ileri sürmektedir. Liu ve arkadaşları yapmış oldukları çalışmada, akciğer kanseri mikrobiyomunda bol miktarda *Streptococcus* cinsi bakterilerin bulunduğunu, *Staphylococcus* cinsi bakterilerin ise hiç bulunmadığını tespit etmişlerdir. Bu sonuç, *Streptococcus*'ların akciğer kanserinde zararlı bir rolü, *Staphylococcus*'ların ise koruyucu bir etkisi olabileceğini ileri sürmektedir¹⁹. Öne sürülen bu hipotez, *Streptococcus* ve *Staphylococcus* cinsi bakterilerin karsinogenez oluşumundaki rolleri ile çelişmektedir. Çünkü *Staphylococ*'ların DNA hasarını indükleyebildiği ve *Streptococ*'ların ise DNA hasarını önleyebildiği bilinmektedir¹²³. Bu çelişki, karsinogenezde rol oynayan bakteri türlerinin ve suşlarının tanımlanmasındaki zorluklarla açıklanabilmektedir. Belirli taksonlar farklı vücut nişlerinde farklı roller oynayabilmekte veya aynı takson, farklı uyaranların varlığına bağlı olarak aynı yerde koruyucu veya zararlı etki gösterebilmektedir^{47,90}.

Akciğer mikrobiyotasının, yaşam tarzı, kirlilik, tütün kullanımı gibi çeşitli faktörler ile ilişkili olduğu ve bu faktörlerin mikrobiyota kompozisyonunu da değiştirebileceği göz önünde bulundurulmalıdır^{55,119}. *Thermus* cinsi bakterilerin ileri evre kanser hastalarından alınan dokularda, *Legionella*'nın ise metastaz gelişen hastalarda bol miktarda bulunduğu gösterilmiştir⁵⁵.

Akciğer kanserinde mikrobiyota kompozisyonunun rolünün daha iyi anlaşılacak, mikroorganizmaların kanser biyobelirteçleri olarak kullanılabilmesi veya terapötik yaklaşımlar içinde değerlendirilebilmesi için hayvan modellerinin ve hastaların akciğer dokularının dahil olduğu geniş kapsamlı çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır^{3,10,40,55,119-122}.

2.5. Mikrobiyota ve Kanser Tedavileri

Mikrobiyotanın birçok antikanser tedavi modellerini modüle etmede karışık bir rol oynadığı öne sürülmüştür. Mikrobiyotanın, karsinogenez prosesleriyle birlikte tedavi aşamalarında da etkin bir rol aldığı, antikanser tedavilerde bireysel yanıt ve toksisite ile ilişkili olduğu ve bu farklılıkları ortaya çıkaracak etkenlerden biri olduğunu destekleyecek çalışmalar mevcuttur. Yapılan çalışmalarda, mikrobiyotanın tümör mikroçevresindeki myeloid kökenli hücreler aracılığı ile kemoterapi ve immünoterapi gibi çeşitli antikanser tedavi modellerine verilen yanıtı etkilediği gösterilmiştir^{24,106,124,125} (Şekil2.2).



Şekil 2.2. Antikanser tedavinin mikrobiyota modülasyon mekanizması. A. Kemoterapi alan hastada, bağırsak mikrobiyomu, tümör regresyonuna neden olan ROS üretimi Toll benzeri reseptör 4 (TLR 4) bağımlı tümör infiltre eden miyeloid hücreleri hazırlar. B. Siklofosamid (CTX) bağırsak epitel bariyerini bozarak, bakteriyel translokasyonun dolaşıma geçmesine neden olur. Bazı gram(+) bakterilerin (örn. *Lactobacillus. johnsonii*, *Enterococcus hirae*, *Barnesiella İntestinihominis*) dalağa ve mezenkimal lenf nodlarına (MLN) translokasyonu, Th1 ve Th17'nin Treg'lere oranını artırarak immün aracılı tümör regresyonuna neden olur. C. PDL1 ve CTLA4 antikorlarının etkinliği kommensal mikroorganizmalar (*Bifidobacterium* türleri, *Bacteroides fragilis* ve *Burkholderia cepacia*) tarafından harekete geçirilen dendritik (DC) hücrelerin maturasyonuna bağlıdır. D. Bağırsak mikrobiyomunun üyeleri tümör nekrozis faktör ve interlekin 12 üretimi için tümör infiltre eden miyeloid hücreleri uyarır ve tümör regresyonuna neden olur. Bazı *Lactobacillus* türleri ise (*Lactobacillus fermentum*) immünoterapiye oluşan kişisel yanıtları bozar. E. Tüm beden ısınlaması veya kemoterapinin indüklediği B ve T hücrelerinin depleksyonu, bağırsak epitel bariyerini bozarak bakteriyel translokasyonun dolaşıma girmesine neden olur. DC ve miyeloid hücreler indüklenir ve adoptif T hücreleri aktive olur. F. Genetiği değiştirilmiş bakteriler, özellikle tümörlerin nekrotik bölgelerinde birikir ve burada ilacın taşınması, sitokin üretimi ve bağışıklık uyarımı gibi birçok fonksiyonu yerine getirirler⁵.

2.5.1. Platin Bazlı Kemoterapötik Ajanlar

Platin bazlı sitotoksik bileşikler, 1978 yılında Amerikan gıda ve ilaç dairesi (FDA) tarafından onaylanmış ve kanser tedavisinde kullanılan kemoterapötik ajanlar olarak günümüzde yerini almışlardır¹²⁶. Bu ajanlar kanser hücresinin apoptozuyla sonuçlanan sitotoksik bir etki gösterirler. Okzaliptatin bu ajanlardan biri olup, immünojenik kanser hücre ölümünü indükler ve antijen sunan hücreler aracılığı ile antitümör immün cevabını stimüle ederek uzun süreli tümör regresyonu ve kür sağlar¹²⁷.

Kommensal mikrobiyotanın, platin bazlı bileşiklerin antikanser etkilerini modüle ettiği düşünülmektedir. Okzaliptatin ile tedavi edilen subkutan nodülleri bulunan farelerde, tümör hücrelerinin sayılarında azalma ve sağkalım oranında bir artış tespit edilmiştir. Okzaliptatinin, tümör infiltre eden miyeloid hücrelerde ROS üretimini artırarak, tümör hücresinde DNA hasarına ve akabinde tümör hücrelerinin sayılarının azalması ile sonuçlanan tümör regresyonuna neden olur. Tümör filtre eden miyeloid hücrelerde ROS üretimi, NADPH oksidaz 2'yi (NOX2) oluşturan ROS'un sitokrom B-245 ağır zincir (Cybb) ekspresyonuna bağlı olduğu gösterilmiştir¹²⁷.

2.5.2. Alkilleyici Ajanlar

Lenfomaların ve solid tümörlerin tedavisinde kullanılan kemoterapötiklerden biri olan siklofosfamid, aynı zamanda immünomodülatör etkileri ve immünojenik kanser hücresi ölümünü indükleyen bir alkilleyici ajandır¹²⁸. Siklofosfamid, Treg hücrelerinin sayısının azalmasını ve tümör büyümesi üzerinde etkileri olan TH1 ve TH17 hücrelerinin sayısının artırılmasını indükleyerek tümör mikroçevresi üzerinde etki gösterir^{129,130}.

Viaud ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada, katılımcıların CTX'e karşı vermiş oldukları anti-tümör immünolojik cevapta mikroorganizmaların oynadığı potansiyel rol araştırılmıştır. CTX ile tedavi edilen farelerde, CTX ve diğer alkilleyici ajanlar ile tedavi gören hastalarda meydana gelen mukoza iltihabına benzer şekilde, bozulmuş bir bağırsak epitel bariyeri geliştiği gözlenmiştir. İlaç uygulamasından 7 gün sonra, ince bağırsakta gelişen disbiyoz, *L. johnsonii* ve *E. hirae* gibi gram(+) kommensal bakterilerin mezenterik lenf nodu ve dalağa translokasyonu ile ilişkili bulunmuştur. Dalakta CTX, naif CD4+ T hücrelerinin, patojenik TH17 hücrelerine dönüşümünü indüklemiştir¹²⁵.

Daillere ve arkadaşlarının yapmış olduğu başka bir çalışmada ise, geniş spektrumlu antibiyotiklerle tedavi edilen sarkomlu fare modellerine, oral yolla *E. hirae* verilmiştir. *E. hirae* Th17 ve patojenik Th17 hücrelerinin farklılaşması indükleyerek, tümör spesifik Th1 ve CTL aktivitesini promote etmiş, CTX'in anti tümör etkisini arttırmıştır¹³¹.

2.5.3. Kontrol Noktası İnhibitörleri

T hücre aktivasyonunun negatif regülatörlerini hedef alarak immün inhibitör yolları bloke eden antikolar sayesinde, kanser tedavisinde önemli adımlar atılmıştır¹³². Kontrol noktası inhibitörleri, tümör spesifik T hücre aktivasyonu sonucunda, tümör hücresinin tanınması ile immün aracılı hasara neden olur. Günümüzde, CTLA4 ve T hücre yüzeylerinde bulunan PD1 FDA tarafından onaylanmış kontrol noktası inhibitörleridir^{133,134}. Hastanın genetik özellikleri ve lenfosit sayısı gibi çeşitli faktörler, kanser immünoterapi modellerinin başarı şansını etkilemektedir¹³⁵.

Yapılan son çalışmalarda, bağırsak mikrobiyotasının, kontrol noktası inhibitörlerinin tedavi stratejilerini etkileyen potansiyel faktörlerden biri olduğu gösterilmiştir. Sivan ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada, farklı bağırsak mikrobiyota kompozisyonlarına sahip, iki farklı merkezdeki genetik olarak özdeş olan C57BL/6 farelerine subkutan olarak enjekte edilen melanom hücreler kullanılmış ve bu ortamlarda bağırsak mikrobiyotasından etkilenen farklı tümör hızı ve intra-tümöral CD8+ T hücre infiltrasyonu gösterilmiştir²⁴. PDL1 tedavisi, tümör boyutunda azalmaya ve tümör spesifik CD8+ T hücrelerinde artışa neden olmuş, Bifidobacterium türlerinin anti-tümör cevapları ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Özellikle Bifidobacterium türlerinin, dendritik hücre aktivasyonunu arttırabileceğine ve böylece şiddetli bir tümör spesifik CD8+ T hücre cevabına katkıda bulunabileceğine vurgu yapılmıştır²⁴. Yapılan bu çalışmada, kommensal mikroorganizma türlerinin, kontrol noktası inhibitör tedavi cevabını modüle ettiği gösterilmiştir²⁴.

2.5.4. Adoptif İmmünoterapi

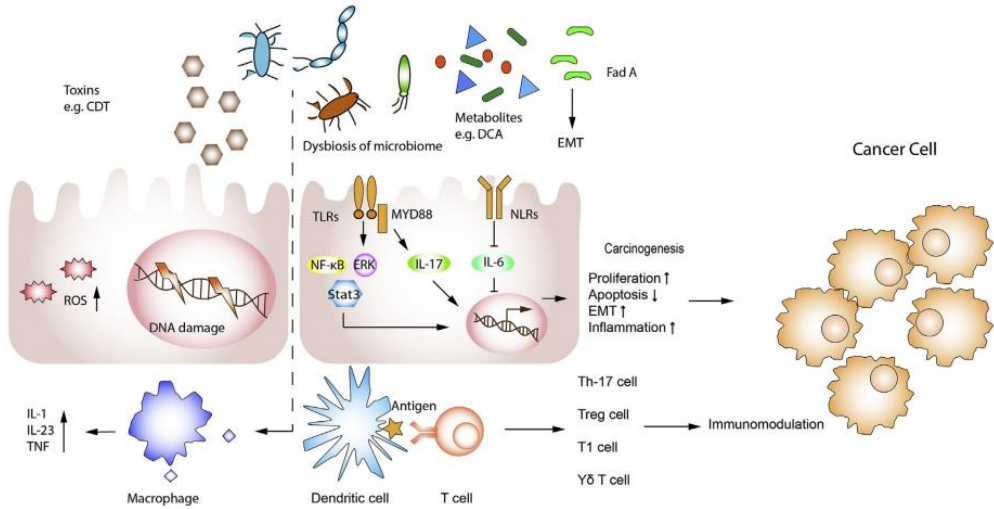
Kanser hücreleri, sağlıklı dokularda tümörle ilişkili antijenleri (TAA), kanserli dokulara özgü olanlarda ise, tümör spesifik antijenleri (TSA) eksprese eder. TAA'lar ve TSA'ların keşfi, adoptif hücre terapilerinin geliştirilmesine imkan sağlamıştır. Bu tedavi

modelinin avantajları arasında, hem CD4+ hem de CD8+ tümör infiltratif lenfositlerin (TIL) kullanımı ve fonksiyonel optimizasyon için transfüzyon yapılan T hücrelerini farklılaştırma ile in vitro aktive etme yeteneği sayılabilir¹³⁶. Kemoterapötiklerin ve TBI'nin, adoptif hücresel terapi (ACT) üzerine etkileri intestinal bariyerin bozulmasına dolayısıyla da kommensal bakterilerin translokasyonuna aracılık edebilir. Mikrobiyal translokasyon, radyoterapi alan farelerde TLR4 sinyali yoluyla CD8T hücrelerinin antitümöral etkisini ve DC'lerin maturasyonunu artırır^{101,102}. Bakteriyel translokasyon ayrıca doğal immüneyi aktive eder ve ışın alan farelerde proinflamutuar sitokin düzeylerini artırır^{102,137-139}.

2.6. Mikrobiyota ve Karsinogenez İnteraksiyonu ile İlişkili Mekanizmalar

2.6.1. Mikrobiyota Disbiyozu

Konak ve mikrobiyota arasındaki simbiyotik ilişki, immün sistem ile birlikte çeşitli bariyerlerle sağlanmaktadır^{140,141}. İmmün sistemin bozulması veya bu bariyerlerin ortadan kaldırılması, disbiyoz ile sonuçlanır. Bunun neticesinde de bakteriyel translokasyon gelişir. Daha sonra mikrobiyota ile epitel hücreleri veya immün sistem arasında patolojik süreç başlar^{142,143}. Disbiyoz sonucunda, karsinogeneze yol açan zincir reaksiyonlar tetiklenir^{142,143} (Şekil 2.3).



Şekil 2.3. Karsinogenezi modüle eden mikrobiyom mekanizması. Mikrobiyom, konak hücre DNA hasarına neden olan sitotoksik etkenlerle ilişkili bileşenler üretir. Mikrobiyom ve metabolitleri, TLR'leri aktive eder ve TLR aşağı yönde inflammatuar reaksiyonlara neden olur. Bu inflammatuar aktivatörler, konak hücrelerin malign davranışlarını destekleyen, aşağı yönde kritik sinyal yollarını tetikler. NOD benzeri reseptörler (NLR) inflammatuar cevabı azaltarak tümör baskılama işlevi görür. Mikrobiyal patojenlerin yer değiştirmesi, konak hücrelerin karsinogenezi destekleyen bir dizi immün cevaba neden olur. EMT:epitelyal-mezenkimal geçiş, DCA:deoksikolik asit, CDT:sitoletal distansiyon toksini⁹.

İnflamatuvar sinyal aktivasyonu, diyet değişiklikleri, infeksiyonlar ve nükleotid bağlayıcı oligomerizasyon alanı içeren protein 2 (NOD2) eksikliği gibi diğer faktörler de disbiyozu yol açabilir¹⁴⁴⁻¹⁴⁶. Disbiyoz, kommensal mikroorganizmaların sayılarında azalmaya ve inflamasyona neden olan bakterilerin sayısında artışa neden olur, bu da karsinogenezi indükleyebilir¹⁴⁴⁻¹⁴⁶.

Yapılan birçok çalışmada, mikrobiyota ile karsinogenez interaksyonu ile ilişkili altta yatabilecek muhtemel mekanizmalar incelenmiştir. Sonuç olarak, mikrobiyota disbiyozunun, artan genotoksik ve virülans etkileri, değişmiş metabolizma, immün cevap ve proinflamasyon dahil olmak üzere malignitelerin duyarlılığını modüle ettiği ileri sürülmüştür⁹.

2.6.2. Genotoksisite ve Virülans Etkisi

ROS'ların DNA hasarına katkıda bulunduğu gösterilmiştir. Son yapılan çalışmalarda ise, mikrobiyota disbiyozunun, DNA hasar cevabını ve karsinogenezi indüklemek için ROS seviyesini değiştirebileceği ileri sürülmüştür. CDT, sitotoksik nekrotizan faktör 1 ve *Bacteroides fragilis* toksini gibi bakteriyel toksinlerin, DNA hasar cevabını tetiklediği gösterilmiştir^{144,147-151}. Ek olarak, bakteri kaynaklı hidrojen sülfür ve süperoksit radikallerinin genomik kararsızlıktan sorumlu olduğu, *Fusobacterium nucleatum* tarafından salgılanan Fad A, E-cadherin ile etkileşime girerek katenin sinyal yolağını düzenlediği tespit edilmiştir^{152,153}. Burns ve arkadaşları yapmış olduğu çalışmada ise, kolorektal kanserin mikroçevresinde virülansla ilişkili özellikle *Fusobacterium* ve *Providencia* gibi bakteriyel genlerin arttığını göstermiştir¹⁵⁴.

2.6.3. Metabolizma

Mikrobiyotanın, konak metabolizmasında detoksifikasyon, hormon ve safra asidi üretimi, besin ve vitamin seviyelerinin düzenlenmesine katıldığı gösterilmiştir¹⁵⁵. Ayrıca yapılan çalışmalarda bakteriyel mikrobiyotanın, önemli bir kanserojen olan asetaldehit oluşumuna katkıda bulunduğu^{156,157} ek olarak obezitenin neden olduğu bir bağırsak mikrobiyal metaboliti olan DCA'nın ise, obezite ile ilişkili hepatosellüler karsinom gelişimine katıldığı gösterilmiştir^{158,159}.

2.6.4. İnflamasyon

Mikrobiyal patojenle ilişkili moleküler kalıplar (MAMP) veya patern tanıyan reseptör (PRR) sinyali gibi inflamasyon yollarının aktivasyonunun, mikrobiyota ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Aynı zamanda bu inflamasyon yollarının aktivasyonu, epitel hücrelerin çoğalmasını ve hayatta kalmasını tetikler, böylece kanser gelişimine katkıda bulunur. Yapılan çalışmalarda, TLR aktivasyonunun kolon, mide, karaciğer ve pankreas kanserlerinin gelişiminde anahtar bir rol oynadığı gösterilmiştir¹⁶⁰⁻¹⁶². Farelerde TLR4'ün devre dışı bırakılması, karsinogenezi baskılamaktadır¹⁶⁰⁻¹⁶². Akciğer kanseri modeli ile yapılan bir çalışmada ise, IL-17C eksikliğinin, büyümeyi ve metastazı teşvik ettiği gösterilmiştir¹⁶³. NLR'ler hücre zarında lokalize olan, başka bir PRR alt ailesidir. NLR'ler invaziv bakterilere karşı, bir dizi savunma mekanizması başlatırlar. NOD1, inflamasyondan karsinogeneze geçişi önlemek için bir bariyer görevi görür¹⁶⁴. NOD2 ise mikrobiyotanın modülasyonunda hayati bir rol oynar^{165,166}. Farelerde NOD2'nin devre dışı bırakılması, bakterilerin aşırı proliferasyonu sonucunda inflamasyona neden olur. NLRP6 eksikliği ise IL-18 üretimini azaltarak kolorektal kansere yatkınlığı arttırmaktadır¹⁶⁷.

2.6.5. İmmün Cevap

Mikrobiyota, adaptif immünitinin şekillenmesinde anahtar bir rol oynamaktadır. Bu nedenle mikrobiyotanın, kanserlerde immün cevabı modüle etme prosesi, kritik önem taşımaktadır. Enterotoksijenik *Bacteriodes fragilis* (ETFB), farelerde selektif Th17 cevabı ile sinyal transdüseri ve transkripsiyon aktivatörü 3(STAT 3)'ün aktivasyonunu tetikler, bunun sonucunda da kommensal bakteriler Th17 bağımlı bir yolla kanseri indükler¹⁶⁸. Tümörle ilişkili mikrobiyotanın ve TLR sinyal yollarının aktivasyonu, kalsinörin ve aktive edilmiş T hücrelerinin nükleer faktör (NFAT) ekspresyonunu uyarır¹⁶⁹. Ayrıca mikrobiyotanın, KOAH olan bireylerde, epitelial IL 17C'yi promote eder, böylece tümör mikroçevresindeki nöfrolitik inflamasyona neden olur ve tümör büyümesini artırır. KOAH gibi kronik akciğer hastalıkları, akciğer kanseri için bir risk faktörüdür¹⁷⁰.

Son yapılan çalışmalar, akciğer mikrobiyotasındaki dinamik değişikliklerin, akciğer kanserinin gelişimini desteklediğine dair yeni kanıtları ortaya çıkarmıştır. Jungnickel ve arkadaşları, yapmış olduğu çalışmada KOAH hastalarında

tiplendirilemeyen *Haemophilus influenzae* gibi anormal bakteriler tarafından indüklenen epitelyal sitokin IL-17C'nin, nötrofilik inflamasyonu arttırarak bakterilerin tümör destekleyici etkilerine katkı sağladığını tespit etmiştir. Böylece, IL 17C'nin, tümörle ilişkili inflamasyonu ve tümör proliferasyonunu desteklediğini göstermiştir¹⁶³.

2.7. Yeni Nesil Dizileme

Bir insan vücudu 900 farklı bakteri, 360 farklı mantar türü ve çeşitli organizmaların dahil olduğu 100 trilyon mikroorganizma hücresi ve 2 milyon mikrobiyal gene ev sahipliği yapmaktadır³⁵. Bireyler arasındaki mikrobiyal türlerin %80-90 oranında farklı olduğu düşünülmektedir. Bu veriler ışığında, kişiselleştirilmiş tıpta hastaya ait genomu hedef alan yaklaşımların yerine mikrobiyotayı hedef alan çalışmalar hız kazanmıştır¹⁷¹. Yeni nesil dizileme teknolojileri, mikroorganizmalardan insanlara kadar çok çeşitli genomları dizilemek için kullanılmıştır¹⁷². Günümüzde, kültür temelli yöntemler ile vücudumuzdaki kompleks mikrobiyal üyelerin tamamı incelenememektedir. Çünkü mikroorganizmaların sadece çok azı kültürlenebilmektedir¹⁷³. Geçtiğimiz son 20 yılda yeni nesil dizileme teknikleri ile ilgili önemli adımlar atılmış ve bilinmeyen bir mikroorganizmanın tespitini ve/veya tanımlanmasını mümkün kılmıştır¹⁷⁴. Ticari olarak 454 Pyrosequencing® (Roche Diagnostics GMBH Ltd, Mannheim, Germany), Illumina® (Illumina, San Diego, CA, USA) ve SOLiDTM (Life Technologies, Carlsbad, CA, USA) gibi yüksek çıktılı yeni nesil dizileme versiyonları bulunmaktadır¹⁷⁵. Yeni nesil dizileme teknikleri, bir örnek içindeki birçok mikroorganizmaya ait DNA dizilerini okuması ile mikrobiyal dünyanın nükleotid seviyesinde gözlemlenemeyen kısmının keşfini mümkün kılmıştır¹⁷⁴. Yeni nesil dizileme yöntemlerinde her geçen yıl büyük adımlar atılmış olsa da, genom dizileme maliyetleri yüksektir ve laboratuvarlarda rutin olarak kullanılamamaktadır¹⁷⁶. Yeni nesil dizileme yöntemlerindeki gelişmeler, metagenom adı verilen, bir mikrobiyoma ait tüm kalıtsal verinin eş zamanlı analizini mümkün kılan bir bilimin ortaya çıkmasını sağlamıştır. Metagenomik çalışmalarda, toplam DNA/RNA mikrobiyal popülasyondan kültürü yapılmadan izole edilerek dizilenmektedir. Daha öncesinde veri tabanlarına kaydedilmiş taksonomik bilgiler referans olarak kullanılmakta ve yeni veriler taksonomik ünitelere ayrıştırılmaktadır. Tüm genom dizilemesi kullanılamayan durumlarda yalnızca 16SrRNA genleri dizilenerek bu yeni verilerin bilinen dizilerle eşlenmesiyle taksonomik profillemeye sağlanmaktadır^{177,178}.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Örneklerin Toplanması

Akciğer kanserli hastalarda mikroorganizmaların rolünü anlamaya yönelik tasarladığımız çalışmamıza; 2019 Aralık – 2020 Ekim tarihlerinde Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Balcalı Hastanesi Göğüs Hastalıkları Polikliniğine başvuran ve klinik olarak yeni akciğer kanseri tanısı almış, herhangi bir tedavi başlanmamış 31 hasta ile pulmoner nodülü olan fakat akciğer kanseri tanısı almayan 13 sağlıklı birey kontrol grubu olarak dahil edildi. Dışlama kriterleri; akciğer dışındaki primer kanser olduğundan akciğere metastaz ve son 1 ay içinde antibiyotik kullanım öyküsü idi.

3.1.1. Örnek Grupları

Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Balcalı Hastanesi Göğüs Hastalıkları Polikliniğinde yeni akciğer kanseri tanısı almış bireylerin dahil olduğu hasta ve pulmoner nodülü olan fakat akciğer kanseri tanısı almayan bireylerin dahil olduğu kontrol grubu olmak üzere 2 grup oluşturuldu. Bronkoskopi sonrasında hem akciğer kanser hastaları hem de kontrol grubunda bulunan bireyler ile bir anket görüşmesi yapılarak akciğer mikrobiyotası kompozisyonunda değişikliğe neden olabilecek etkenler (yaş, cinsiyet, eşlik eden hastalık, sigara alışkanlığı vb.) sorgulandı.

3.1.2. Örneklerin Alınması ve Taşınması

Hasta ve kontrol grubuna ait bireylerin BAL örnekleri, uzman hekim tarafından bronkoskopi sırasında alındı. Örnekler steril 15 ml'lik tüpler içine 3 ml olacak şekilde alındı ve en kısa sürede laboratuvara ulaştırıldı. Alınan BAL örneklerinden çeşitli besiyerlerine ekim yapıldı. Örneklerin bir kısmı ise moleküler analiz için -20 °C'de saklandı.

3.2. Konvansiyonel Kültür Yöntemleri ile Mikrobiyota Değerlendirilmesi

3.2.1. Bakteriyolojik İnceleme

Bakteriyoloji laboratuvarına getirilen BAL örnekleri %5 koyun kanlı agar, adi agar, endo agar ve çikolatamsı agara ekildi. Ekilen örnekler 37 °C etüvde 24-48 saat

inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrası üreme olan örnekler için konvansiyonel yöntemler kullanılarak mikroorganizma izolasyonu ve identifikasyon yapıldı.

3.2.1.1. İdentifikasyon

Direk ekim yapılan örneklerden üreme görülenler tekrar kanlı agar, adi agar, endo agar ve çikolatamsı agara pasajlandı. Pasaj sonrası saf koloniler alınarak gram boyama, katalaz, koagülaz testleri yapıldı.

Gram Boyama

- Lam üzerine alınan boyanacak örnek alkol ile fiske edildi.
- Preparatın üzeri kristal viyole boya çözeltisi ile kaplandı ve 1 dakika bekletildi.
- Preparat bol distile suyla yıkandı. • Preparatın üzeri lugol çözeltisi ile kaplandı ve 1 dakika bekletildi.
- Preparat distile suyla yıkandı.
- Preparatın üzerine asit-alkol karışımı ile kaplanarak 10-15 saniye bekletildi.
- Preparat distile suyla yıkandı.
- Preparatın üzeri safranin boya çözeltisi ile kaplandı ve 30 saniye bekletildi.
- Preparat bol distile suyla yıkandı.
- Preparat havada veya kurutma kâğıdı ile kurutuldu.
- Mikroskopta incelendi.

Katalaz Testi

Katalaz testi, şüpheli *Staphylococcus spp* türlerini diğer gram pozitif koklardan ayırmak için yapıldı. Katalaz testi için lam tekniği kullanıldı. Test edilecek örneklerden tek düşen koloniler alınarak, özeyle lam üzerine aktarıldı. Koloni üzerine bir damla %3'lük H₂O₂ damlatıldı. Hava kabarcığı gelişip gelişmediği gözlemlendi (Şekil 3.1).



Şekil 3.1. Katalaz testi (Negatif-Pozitif)

Koagülaz Testi

Koagülaz testi, katalaz pozitif olan *Staphylococcus spp.* türlerini *Staphylococcus aureus*'tan ayırmak için yapıldı. 0.5 mL plazma içeren tüp oda ısısına getirildi. İncelenecek stafilokok kolonisi öze ile alınıp plazma içinde homojenize edildi. Tüp 35-37°C'de saat başı incelenerek 4 saate kadar inkübe edildi. Tüp içinde gevşek bir fibrin ağı oluşumu ya da tam bir pıhtılaşma olup olmadığı gözlemlendi (Şekil 3.2).



Şekil 3.2. Koagülaz testi (Negatif-Pozitif)

3.2.2. Mikobakteriyolojik İnceleme

BAL örnekleri Adana Bölge Tüberküloz Laboratuvarı'na ulaştırıldı ve örneklerde fenotipik olarak mikobakteri varlığı araştırıldı.

3.2.2.1. Fenotipik İnceleme

Örnekler rutin uygulamalarda yapıldığı üzere doğrudan mikroskopik olarak incelendikten sonra mikobakterilerin identifikasyonunda altın standart olarak kabul edilen kültür ortamında izolasyon için Lowenstein Jensen (LJ) besiyeri ve Mycobacteria Growth Indicator Tube 960 (MGIT) otomatize sistemi kullanıldı.

3.2.2.1.1. Örneklerin Mikroskopik İncelenmesi

Mikobakteriler hücre duvar yapılarında bulunan %70 yağ asitleri oranıyla boyanmaları diğer bakterilere nazaran daha güçtür. Bu sebeple Ehrlich-Ziehl-Neelsen (EZN) adı verilen en eski boyama yöntemiyle asit-alkol karışımına dirençli şekilde boyanırlar. Asit-alkole dirençli mikroorganizmalar ışık mikroskopunda mavi zemin üzerinde pembe-kırmızı renkte basiller şeklinde görünürler.

Örneklerden hazırlanan yayma preparatlar karbol fuksin yöntemi EZN ile boyandıktan sonra ışık mikroskopu ile mikobakteri varlığı araştırıldı.

3.2.2.1.1.1. EZN Boyama İşlemi (ARB, AARB Boyama)

Yayma sonrası havada kurumaya bırakılan preparatlara ateşle fiksasyon işleminden sonra karbol fuksin damlatıldı ve 3-4 dakika bekletildi. Bu işlem esnasında preparatların altından ateşle kaynamayacak şekilde üzerinden buhar çıkana kadar fikse edildi. Bu şekilde bakteri porlarının açılıp karbol fuksinin hücre içine alınması sağlanmış oldu. Daha sonra preparatlar çeşme suyuyla yıkandı. Üzerine asit-alkol karışımı döküldü ve 2 dakika beklenildi. Hücre duvar yapısında %70 yağasiti bulunduran Mikobakteri türleri asit-alkole dirençli oldukları için bu esnada karbol fuksini hücre içerisine alıp geri bırakmazken diğer bakterilerin ise bu boyayı bırakmaları ve ardındaki yıkama işleminden sonra zıt boya olan metilen mavisi boyasıyla da kontaminasyon olarak nitelediğimiz bu bakterilerin boyanması sağlandı. Metilen mavisiyle boyama işlemi 30-45 saniye arasında tutuldu. Bu işlemden sonra da her işlemden sonra olduğu gibi çeşme suyuyla yıkama işlemi uygulandı ve hava da kurumaya bırakılan preparatlar kuruduktan sonra 100'lük objektifte immersiyon yağı (sedir yağı) yardımıyla incelendi.

3.2.2.1.2. Kültür Ortamında İzolasyon

Kültür ortamında izolasyon için mikobakteriyoloji laboratuvarlarında rutin olarak kullanılan LJ agar besiyeri ve 7 ml'lik modifiye edilmiş Middlebrook 7H9 Broth içeren BACTEC MGIT 960 otomatize sistemi kullanıldı.

3.2.2.1.2.1. Lowenstein-Jensen (LJ) Agarda Kültür

İlk kültür yöntemi olan LJ agar içerisinde 0,3 ml oranında ekim yapılan örnekler daha sonra 6-8 hafta (ortalama 42 gün) boyunca 37°C de inkübe edildi.

3.2.2.1.2.2. BACTEC MGIT 960 Sisteminde Kültür

Örnekler 0,5 ml oranında rutinde ikinci kültür yöntemi olan MGIT'a ekildikten 6-8 hafta (ortalama 42 gün) sonra üreme tespit edilene kadar 37 °C de inkübe edildi. 42 günün sonunda pozitif sonuç vermeyen örnekler negatif kabul edildi. Şüpheli koloniler

yukarıda bahsedildiği gibi mikroskopik olarak incelendi, ayrıca moleküler olarak da PCR yöntemi ile test edildi.

3.3. Yeni Nesil Dizileme ile Mikrobiyom Analizi

Hasta ve kontrol grubundan alınan BAL örneklerinden *16S Ribozomal RNA* dizilemesi yapılarak mikrobiyom analizi yapıldı. Bu amaçla izlenen basamaklar aşağıda detaylandırılmıştır.

3.3.1. DNA İzolasyonu

BAL örneklerinden DNA ekstraksiyonu için QIAamp DNA Blood Mini Kit (Qiagen, Düsseldorf, Almanya) (Katolog No/ID: 51104) kullanıldı. DNA ekstraksiyonundan sonraki aşamalar, Erciyes Üniversitesi Genom ve Kök Hücre Merkezi'nde gerçekleşti.

3.3.1.1. QIAamp DNA Blood Mini Kit ile DNA İzolasyonu

1. 1.5ml lik mikrosantrifüj tüpünün dip kısmına 20 µl QIAGEN Proteaz eklendi.
2. Mikrosantrifüj tüpüne 200 µl örnek eklendi.
3. Örneğin üzerine 200 µl AL Buffer eklendi, 15 sn vortekslendi.
4. 56 °C de 10 dk inkübe edildi.
5. Mikrosantrifüj tüpünün kapağında veya duvarında örnek kalmaması için maksimum devirde kısa süreli santrifüj edildi.
6. 200 µl etanol (%96-%100) eklendi, 15 sn vortekslendi, maksimum devirde kısa süreli santrifüj edildi.
7. Mikrosantrifüj tüpündeki materyalin tamamı (200 µl AL Buffer + 200 µl örnek + 200 µl etanol + 20 µl QIAGEN Proteaz = 620 µl) mikropipetle mini spin columnna aktarıldı, 8000 rpm de 1 dk santrifüj edildi. Santrifüjden sonra mini spin columnun altındaki toplama tüpü atıldı.
8. Mini spin columnna 500 µl AW1 Buffer eklendi, 8000 rpm de 1 dk santrifüj edildi. Santrifüjden sonra mini spin columnun altında ki toplama tüpü atıldı.
9. Mini spin columnna 500 µl AW2 Buffer eklendi, 14000 rpm de 3 dk santrifüj edildi.

10. Kullanılan eski toplama tübü atıldı, yeni toplama tüpünün kullanıldı ve maksimum devirde 1 dk santrifüj edildi.
11. Kullanılan eski toplama tübü atıldı, mini spin columnun altına 1.5 ml lik mikrosantrifüj tüpü yerleştirildi, 200 µl AE Buffer su eklendi. Oda sıcaklığında (15-25 °C de) 5 dk inkübe edildi. 8000 rpm de 1 dk santrifüj edildi. 1.5 ml lik mikrosantrifüj tüpünde ki DNA -20 °C de saklandı.

3.3.2. Çift İplikli DNA (dsDNA) Kantifikasyonu

Kit ile izole edilen DNA örneklerinin çift sarmal DNA (dsDNA) miktarları bakımından kantifikasyon ölçümleri, Qubit florometrik sisteminde Qubit dsDNA BR assay kit kullanılarak aşağıdaki basamaklar üzerinden yapıldı.

- Kontrol Grubu: Qubit™ dsDNA BR Standard #1 ve Qubit™ dsDNA BR Standard #2
- Qubit™ dsDNA BR Buffer için: 199 µl x (Örnek Sayısı + Kontrol Grubu)
- Qubit™ dsDNA BR Reagent için: 1 µl x (Örnek Sayısı + Kontrol Grubu)
- Hesaplanan miktarda Buffer ve Reagent mix tüpüne eklenerek vorteklendi.
- Mix kit içerisinde olan ölçüm tüplerine aşağıda belirtilen hacimlerde karıştırıldı.
- Kontrol grubu: 190µl mix + 10 µl (Standard #1 ve Standard #2 için ayrı)
- Her örnek için: 198 µl mix + 2 µl DNA
- Elde edilen karışım vorteks işleminden sonra oda ısısında 2 dakika bekletildi.
- İnkübasyon süresi bitiminde, Qubit2 cihazı ile önce kontrol grupları ardından örneklerin ölçümleri yapıldı.

3.3.3. 16S rRNA Polimeraz Zincir Reaksiyonu ve Sekanslama

Illumina MiSeq sisteminde yapılan 16S Ribozomal RNA dizileme için kütüphane hazırlığı cihazın protokollerine uygun olarak gerçekleştirildi (16S Metagenomic Sequencing Library Preparation Preparing 16S Ribosomal RNA Gene Amplicons for the Illumina MiSeq System). Bu amaçla izlenen basamaklar aşağıda detaylandırılmıştır.

3.3.3.1. 16S rRNA V3-V4 Gen Bölgeleri için Polimeraz Zincir Reaksiyonu

Her bir örneğe ait dsDNA, V3-V4 bölgelerini hedefleyen primerler ve 2x KAPA HiFi HotStart Ready Mix kullanılarak 96'lık well plate'lerde aşağıdaki Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) kuruldu.

	Hacim
Mikrobiyal dsDNA (5 ng/μl)	2.5 μl
Amplikon PZR Forward Primer 1 μM	5 μl
Amplikon PZR Reverse Primer 1 μM	5 μl
<u>2x KAPA HiFi HotStart ReadyMix</u>	<u>12.5 μl</u>
Toplam	25 μl

16s rRNA'nın V3-V4 bölgesini hedefleyen PZR aşağıdaki koşullar altında Sensequest Termal Döngü cihazı ile gerçekleştirildi.

95°C'de 3 dak. – ilk denaturasyon	
95°C'de 30 sn. - denaturasyon	
58°C'de 30 sn. - bağlanma (annealing)	} 25 döngü
72°C'de 30 sn. - uzama (extension)	
72°C'de 5 dak. - son uzama (extension)	

3.3.3.2. PZR Ürünü Görüntüleme

Thermal Döngü Cihazından çıkarılan PZR ürünlerinin, plate üzerindeki film tabakasından tüpe yoğunlaşmasını sağlamak 20°C 1000 x g 1 dakika santrifüj edildi. Daha sonra her bir örnekten 5 μl alınıp 2 μl 6x Gel Loading Dye solüsyonu ile karıştırılarak, 3,5 μl'lik etidyum bromidle boyanmış 20 cm'lik %1,5 agaroz içeren jelle yüklendi. Jeldeki birinci göze 3 μl DNA ladder (100bp) konularak 45 dakika boyunca 120 voltta 400 mA'da elektroforez işlemi gerçekleştirildi. Yakşalık 550 baz çiftlik PZR ürünü Bio-Rad chemidoc Mp Jel ile görüntülendi.

3.3.3.3. Amplikon Temizleme

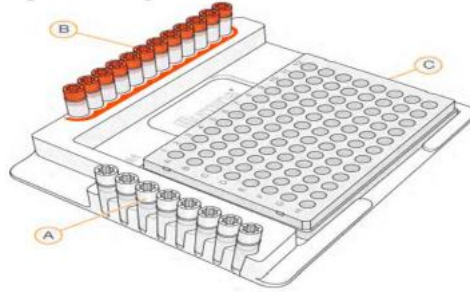
Bu aşamada PZR ürünlerinin manyetik boncuklar ile temizlenmesi sağlandı. Bu amaçla izlenen basamaklar;

- İlk olarak AMPure XP boncuklar 20 dakikda oda ısısında bekletildikten sonra 30 saniye vorteklenerek tüpün alt kısmına çöken boncukların tüp içerisinde eşit olarak dağılması sağlandı.
- Bir önceki aşamadan elde edilmiş olan, içerisinde PZR ürünlerini taşıyan 96-well plate deki her bir örneğin üzerine 20 µM AMPure XP boncuk eklendi.
- Örnekler oda ısısında 1800 rpm’de 2 dakika boyunca çalkalanarak boncukların örneklerin içerisine karışması sağlandı. 5 dakika oda ısısında bekletildi.
- Örnekler manyetik spora yerleştirildi ve şeffaf görüntü elde edilene kadar en az 2 dakika oda ısısında bekletildi.
- Manyetik spor üzerindeki örneklerden çoklu pipet kullanılarak süpernatant uzaklaştırıldı.
- Manyetik spor üzerindeki PZR ürünlerinin tutunduğu boncuklar, yeni hazırlanan %80 etil alkol ile iki kez yıkandı.
- Yıkama işlemi için: Çoklu pipet kullanılarak her örneğe 200 µl etil alkol eklendi. Manyetik blog üzerinde oda ısısında 30 saniye inkübe edildi.
- Manyetik blog üzerinde, hareket ettirmeden dikkatlice süpernatant kısım uzaklaştırıldı.
- Etil alkol ile yıkama işleminin ardından örnekler, manyetik spor üzerinde boncukların kuruması için 10 dakika bekletildi.
- Manyetik spordan uzaklaştırılan örneklerin üzerine çoklu pipet kullanılarak 52,5 µl 10 mM Tris (pH 8,5) eklendi.
- Örnekler oda ısısında 1800 rpm’de 2 dakika boyunca çalkalanarak örneklerin ve 10 mM Tris (pH 8,5) karışması sağlandı.
- Örnekler 2 dakika oda ısısında inkübe edildi.
- Örnekler tekrar manyetik spora yerleştirildi ve temiz görüntü elde edilenen kadar en az 2 dakika oda ısısında bekletildi.
- Çoklu pipet kullanılarak 50 µl temiz PZR ürünleri yeni 96-well plate aktarıldı.

3.3.3.4. Temizlenmiş 16S rRNA V3-V4 Amplikonları için Index PZR

Bir önceki basamaktan elde edilen temiz PZR ürünleri için Illumina MiSeq cihazına uygun indexler cihazın protokolüne uygun şekilde PZR ile eklendi. Bu amaçla;

- Her bir örneğe ait temizlenmiş PZR ürünlerinden 5 µl örnek 96 well plate aktarıldı.
- İndex primerler TruSeq Index Plate Fikstür üzerinde Şekil 3.3.'te görüldüğü gibi yerleştirildi.



Şekil 3.3. TruSeq Index Plate Fikstür, A: İndex 2 primerleri (Beyaz kapak) B: İndex 1 primerleri (Turuncu kapak) C: 96-well plate

- 96-well plate içerisinde her bir örnek için aşağıdaki PZR master miksi oluşturuldu.

	Hacim
DNA	5 µl
Nextera XT Index Primer 1	5 µl
Nextera XT Index Primer 2	5 µl
2x KAPA HiFi HotStart ReadyMix	25 µl
<u>PCR Grade water</u>	<u>10 µl</u>
Toplam	50 µl

- 96-well plate üzeri Microseal 'A' ile kapatılarak örnekler 20°C 1,000 × g 1 dakika santrüfuj edildi.
- 96-well plate thermal cycler cihazına yerleştirilerek takip eden amplifikasyon aşamaları uygulandı.

95°C'de 3 dak. – ilk denaturasyon

95°C'de 30 sn. - denaturasyon

55°C'de 30 sn. - İndex bağlanması (annealing)

72°C'de 30 sn. - uzama (extension)

72°C'de 5 dak. - son uzama (extension)

8 döngü

- Index PZR ürünlerinin plate üzerindeki film tabakadan tüpe yoğunlaşmasını sağlamak için plate 20°C 280x g'de 1 dakika santrifüj edildi ve örnekler 96- well MIDI plate aktarıldı.
- Index PZR ürünlerinin temizlenmesi için bir önceki bölümde detaylandırılmış olan AMPure XP boncuklar üzerinden yıkama işlemleri yapıldı.
- Yıkama işleminden sonra yakışalık 630 baz çiftlik PZR ürünü için jel elektroforez ve görüntüleme yapıldı.
- Çoklu pipet kullanılarak 25 µl Index PZR ürünleri yeni 96-well plate aktarıldı.

3.3.3.5. 16s rRNA V3-V4 Dizileme için Kütüphane Oluşturulması

Index PZR sonrası oluşturulan amplikon boyutuna bağlı olarak her bir örnekteki indexlenmiş DNA konsantrasyonu nM cinsinden aşağıdaki formülle hesaplandı:

$$\frac{(\text{ng}/\mu\text{L olarak konsantrasyon})}{(660 \text{ g / mol} \times \text{ortalama kütüphane boyutu})} \times 10^6 = \text{nM olarak konsantrasyon}$$

Yukarıdaki formül ile yapılan hesaplama sonuçlarına göre her bir örnek 10 mM Tris (pH 8.5) ile 4 nM'a seyreltildi. Seyreltilmiş her bir örnekten 5 µl DNA alınarak kütüphane oluşturuldu.

3.3.3.6. Kütüphane ve PhiX Kontrolün Hazırlanması ve Cihaza Örnek Yükleme

Havuzlanmış kütüphanelerin öncelikle denatürasyonu yapıldı. Söz konusu işleme başlamadan önce aşağıdaki hazırlıklar gerçekleştirildi.

- 1.7 ml mikrosantrifüj tüpleri için uygun olan ısı bloğunun sıcaklığı 96°C'ye ayarlandı.
- 15°C ile 25°C saklanan MiSeq reaktif kartuşu oda ısısında çözünmeye bırakıldı.
- Buzlu su banyosu hazırlandı.
- 0.2 N NaOH taze olarak hazırlandı.
- Bir mikrosantrifüj tüpü içerisinde 5 µl 0.2 N NaOH ve 5 µl 4 nM havuzlanmış kütüphane birleştirildi.

- Örnekler, kısa bir süre vortekslendikten sonra 20°C 280 × g 1 dakika santrifüj edildi ardından oda ısısında 5 dakika inkübe edildi.
- Denatüre edilen DNA tüpüne, 990 µl önceden soğutulmuş ve Illumina kitinin içeriğinde bulunan Hibridizasyon Buffer (HT1) eklendi.
- HT1'in eklenmesi ile 1mM NaOH içerisinde 20pM denatüre edilmiş DNA Kütüphanesi elde edildi.
- Denatüre kütüphane uygun hacimde HT1 ilavesi ile protokolün önerdiği 2 pM final konsantrasyona dilüe edildi.
- Denatüre ve seyreltilmiş DNA buza yerleştirildi.
- Cihaza yüklenecek olan kütüphanede en az %5 PhiX olacak şekilde PhiX kontrolü hazırlandı ve yukarıda anlatılan basamaklar izlenerek denatürasyon yapıldı. Ardından PhiX DNA, kütüphane ile aynı konsantrasyona dilüe edildi. 570 µl denatüre amplikon kütüphanesi ile 30 µl denatüre PhiX kontrol bir mikrosantrifüj tüpü içerisinde birleştirildi. Birleştirilen kütüphane ve PhiX kontrol tüpü 96 °C ısı bloğunda 2 dakika inkübe edildi. İnkübasyondan sonra hemen buzlu su banyosuna yerleştirildi. Tüp buzlu su banyosunda 5 dakika bekletildi. Su banyosundan sonra örnek Illumina MiSeq cihazına yüklendi.

3.3.4. Yüksek Çıktılı Yeni Nesil DNA Dizilemesi Sonucu Elde Edilen Verilerin Analizi

Tez projesi kapsamında üretilen yüksek çıktılı DNA dizi analizleri aşağıda detaylandırılan Quantitative Insights Into Microbial Ecology (QIIME) program parçaları kullanılarak gerçekleştirildi.

- Barkodların ve dizilerin iki ayrı fastq dosyasında yer aldığı Fastq dizisi verisinin split_libraries_fastq.py demultipleksiyonu gerçekleştirildi.
- Okumalardaki kimerik dizileri çıkarmak için identift_chimeric_seqs.py tarandı.
- Düşük okuma kaliteli dizileri uzaklaştırmak için filter_fasta.py kullanıldı.
- Açık referanslı OTU seçilimi için pick_open_reference_otus.py kullanıldı.
- Bir OTU tablosundaki örnekleri verilen bir referansa göre sıralamak, benzer örnekleri bir araya toplamak ve örnekleri istenilen sırada dizilemek için sort_otu_table.py kullanıldı.

- Seviyelere göre taksonomik dağılımı gösteren dilim, bar ve bölge grafikleri plot_taxa_summary.py ile oluşturuldu.
- Normamalized_otu.jsonnormalize_tabla.py ile normalizasyon sağlandı.
- OTU tabloları için beta_diversity.py ile beta çeşitlilik analizleri yapıldı.
- Principial_coordinates.py ile temel koordinat analizleri (PCoA) yapıldı.
- PCoA analiz sonuçları make_2d_plots.py ve make_3d_plots.py ile 2 boyutlu ve 3 boyutlu PCoA plotlar çizildi.

3.4. İstatistiksel Analiz

Verilerin istatistiksel analizinde Python ver. 3.10.1 programı kullanıldı. Farklı gruplardaki mikrobiyom üyelerinin dağılımı Mann Whitney U testi ile karşılaştırıldı. Testlerde istatistiksel önem düzeyi 0.01 olarak alındı. Gruplar karşılaştırılmadan önce bonferroni düzeltmesi yapıldı. Karşılaştırılan gruplar aşağıda gösterilmiştir.

- •Hasta grubu (n=31) ile kontrol grubu (n=13),
- •Hasta grubunda akciğer kanserine eşlik eden akciğer dışı kanser, KOAH ve diabetes mellitus gibi kronik ek hastalığı olan bireyler (n=11) ile kontrol grubu (n=13),
- •Hasta grubunda akciğer kanserine eşlik eden ek hastalığı olmayan bireyler (n=20) ile kontrol grubu (n=13),
- •Hasta grubunda akciğer kanserine eşlik eden ek hastalığı olan bireyler (n=11) ile ek hastalığı olmayan bireyler (n=20),
- •Hasta grubundaki aktif sigara içen bireyler (n=11) ile hasta grubundaki son 3 aydır sigara içmeyen bireyler (n=20). Sigara alışkanlığının tam olarak bırakıldığını söyleyebilmek için beklenen süre her ne kadar klinisyenlerce 1 yıl olarak kabul görse de, bırakan kişilerde 2-3 hafta ile 3 ay arasında bir sürede solunum yollarını temizleme görevlerini üstlenen öksürme refleksinin ve silyanın onarımı tamamlanmakta, nikotin yoksunluk belirtileri yok olmaktadır. Böylece, mikrobiyotanın şekillenmesinde aktif sigara içmeme kriterinin de kesin olmaması sebebiyle, bu çalışmada bu kriter için 3 aylık sürenin yeterli olabileceğini düşündük.

4. BULGULAR

Akciğer kanserli hastaların akciğer mikrobiyotasının belirlenmesini amaçladığımız çalışmada BAL örnekleri değerlendirilen 31 hastadan 3 (%9,7)'ü kadın, 28 (%90,3)'i ise erkek idi. Yaşları 52 ile 78 yaş arasında değişen hastaların yaş ortalaması 66, ortancası da 65 idi. Hastaların 8 (%25,8)'i diyabetes mellitus, 2 (%6,5)'si kanser ve 1 (%3,2)'i KOAH olmak üzere toplam 11 (%35,5)'inde akciğer kanserine eşlik eden ek hastalık var idi. BAL örnekleri değerlendirilen 13 kontrol grubu bireyinin ise 3 (%23,1)'i kadın, 10 (%76,9)'u erkek idi. Yaşları 17 ile 75 yaş arasında değişen bireylerin yaş ortalaması 53, ortancası da 53 idi. Hasta grubunda örnek alındığı esnada 11 (%35,5) kişi aktif olarak sigara kullanmakta idi. Bu kişiler ortalama 44 yıldır ve günde ortalama 21 adet sigara kullanmakta idi. Hastalarımızdan 18 (%58,1)'i hayatlarının herhangi bir döneminde sigara kullanmış, ancak son 3 aydır hiç sigara kullanmadığından, hiç tütün ürünü kullanmamış 2 (%6,4) kişi ile birlikte aktif içici olmayan grupta değerlendirildi.

Konvansiyonel kültür yöntemleri ve biyokimyasal testler ile identifikasyon sonucunda akciğer kanserli hastaların 1 (%33,3)'i kadın 19 (%67,8)'u erkek toplam 20 (%64,5)'sinde üreme gözlemlendi. En sık izole edilen bakteriler hastaların 10 (%32,3)'ünde olmak üzere *Neisseria spp.* ve 9 (%29,0)'ünde olmak üzere *Streptococcus spp.* idi. *Neisseria* izolatlarının 3'ü *Neisseria sicca*, *Streptococcus* izolatlarının da 3'ü *Streptococcus pneumoniae* olarak identifiye edildi.

Konvansiyonel kültür yöntemleri ve biyokimyasal testler ile identifikasyon sonucunda pulmoner nodülü olan fakat akciğer kanser tanısı almayan kontrol grubu bireylerin 2 (%66,7)'si kadın 9 (%90,0)'ı erkek toplam 11 (%84,6)'inde üreme gözlemlendi. En sık izole edilen bakteriler kontrol grubu bireylerin 3 (%32,3)'ünde izolasyon oranları aynı olmak üzere *Haemophilus* ve *Streptococcus spp* idi. *Streptococcus* izolatlarının da 1'ü *Streptococcus pneumoniae* olarak identifiye edildi (Çizelge 4.1).

Çizelge 4. 1. Kültürde İzolasyon Sonuçları

Örnek No	İzole Edilen Bakteriler
H1	<i>Streptococcus spp.</i>
H2	Üreme olmadı
H3	<i>Streptococcus spp.</i>
H4	<i>Neisseria sicca</i> , <i>Haemophilus spp</i>
H5	<i>Neisseria sicca</i> , <i>Streptococcus pneumoniae</i>
H6	Üreme olmadı
H7	<i>Neisseria spp.</i>
H8	Üreme olmadı
H9	<i>Bacillus subtilis</i>
H10	Üreme olmadı
H11	<i>Neisseria spp.</i>
H12	<i>Neisseria spp.</i>
H13	<i>Neisseria spp.</i> , <i>Streptococcus spp.</i>
H14	<i>Haemophilus spp</i>
H15	Üreme olmadı
H16	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
H17	<i>Neisseria spp.</i>
H18	Üreme olmadı
H19	<i>Haemophilus spp.</i> , <i>Streptococcus spp.</i>
H20	Üreme olmadı
H21	Üreme olmadı
H22	Üreme olmadı
H23	<i>Neisseria spp.</i>
H24	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
H25	<i>Streptococcus spp.</i>
H26	<i>Neisseria spp.</i> , <i>Haemophilus spp</i>
H27	<i>Bacillus subtilis</i>
H28	<i>Neisseria sicca</i>
H29	Üreme olmadı
H30	Üreme olmadı
H31	<i>Streptococcus spp.</i>
K1	<i>Staphylococcus aureus</i>
K2	<i>Neisseria sicca</i> ,
K3	<i>Haemophilus spp.</i>
K4	<i>Haemophilus spp</i>
K5	<i>Bacillus subtilis</i>
K6	<i>Streptococcus spp.</i>
K7	Üreme olmadı
K8	<i>Haemophilus spp.</i>
K9	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
K10	Üreme olmadı
K11	<i>Neisseria sicca</i>
K12	<i>Streptococcus spp.</i>
K13	<i>Staphylococcus spp.</i>

H1-31: hasta grubu, K1-13: kontrol grubu

Gerek fenotipik gerekse moleküler yöntemlerle yaptığımız mikobakteriyolojik inceleme sonucunda BAL örneklerinin hiçbirinde mikobakteri kolonizasyonu tespit edilemedi.

Akciğer mikrobiyomunu belirlemek amacı ile uyguladığımız yeni nesil dizilime analizi sonucunda filtreleme işlemi sonrası veriler için taksonomik atamalar yapıldı. Bakteriyel operasyonel taksonomik üniteler (OTU) 42 şube, 104 sınıf, 202 takım, 387 aile ve 843 cins olarak sınıflandırıldı. Mikrobiyom çeşitliliği şube ve sınıf düzeylerinde kontrol grubunda daha yüksek bulunmuşken, takım, aile ve cins düzeylerinde hasta grubunda daha yüksek bulundu. Hasta ve kontrol gruplarındaki mikrobiyom çeşitliliğinin taksonomik gruplara dağılımı Çizelge 4.2’de gösterilmiştir.

Çizelge 4.2. YND ile tespit edilen mikrobiyom çeşitliliğinin taksonomik birimlere dağılımı

Taksonomik Birimler	Hasta grubu	Kontrol grubu	Genel
Şube	37	40	42
Sınıf	92	97	104
Takım	185	180	202
Aile	360	337	387
Cins	774	697	843

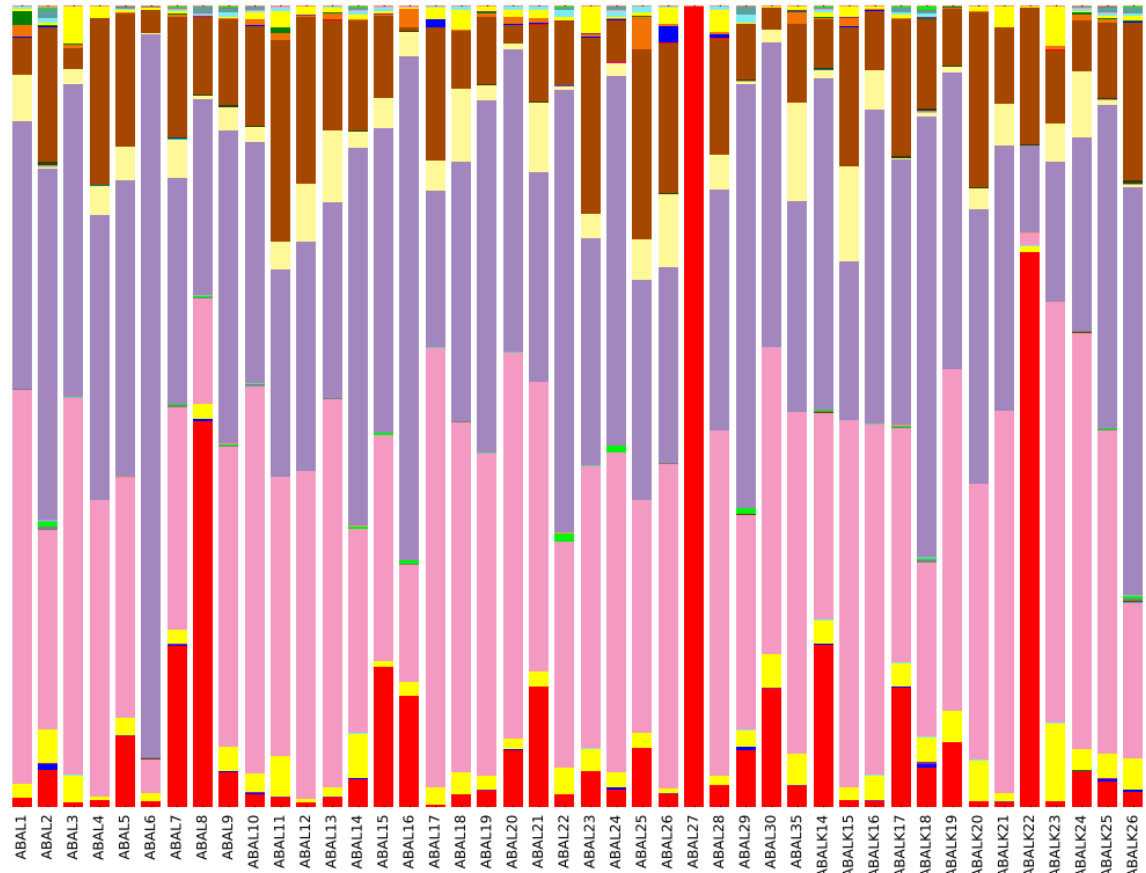
Bakteriyel operasyonel taksonomik üniteler (OTU) hasta grubunda eşlik eden ek hastalığı olanlarda 32 şube ve 608 cins, eşlik eden ek hastalığı olmayanlarda 35 şube ve 680 cins, aktif olarak sigara kullananlarda 30 şube ve 528 cins, aktif olarak sigara kullanmayanlarda ise 36 şube ve 724 cins olarak sınıflandırıldı (Çizelge 4.3).

Çizelge 4.3. Hasta grubunda şube ve cins düzeyindeki mikrobiyom çeşitliliğinin risk faktörleri ile karşılaştırılması

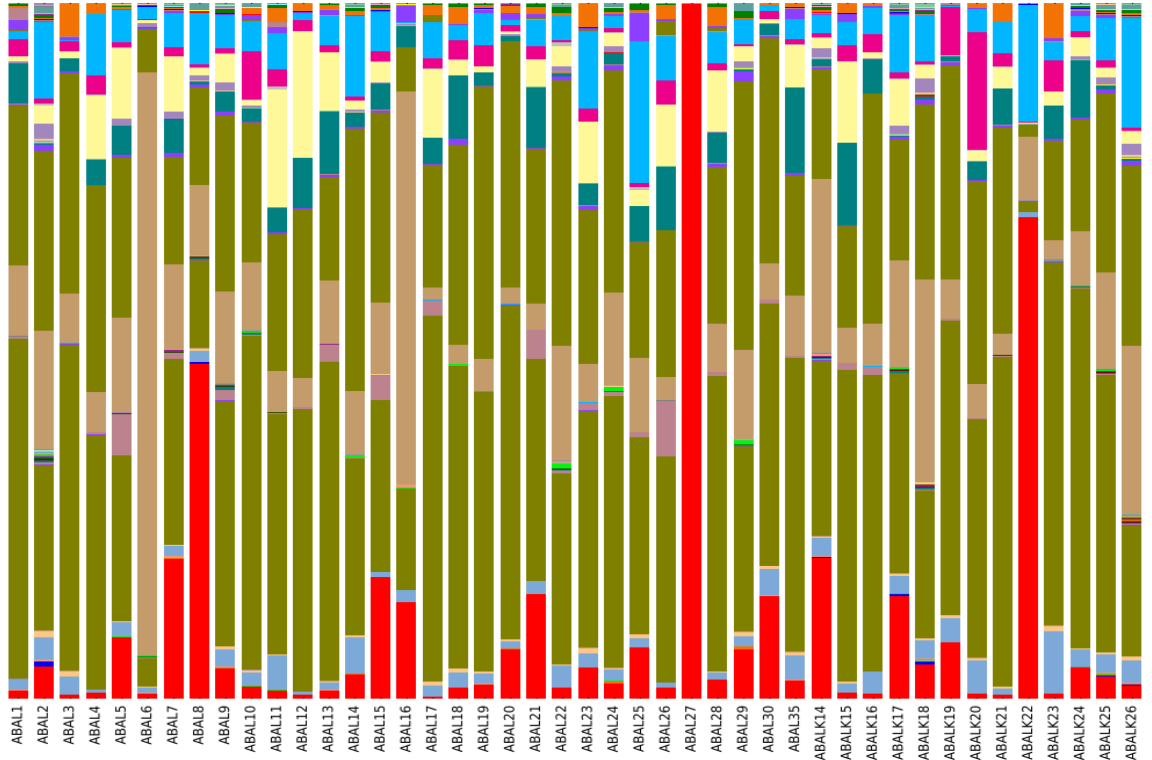
	Şube (n=37)	Cins (n=774)
Eşlik eden ek hastalığı olanlar	32	608
Eşlik eden ek hastalığı olmayanlar	35	680
Aktif sigara kullananlar	30	528
Aktif sigara kullanmayanlar	36	724

Yeni nesil dizileme ile mikrobiyom içerisindeki şube dağılımları hasta ve kontrol grubu için ayrı olarak hesaplandı. Ortalama bazında akciğer kanserli hasta grubunda en yüksek okuma alınan 5 bakteri şubesinin *Firmicutes* (%37,0), *Bacteroides*

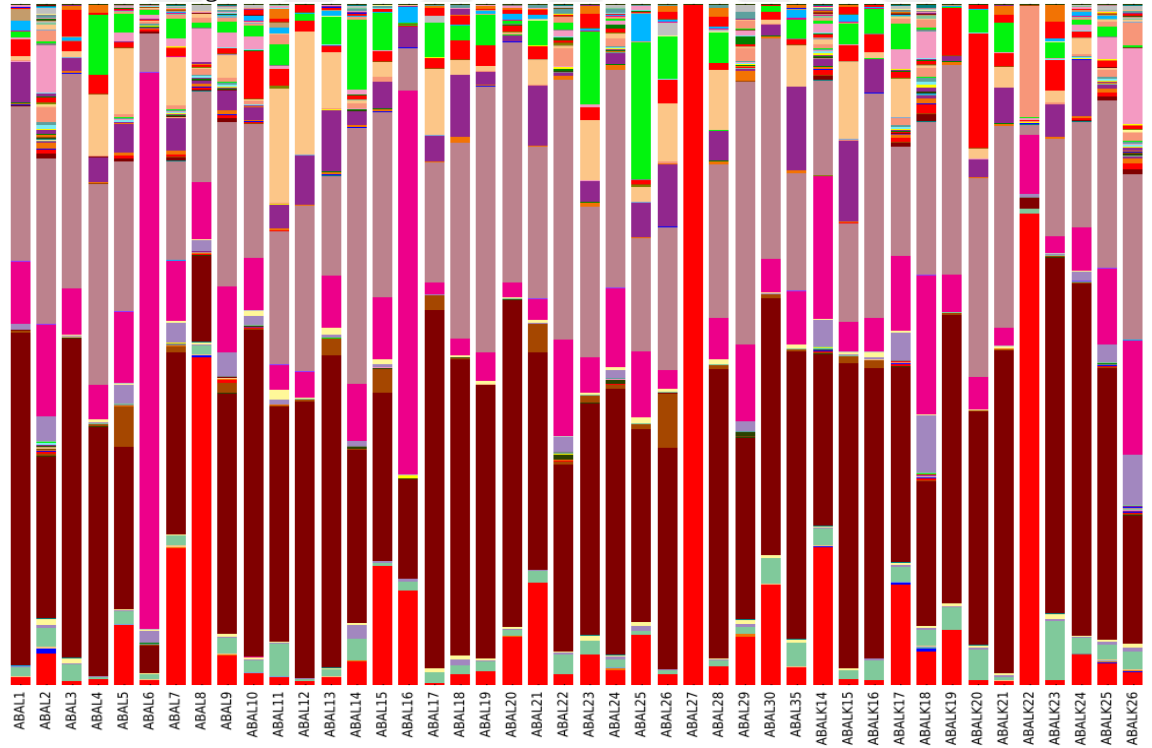
(%33,8), *Proteobacteria* (%11,1), *Fusobacteria* (%4,0) ve *Actinobacteria* (%1,8) olduğu, kontrol grubunda da aynı şubelerin ilk 5 sırada yer aldığı, sıralamanın ise *Bacteroides* (%35,2), *Firmicutes* (%33,6), *Proteobacteria* (%12,3), *Actinobacteria* (%3,4) ve *Fusobacteria* (%3,2) olduğu tespit edildi (Şekil 4.1).



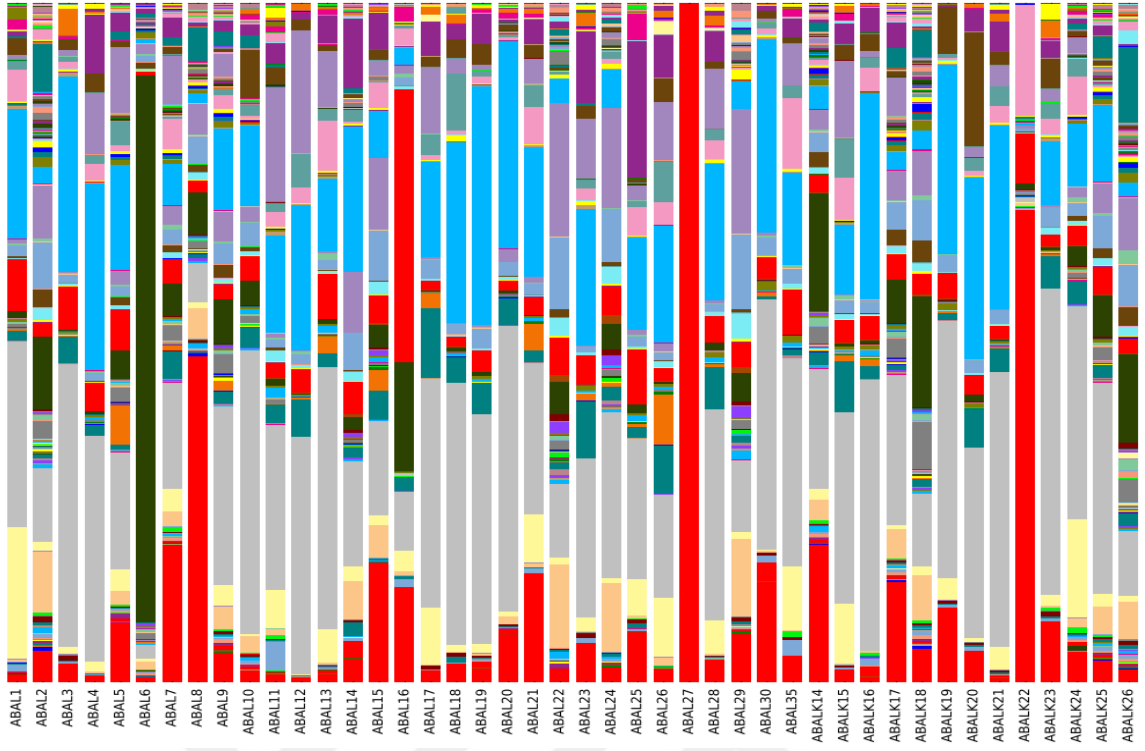
Şekil 4.1. Şube seviyesinde oluşturulmuş OTU tablosu. Hasta grubuna ait örnekler ABAL1-30,35 olarak gösterilmiştir. ABAL31-34 arasındaki örnekler çalışma dışı bırakıldığı için çalışmamızda değerlendirdiğimiz hasta grubundaki 31 numaralı örneğimiz ABAL35 olarak isimlendirilmiştir. Kontrol grubuna ait örnekler ise ABALK14-26 olarak gösterilmiştir, örnekler sırasıyla kontrol grubuna ait 1–13 arasındaki örneklerdir.



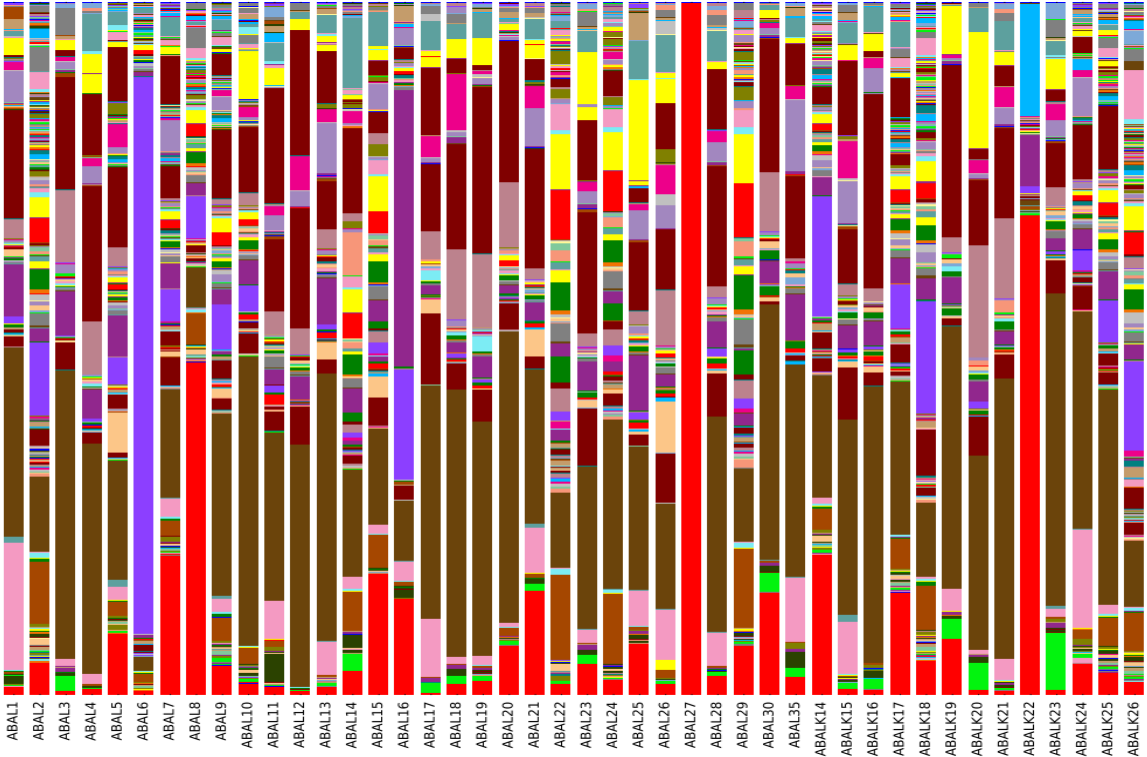
Şekil 4.3. Sınıf seviyesinde oluşturulmuş OTU tablosu. Hasta grubuna ait örnekler “ABAL” olarak gösterilmiştir. ABAL35: hasta grubundaki 31 numaralı örnektir. Kontrol grubuna ait örnekler ise “ABALK” olarak gösterilmiştir. ABALK14 - ABALK26 arasındaki örnekler sırasıyla kontrol grubuna ait 1 – 13 arasındaki örneklerdir.



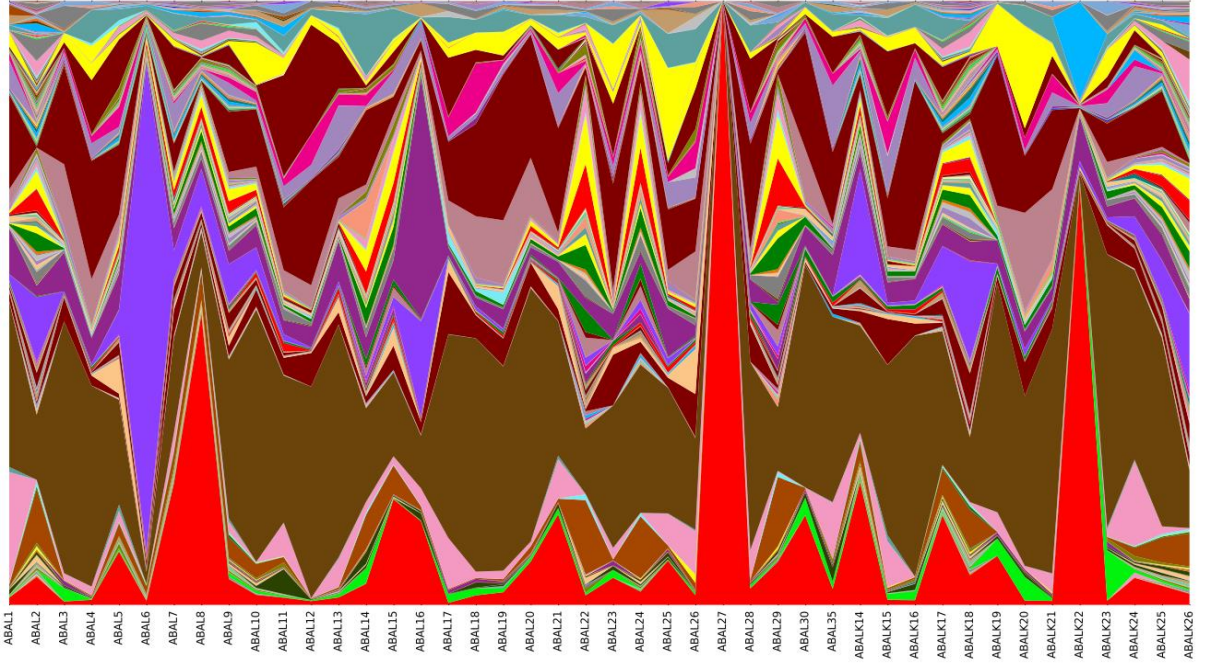
Şekil 4.4. Takım seviyesinde oluşturulmuş OTU tablosu. Hasta grubuna ait örnekler “ABAL” olarak gösterilmiştir. ABAL35: hasta grubundaki 31 numaralı örnektir. Kontrol grubuna ait örnekler ise “ABALK” olarak gösterilmiştir. ABALK14 - ABALK26 arasındaki örnekler sırasıyla kontrol grubuna ait 1 – 13 arasındaki örneklerdir.



Şekil 4.5. Aile seviyesinde oluşturulmuş OTU tablosu. Hasta grubuna ait örnekler “ABAL” olarak gösterilmiştir. ABAL35: hasta grubundaki 31 numaralı örnektir. Kontrol grubuna ait örnekler ise “ABALK” olarak gösterilmiştir. ABALK14 - ABALK26 arasındaki örnekler sırasıyla kontrol grubuna ait 1 – 13 arasındaki örneklerdir.



Şekil 4.6. Cins seviyesinde oluşturulmuş OTU tablosu (bar grafiği). Hasta grubuna ait örnekler “ABAL” olarak gösterilmiştir. ABAL35: hasta grubundaki 31 numaralı örnektir. Kontrol grubuna ait örnekler ise “ABALK” olarak gösterilmiştir. ABALK14 - ABALK26 arasındaki örnekler sırasıyla kontrol grubuna ait 1 – 13 arasındaki örneklerdir.



Şekil 4.7. Cins seviyesinde oluşturulmuş OTU tablosu (alan grafiği). Hasta grubuna ait örnekler ‘‘ABAL’’ olarak gösterilmiştir. ABAL35: hasta grubundaki 31 numaralı örnektir. Kontrol grubuna ait örnekler ise ‘‘ABALK’’ olarak gösterilmiştir. ABALK14 - ABALK26 arasındaki örnekler sırasıyla kontrol grubuna ait 1 – 13 arasındaki örneklerdir.

Legend	Taxonomy	%
	Unassigned;Other;Other;Other;Other;Other	9.8%
	k_Archaea;p_Euryarchaeota;c_Halobacteria;o_Halobacteriales;f_Halobacteriaceae;Other	0.0%
	k_Archaea;p_Euryarchaeota;c_Halobacteria;o_Halobacteriales;f_Halobacteriaceae;g_	0.0%
	k_Archaea;p_Euryarchaeota;c_Halobacteria;o_Halobacteriales;f_Halobacteriaceae;g_Haloarcula	0.0%
	k_Archaea;p_Euryarchaeota;c_Halobacteria;o_Halobacteriales;f_Halobacteriaceae;g_Halonotius	0.0%
	k_Archaea;p_Euryarchaeota;c_Halobacteria;o_Halobacteriales;f_Halobacteriaceae;g_Haloquadratum	0.0%
	k_Archaea;p_Euryarchaeota;c_Halobacteria;o_Halobacteriales;f_Halobacteriaceae;g_Halorhabdus	0.0%
	k_Archaea;p_Euryarchaeota;c_Halobacteria;o_Halobacteriales;f_Halobacteriaceae;g_Halorubrum	0.0%
	k_Archaea;p_Euryarchaeota;c_Halobacteria;o_Halobacteriales;f_Halobacteriaceae;g_XKL75	0.0%
	k_Archaea;p_Euryarchaeota;c_Halobacteria;o_Halobacteriales;f_MSP41;g_	0.0%
	k_Archaea;p_Euryarchaeota;c_Methanobacteria;o_Methanobacteriales;f_Methanobacteriaceae;g_Methanobrevibacter	0.0%
	k_Archaea;p_Euryarchaeota;c_Methanobacteria;o_Methanobacteriales;f_Methanobacteriaceae;g_Methanosphaera	0.0%
	k_Archaea;p_Euryarchaeota;c_Methanomicrobia;o_Methanomicrobiales;f_Methanocorpusculaceae;g_Methanocorpusculum	0.0%
	k_Archaea;p_Euryarchaeota;c_Methanomicrobia;o_Methanomicrobiales;f_Methanomicrobiaceae;g_Methanoculleus	0.0%
	k_Archaea;p_Euryarchaeota;c_Methanomicrobia;o_Methanosarcinales;f_Methanosarcinaceae;g_Methanosarcina	0.0%
	k_Archaea;p_Euryarchaeota;c_Methanomicrobia;o_Methanosarcinales;f_Methanosarcinaceae;g_Methanosarcina	0.0%
	k_Archaea;p_Euryarchaeota;c_Thermoplasmata;o_E2;f_[Methanomassiliococcaceae];g_vadinCA11	0.0%
	k_Bacteria;p_Euryarchaeota;c_Thermoplasmata;o_E2;f_[Methanomassiliococcaceae];g_vadinCA11	0.0%
	k_Bacteria;p_;;c_;;o_;;f_;;g_	0.0%
	k_Bacteria;p_Acidobacteria;c_Acidobacteria-6;o_CCU21;f_;;g_	0.0%
	k_Bacteria;p_Acidobacteria;c_Acidobacteria-6;o_iii1-15;f_;;g_	0.0%
	k_Bacteria;p_Acidobacteria;c_Acidobacteria-6;o_iii1-15;f_RB40;g_	0.0%
	k_Bacteria;p_Acidobacteria;c_Acidobacteria-6;o_iii1-15;f_mb2424;g_	0.0%
	k_Bacteria;p_Acidobacteria;c_Solibacteres;o_Solibacterales;Other;Other	0.0%
	k_Bacteria;p_Acidobacteria;c_Solibacteres;o_Solibacterales;f_;;g_	0.0%
	k_Bacteria;p_Acidobacteria;c_Solibacteres;o_Solibacterales;f_Solibacteraceae;g_	0.0%
	k_Bacteria;p_Acidobacteria;c_Sva0725;o_Sva0725;f_;;g_	0.0%
	k_Bacteria;p_Acidobacteria;c_[Chloracidobacteria];o_RB41;f_;;g_	0.0%
	k_Bacteria;p_Acidobacteria;c_[Chloracidobacteria];o_RB41;f_Ellin6075;g_	0.0%
	k_Bacteria;p_Acidobacteria;c_iii1-8;o_SJA-36;f_;;g_	0.0%
	k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Acidimicrobia;o_Acidimicrobiales;f_;;g_	0.0%
	k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Acidimicrobia;o_Acidimicrobiales;f_C111;g_	0.0%
	k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Acidimicrobia;o_Acidimicrobiales;f_EB1017;g_	0.0%
	k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Acidimicrobia;o_Acidimicrobiales;f_Microthrixaceae;g_	0.0%
	k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Acidimicrobia;o_Acidimicrobiales;f_Microthrixaceae;g_Candidatus Microthrix	0.0%
	k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Acidimicrobia;o_Acidimicrobiales;f_koll13;g_	0.0%
	k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Actinomycetales;Other;Other	0.0%
	k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Actinomycetales;f_;;g_	0.0%
	k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Actinomycetales;f_Actinomycetaceae;Other	0.0%
	k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Actinomycetales;f_Actinomycetaceae;g_	0.0%
	k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Actinomycetales;f_Actinomycetaceae;g_Actinomyces	0.9%
	k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Actinomycetales;f_Actinomycetaceae;g_Arcanobacterium	0.0%
	k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Actinomycetales;f_Actinomycetaceae;g_Mobiluncus	0.0%
	k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Actinomycetales;f_Actinomycetaceae;g_N09	0.0%
	k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Actinomycetales;f_Actinomycetaceae;g_Trueperella	0.0%
	k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Actinomycetales;f_Actinomycetaceae;g_Varibaculum	0.0%
	k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Actinomycetales;f_Beutenbergiaceae;Other	0.0%
	k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Actinomycetales;f_Brevibacteriaceae;g_Brevibacterium	0.0%
	k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Actinomycetales;f_Cellulomonadaceae;g_Actinotalea	0.0%
	k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Actinomycetales;f_Cellulomonadaceae;g_Cellulomonas	0.0%
	k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Actinomycetales;f_Cellulomonadaceae;g_Demequina	0.0%
	k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Actinomycetales;f_Corynebacteriaceae;g_Corynebacterium	0.1%
	k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Actinomycetales;f_Dermabacteraceae;Other	0.0%
	k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Actinomycetales;f_Dermabacteraceae;g_	0.0%
	k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Actinomycetales;f_Dermabacteraceae;g_Brachybacterium	0.0%
	k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Actinomycetales;f_Dermabacteraceae;g_Dermabacter	0.0%
	k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Actinomycetales;f_Dermacoccaceae;g_Dermacoccus	0.0%
	k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Actinomycetales;f_Dermatophilaceae;Other	0.0%
	k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Actinomycetales;f_Dietziaceae;Other	0.0%

Şekil 4.8. Cins seviyesinde oluşturulmuş OTU tablosuna ait renk kodları ve örnek bazında oranları. Hasta grubuna ait örnekler ABAL1-30,35 olarak gösterilmiştir. ABAL31-34 arasındaki örnekler çalışma dışı bırakıldığı için çalışmamızda değerlendirdiğimiz hasta grubundaki 31 numaralı örneğimiz ABAL35 olarak isimlendirilmiştir. Kontrol grubuna ait örnekler ise ABALK14-26 olarak gösterilmiştir, örnekler sırasıyla kontrol grubuna ait 1–13 arasındaki örneklerdir.

k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Actinomycetales;f_Dietziaceae;g_Dietzia	0.0%
k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Actinomycetales;f_Geodermatophilaceae;Other	0.0%
k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Actinomycetales;f_Geodermatophilaceae;g_	0.0%
k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Actinomycetales;f_Geodermatophilaceae;g_Geodermatophilus	0.0%
k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Actinomycetales;f_Intrasporangiaceae;Other	0.0%
k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Actinomycetales;f_Intrasporangiaceae;g_	0.0%
k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Actinomycetales;f_Intrasporangiaceae;g_Janibacter	0.0%
k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Actinomycetales;f_Intrasporangiaceae;g_Phycococcus	0.0%
k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Actinomycetales;f_Kineosporiaceae;g_	0.0%
k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Actinomycetales;f_Kineosporiaceae;g_Kineococcus	0.0%
k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Actinomycetales;f_Microbacteriaceae;Other	0.0%
k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Actinomycetales;f_Microbacteriaceae;g_	0.0%
k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Actinomycetales;f_Microbacteriaceae;g_Agromyces	0.0%
k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Actinomycetales;f_Microbacteriaceae;g_Leucobacter	0.0%
k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Actinomycetales;f_Microbacteriaceae;g_Microbacterium	0.1%
k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Actinomycetales;f_Microbacteriaceae;g_Mycetocola	0.0%
k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Actinomycetales;f_Microbacteriaceae;g_Pseudoclavibacter	0.0%
k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Actinomycetales;f_Microbacteriaceae;g_Rathayibacter	0.0%
k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Actinomycetales;f_Microbacteriaceae;g_Salinibacterium	0.0%
k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Actinomycetales;f_Micrococcaceae;Other	0.0%
k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Actinomycetales;f_Micrococcaceae;g_	0.1%
k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Actinomycetales;f_Micrococcaceae;g_Arthrobacter	0.0%
k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Actinomycetales;f_Micrococcaceae;g_Kocuria	0.0%
k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Actinomycetales;f_Micrococcaceae;g_Microbispora	0.0%
k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Actinomycetales;f_Micrococcaceae;g_Micrococcus	0.0%
k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Actinomycetales;f_Micrococcaceae;g_Nesterenkonia	0.0%
k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Actinomycetales;f_Micrococcaceae;g_Rothia	0.4%
k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Actinomycetales;f_Micromonosporaceae;g_	0.0%
k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Actinomycetales;f_Micromonosporaceae;g_Catellatospora	0.0%
k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Actinomycetales;f_Mycobacteriaceae;g_Mycobacterium	0.0%
k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Actinomycetales;f_Mycobacteriaceae;g_	0.0%
k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Actinomycetales;f_Nocardiaceae;Other	0.0%
k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Actinomycetales;f_Nocardiaceae;g_Nocardia	0.0%
k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Actinomycetales;f_Nocardiaceae;g_Rhodococcus	0.0%
k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Actinomycetales;f_Nocardioidaceae;Other	0.0%
k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Actinomycetales;f_Nocardioidaceae;g_	0.0%
k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Actinomycetales;f_Nocardioidaceae;g_Friedmanniella	0.0%
k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Actinomycetales;f_Nocardioidaceae;g_Kribbella	0.0%
k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Actinomycetales;f_Nocardioidaceae;g_Nocardioides	0.0%
k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Actinomycetales;f_Nocardioidaceae;g_Propionisimonas	0.0%
k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Actinomycetales;f_Promicromonosporaceae;g_Promicromonospora	0.0%
k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Actinomycetales;f_Propionibacteriaceae;g_	0.0%
k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Actinomycetales;f_Propionibacteriaceae;g_Propionibacterium	0.2%
k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Actinomycetales;f_Pseudonocardiaceae;g_	0.0%
k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Actinomycetales;f_Pseudonocardiaceae;g_Actinomycetospora	0.0%
k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Actinomycetales;f_Pseudonocardiaceae;g_Pseudonocardia	0.0%
k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Actinomycetales;f_Pseudonocardiaceae;g_Saccharopolyspora	0.0%
k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Actinomycetales;f_Sporichthyaceae;g_	0.0%
k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Actinomycetales;f_Streptomyetaceae;Other	0.0%
k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Actinomycetales;f_Streptomyetaceae;g_	0.0%
k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Actinomycetales;f_Streptomyetaceae;g_Streptomyces	0.0%
k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Actinomycetales;f_Tsukamurellaceae;g_Tsukamurella	0.0%
k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Bifidobacteriales;f_Bifidobacteriaceae;Other	0.0%
k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Bifidobacteriales;f_Bifidobacteriaceae;g_	0.0%
k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Bifidobacteriales;f_Bifidobacteriaceae;g_Alloscardovia	0.0%
k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Bifidobacteriales;f_Bifidobacteriaceae;g_Bifidobacterium	0.2%
k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Bifidobacteriales;f_Bifidobacteriaceae;g_Gardnerella	0.0%
k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Bifidobacteriales;f_Bifidobacteriaceae;g_Scardovia	0.0%
k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Coriobacteriales;f_Coriobacteriaceae;Other	0.0%

Şekil 4.8. (Devam) Cins seviyesinde oluşturulmuş OTU tablosuna ait renk kodları ve örnek bazında oranları. Hasta grubuna ait örnekler ABAL1-30,35 olarak gösterilmiştir. ABAL31-34 arasındaki örnekler çalışma dışı bırakıldığı için çalışmamızda değerlendirdiğimiz hasta grubundaki 31 numaralı örneğimiz ABAL35 olarak isimlendirilmiştir. Kontrol grubuna ait örnekler ise ABALK14-26 olarak gösterilmiştir, örnekler sırasıyla kontrol grubuna ait 1–13 arasındaki örneklerdir.

k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Coriobacteriia;o_Coriobacteriales;f_Coriobacteriaceae;g_	0.1%
k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Coriobacteriia;o_Coriobacteriales;f_Coriobacteriaceae;g_Adlercreutzia	0.0%
k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Coriobacteriia;o_Coriobacteriales;f_Coriobacteriaceae;g_Attopobium	0.2%
k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Coriobacteriia;o_Coriobacteriales;f_Coriobacteriaceae;g_Collinsella	0.1%
k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Coriobacteriia;o_Coriobacteriales;f_Coriobacteriaceae;g_Eggerthella	0.0%
k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Coriobacteriia;o_Coriobacteriales;f_Coriobacteriaceae;g_Slackia	0.0%
k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_MB-A2-108;o_0319-7L14;f_g_	0.0%
k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Rubrobacteria;o_Rubrobacterales;f_Rubrobacteraceae;g_Rubrobacter	0.0%
k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Thermoleophila;o_Gaiellales;f_g_	0.0%
k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Thermoleophila;o_Gaiellales;f_Gaiellaceae;g_	0.0%
k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Thermoleophila;o_Solirubrobacterales;f_g_	0.0%
k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Thermoleophila;o_Solirubrobacterales;f_Conexibacteraceae;Other	0.0%
k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Thermoleophila;o_Solirubrobacterales;f_Conexibacteraceae;g_	0.0%
k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Thermoleophila;o_Solirubrobacterales;f_Patulibacteraceae;g_	0.0%
k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Thermoleophila;o_Solirubrobacterales;f_Solirubrobacteraceae;g_	0.0%
k_Bacteria;p_Armatimonadetes;c_0319-6E2;o_f_g_	0.0%
k_Bacteria;p_Armatimonadetes;c_[Fimbrimonadia];o_[Fimbrimonadales];f_[Fimbrimonadaceae];g_Fimbrimonas	0.0%
k_Bacteria;p_Bacteroidetes;Other;Other;Other;Other	0.0%
k_Bacteria;p_Bacteroidetes;c_At12OctB3;o_f_g_	0.0%
k_Bacteria;p_Bacteroidetes;c_Bacteroidia;o_Bacteroidales;Other;Other	0.0%
k_Bacteria;p_Bacteroidetes;c_Bacteroidia;o_Bacteroidales;f_g_	0.2%
k_Bacteria;p_Bacteroidetes;c_Bacteroidia;o_Bacteroidales;f_BA008;g_	0.0%
k_Bacteria;p_Bacteroidetes;c_Bacteroidia;o_Bacteroidales;f_BS11;g_	0.0%
k_Bacteria;p_Bacteroidetes;c_Bacteroidia;o_Bacteroidales;f_Bacteroidaceae;g_	0.0%
k_Bacteria;p_Bacteroidetes;c_Bacteroidia;o_Bacteroidales;f_Bacteroidaceae;g_5-7N15	0.0%
k_Bacteria;p_Bacteroidetes;c_Bacteroidia;o_Bacteroidales;f_Bacteroidaceae;g_BF311	0.0%
k_Bacteria;p_Bacteroidetes;c_Bacteroidia;o_Bacteroidales;f_Bacteroidaceae;g_Bacteroides	2.3%
k_Bacteria;p_Bacteroidetes;c_Bacteroidia;o_Bacteroidales;f_GZKB119;g_	0.0%
k_Bacteria;p_Bacteroidetes;c_Bacteroidia;o_Bacteroidales;f_Marinilabiaceae;g_	0.0%
k_Bacteria;p_Bacteroidetes;c_Bacteroidia;o_Bacteroidales;f_Porphyrimonadaceae;Other	0.0%
k_Bacteria;p_Bacteroidetes;c_Bacteroidia;o_Bacteroidales;f_Porphyrimonadaceae;g_	0.1%
k_Bacteria;p_Bacteroidetes;c_Bacteroidia;o_Bacteroidales;f_Porphyrimonadaceae;g_Dysgonomonas	0.0%
k_Bacteria;p_Bacteroidetes;c_Bacteroidia;o_Bacteroidales;f_Porphyrimonadaceae;g_Paludibacter	0.1%
k_Bacteria;p_Bacteroidetes;c_Bacteroidia;o_Bacteroidales;f_Porphyrimonadaceae;g_Parabacteroides	0.2%
k_Bacteria;p_Bacteroidetes;c_Bacteroidia;o_Bacteroidales;f_Porphyrimonadaceae;g_Porphyrimonas	2.8%
k_Bacteria;p_Bacteroidetes;c_Bacteroidia;o_Bacteroidales;f_Porphyrimonadaceae;g_Tannerella	0.1%
k_Bacteria;p_Bacteroidetes;c_Bacteroidia;o_Bacteroidales;f_Prevotellaceae;g_Prevotella	24.5%
k_Bacteria;p_Bacteroidetes;c_Bacteroidia;o_Bacteroidales;f_RF16;g_	0.0%
k_Bacteria;p_Bacteroidetes;c_Bacteroidia;o_Bacteroidales;f_Rikenellaceae;Other	0.0%
k_Bacteria;p_Bacteroidetes;c_Bacteroidia;o_Bacteroidales;f_Rikenellaceae;g_	0.1%
k_Bacteria;p_Bacteroidetes;c_Bacteroidia;o_Bacteroidales;f_Rikenellaceae;g_Blvii28	0.0%
k_Bacteria;p_Bacteroidetes;c_Bacteroidia;o_Bacteroidales;f_Rikenellaceae;g_Rikenella	0.0%
k_Bacteria;p_Bacteroidetes;c_Bacteroidia;o_Bacteroidales;f_S24-7;g_	0.1%
k_Bacteria;p_Bacteroidetes;c_Bacteroidia;o_Bacteroidales;f_SB-1;g_	0.0%
k_Bacteria;p_Bacteroidetes;c_Bacteroidia;o_Bacteroidales;f_[Barnesiellaceae];Other	0.0%
k_Bacteria;p_Bacteroidetes;c_Bacteroidia;o_Bacteroidales;f_[Barnesiellaceae];g_	0.1%
k_Bacteria;p_Bacteroidetes;c_Bacteroidia;o_Bacteroidales;f_[Odoribacteraceae];g_Butyricimonas	0.0%
k_Bacteria;p_Bacteroidetes;c_Bacteroidia;o_Bacteroidales;f_[Odoribacteraceae];g_Odoribacter	0.1%
k_Bacteria;p_Bacteroidetes;c_Bacteroidia;o_Bacteroidales;f_[Paraprevotellaceae];Other	0.0%
k_Bacteria;p_Bacteroidetes;c_Bacteroidia;o_Bacteroidales;f_[Paraprevotellaceae];g_	0.0%
k_Bacteria;p_Bacteroidetes;c_Bacteroidia;o_Bacteroidales;f_[Paraprevotellaceae];g_CF231	0.0%
k_Bacteria;p_Bacteroidetes;c_Bacteroidia;o_Bacteroidales;f_[Paraprevotellaceae];g_Paraprevotella	0.1%
k_Bacteria;p_Bacteroidetes;c_Bacteroidia;o_Bacteroidales;f_[Paraprevotellaceae];g_YRC22	0.0%
k_Bacteria;p_Bacteroidetes;c_Bacteroidia;o_Bacteroidales;f_[Paraprevotellaceae];g_[Prevotella]	2.8%
k_Bacteria;p_Bacteroidetes;c_Bacteroidia;o_Bacteroidales;f_p-2534-18B5;g_	0.0%
k_Bacteria;p_Bacteroidetes;c_Bacteroidia;o_Bacteroidales;f_p-2534-18B5;g_BE24	0.0%
k_Bacteria;p_Bacteroidetes;c_Cytophagia;o_Cytophagales;f_Cytophagaceae;g_	0.0%
k_Bacteria;p_Bacteroidetes;c_Cytophagia;o_Cytophagales;f_Cytophagaceae;g_Adhaeribacter	0.0%
k_Bacteria;p_Bacteroidetes;c_Cytophagia;o_Cytophagales;f_Cytophagaceae;g_Dyadobacter	0.0%
k_Bacteria;p_Bacteroidetes;c_Cytophagia;o_Cytophagales;f_Cytophagaceae;g_Flectobacillus	0.0%

Şekil 4.8. (Devam) Cins seviyesinde oluşturulmuş OTU tablosuna ait renk kodları ve örnek bazında oranları. Hasta grubuna ait örnekler ABAL1-30,35 olarak gösterilmiştir. ABAL31-34 arasındaki örnekler çalışma dışı bırakıldığı için çalışmamızda değerlendirdiğimiz hasta grubundaki 31 numaralı örneğimiz ABAL35 olarak isimlendirilmiştir. Kontrol grubuna ait örnekler ise ABALK14-26 olarak gösterilmiştir, örnekler sırasıyla kontrol grubuna ait 1–13 arasındaki örneklerdir.

k_Bacteria;p_Bacteroidetes;c_Cytophagia;o_Cytophagales;f_Cytophagaceae;g_Hymenobacter	0.0%
k_Bacteria;p_Bacteroidetes;c_Cytophagia;o_Cytophagales;f_Cytophagaceae;g_Leadbetterella	0.0%
k_Bacteria;p_Bacteroidetes;c_Cytophagia;o_Cytophagales;f_Cytophagaceae;g_Sporocytophaga	0.0%
k_Bacteria;p_Bacteroidetes;c_Cytophagia;o_Cytophagales;f_Flammeovirgaceae;g_	0.0%
k_Bacteria;p_Bacteroidetes;c_Flavobacteriia;o_Flavobacteriales;f_g_	0.0%
k_Bacteria;p_Bacteroidetes;c_Flavobacteriia;o_Flavobacteriales;f_Cryomorphaceae;Other	0.0%
k_Bacteria;p_Bacteroidetes;c_Flavobacteriia;o_Flavobacteriales;f_Cryomorphaceae;g_	0.0%
k_Bacteria;p_Bacteroidetes;c_Flavobacteriia;o_Flavobacteriales;f_Cryomorphaceae;g_Brumimicrobium	0.0%
k_Bacteria;p_Bacteroidetes;c_Flavobacteriia;o_Flavobacteriales;f_Flavobacteriaceae;g_	0.0%
k_Bacteria;p_Bacteroidetes;c_Flavobacteriia;o_Flavobacteriales;f_Flavobacteriaceae;g_Aequorivita	0.0%
k_Bacteria;p_Bacteroidetes;c_Flavobacteriia;o_Flavobacteriales;f_Flavobacteriaceae;g_Capnocytophaga	0.8%
k_Bacteria;p_Bacteroidetes;c_Flavobacteriia;o_Flavobacteriales;f_Flavobacteriaceae;g_Flavobacterium	0.0%
k_Bacteria;p_Bacteroidetes;c_Flavobacteriia;o_Flavobacteriales;f_Flavobacteriaceae;g_Gelidibacter	0.0%
k_Bacteria;p_Bacteroidetes;c_Flavobacteriia;o_Flavobacteriales;f_Flavobacteriaceae;g_Myroides	0.0%
k_Bacteria;p_Bacteroidetes;c_Flavobacteriia;o_Flavobacteriales;f_Flavobacteriaceae;g_Polaribacter	0.0%
k_Bacteria;p_Bacteroidetes;c_Flavobacteriia;o_Flavobacteriales;f_Flavobacteriaceae;g_Tenacibaculum	0.0%
k_Bacteria;p_Bacteroidetes;c_Flavobacteriia;o_Flavobacteriales;f_Weeksellaceae;g_	0.1%
k_Bacteria;p_Bacteroidetes;c_Flavobacteriia;o_Flavobacteriales;f_Weeksellaceae;g_Chryseobacterium	0.0%
k_Bacteria;p_Bacteroidetes;c_Flavobacteriia;o_Flavobacteriales;f_Weeksellaceae;g_Cloacibacterium	0.0%
k_Bacteria;p_Bacteroidetes;c_Flavobacteriia;o_Flavobacteriales;f_Weeksellaceae;g_Elizabethingia	0.0%
k_Bacteria;p_Bacteroidetes;c_Flavobacteriia;o_Flavobacteriales;f_Weeksellaceae;g_Ornithobacterium	0.0%
k_Bacteria;p_Bacteroidetes;c_Flavobacteriia;o_Flavobacteriales;f_Weeksellaceae;g_Wautersiella	0.0%
k_Bacteria;p_Bacteroidetes;c_Sphingobacteriia;o_Sphingobacteriales;f_g_	0.0%
k_Bacteria;p_Bacteroidetes;c_Sphingobacteriia;o_Sphingobacteriales;f_Sphingobacteriaceae;Other	0.0%
k_Bacteria;p_Bacteroidetes;c_Sphingobacteriia;o_Sphingobacteriales;f_Sphingobacteriaceae;g_	0.0%
k_Bacteria;p_Bacteroidetes;c_Sphingobacteriia;o_Sphingobacteriales;f_Sphingobacteriaceae;g_Olivibacter	0.0%
k_Bacteria;p_Bacteroidetes;c_Sphingobacteriia;o_Sphingobacteriales;f_Sphingobacteriaceae;g_Pedobacter	0.0%
k_Bacteria;p_Bacteroidetes;c_Sphingobacteriia;o_Sphingobacteriales;f_Sphingobacteriaceae;g_Sphingobacterium	0.0%
k_Bacteria;p_Bacteroidetes;c_Rhodothermii;o_Rhodothermales;f_Rhodothermaceae;g_Salinibacter	0.0%
k_Bacteria;p_Bacteroidetes;c_Rhodothermii;o_Rhodothermales;f_Balneolaceae;g_Balneola	0.0%
k_Bacteria;p_Bacteroidetes;c_Saprospirae;o_Saprospirales;f_g_	0.0%
k_Bacteria;p_Bacteroidetes;c_Saprospirae;o_Saprospirales;f_Chitinophagaceae;g_	0.0%
k_Bacteria;p_Bacteroidetes;c_Saprospirae;o_Saprospirales;f_Chitinophagaceae;g_Chitinophaga	0.0%
k_Bacteria;p_Bacteroidetes;c_Saprospirae;o_Saprospirales;f_Chitinophagaceae;g_Flavisolibacter	0.0%
k_Bacteria;p_Bacteroidetes;c_Saprospirae;o_Saprospirales;f_Chitinophagaceae;g_Niabella	0.0%
k_Bacteria;p_Bacteroidetes;c_Saprospirae;o_Saprospirales;f_Chitinophagaceae;g_Sediminibacterium	0.0%
k_Bacteria;p_Bacteroidetes;c_Saprospirae;o_Saprospirales;f_Chitinophagaceae;g_Segetiibacter	0.0%
k_Bacteria;p_Bacteroidetes;c_Saprospirae;o_Saprospirales;f_Saprospiraceae;g_	0.0%
k_Bacteria;p_Chlamydiae;c_Chlamydia;o_Chlamydiales;f_g_	0.0%
k_Bacteria;p_Chlamydiae;c_Chlamydia;o_Chlamydiales;f_g_	0.0%
k_Bacteria;p_Chlamydiae;c_Chlamydia;o_Chlamydiales;f_Parachlamydiaceae;Other	0.0%
k_Bacteria;p_Chlamydiae;c_Chlamydia;o_Chlamydiales;f_Parachlamydiaceae;g_	0.0%
k_Bacteria;p_Chlamydiae;c_Chlamydia;o_Chlamydiales;f_Parachlamydiaceae;g_Candidatus Protochlamydia	0.0%
k_Bacteria;p_Chlamydiae;c_Chlamydia;o_Chlamydiales;f_Waddliaceae;Other	0.0%
k_Bacteria;p_Chlorobi;c_Chlorobia;o_Chlorobiales;f_Chlorobiaceae;Other	0.0%
k_Bacteria;p_Chlorobi;c_Ignavibacteria;o_Ignavibacteriales;f_Ignavibacteriaceae;g_	0.0%
k_Bacteria;p_Chlorobi;c_Ignavibacteria;o_Ignavibacteriales;f_IheB3-7;g_	0.0%
k_Bacteria;p_Chlorobi;c_OPB56;o_f_g_	0.0%
k_Bacteria;p_Chlorobi;c_SJA-28;o_f_g_	0.0%
k_Bacteria;p_Chloroflexi;c_Anaerolineae;o_f_g_	0.0%
k_Bacteria;p_Chloroflexi;c_Anaerolineae;o_Anaerolineales;f_Anaerolinaceae;Other	0.0%
k_Bacteria;p_Chloroflexi;c_Anaerolineae;o_Anaerolineales;f_Anaerolinaceae;g_	0.0%
k_Bacteria;p_Chloroflexi;c_Anaerolineae;o_Anaerolineales;f_Anaerolinaceae;g_Anaerolinea	0.0%
k_Bacteria;p_Chloroflexi;c_Anaerolineae;o_Anaerolineales;f_Anaerolinaceae;g_SHD-231	0.0%
k_Bacteria;p_Chloroflexi;c_Anaerolineae;o_Anaerolineales;f_Anaerolinaceae;g_T78	0.0%
k_Bacteria;p_Chloroflexi;c_Anaerolineae;o_CFB-26;f_g_	0.0%
k_Bacteria;p_Chloroflexi;c_Anaerolineae;o_Caldilineales;f_Caldilineaceae;g_	0.0%
k_Bacteria;p_Chloroflexi;c_Anaerolineae;o_Caldilineales;f_Caldilineaceae;g_Caldilinea	0.0%
k_Bacteria;p_Chloroflexi;c_Anaerolineae;o_DRC31;f_g_	0.0%

Şekil 4.8. (Devam) Cins seviyesinde oluşturulmuş OTU tablosuna ait renk kodları ve örnek bazında oranları. Hasta grubuna ait örnekler ABAL1-30,35 olarak gösterilmiştir. ABAL31-34 arasındaki örnekler çalışma dışı bırakıldığı için çalışmamızda değerlendirdiğimiz hasta grubundaki 31 numaralı örneğimiz ABAL35 olarak isimlendirilmiştir. Kontrol grubuna ait örnekler ise ABALK14-26 olarak gösterilmiştir, örnekler sırasıyla kontrol grubuna ait 1-13 arasındaki örneklerdir.

k_Bacteria;p_Chloroflexi;c_Anaerolineae;o_SBR1031;f_A4b;g_	0.0%
k_Bacteria;p_Chloroflexi;c_Anaerolineae;o_SBR1031;f_SHA-31;g_	0.0%
k_Bacteria;p_Chloroflexi;c_Anaerolineae;o_SBR1031;f_SJA-101;g_	0.0%
k_Bacteria;p_Chloroflexi;c_Anaerolineae;o_SHA-20;f_;g_	0.0%
k_Bacteria;p_Chloroflexi;c_Anaerolineae;o_SJA-15;f_;g_	0.0%
k_Bacteria;p_Chloroflexi;c_Chloroflexi;o_AKIW781;f_;g_	0.0%
k_Bacteria;p_Chloroflexi;c_Chloroflexi;o_[Roseiflexales];f_[Kouleothrixaceae];g_	0.0%
k_Bacteria;p_Chloroflexi;c_Chloroflexi;o_[Roseiflexales];f_[Kouleothrixaceae];g_Kouleothrix	0.0%
k_Bacteria;p_Chloroflexi;c_Ellin6529;o_;f_;g_	0.0%
k_Bacteria;p_Chloroflexi;c_S085;o_;f_;g_	0.0%
k_Bacteria;p_Chloroflexi;c_TK17;o_mle1-48;f_;g_	0.0%
k_Bacteria;p_Chloroflexi;c_Thermomicrobia;Other;Other;Other	0.0%
k_Bacteria;p_Chloroflexi;c_Thermomicrobia;o_AKYG1722;f_;g_	0.0%
k_Bacteria;p_Chloroflexi;c_Thermomicrobia;o_JG30-KF-CM45;f_;g_	0.0%
k_Bacteria;p_Chloroflexi;c_Thermomicrobia;o_Sphaerobacterales;f_;g_	0.0%
k_Bacteria;p_Cyanobacteria;c_;o_;f_;g_	0.0%
k_Bacteria;p_Cyanobacteria;c_4C0d-2;o_MLE1-12;f_;g_	0.0%
k_Bacteria;p_Cyanobacteria;c_4C0d-2;o_YS2;f_;g_	0.1%
k_Bacteria;p_Cyanobacteria;c_Chloroplast;o_;f_;g_	0.0%
k_Bacteria;p_Cyanobacteria;c_Chloroplast;o_Chlorophyta;f_Chlamydomonadaceae;Other	0.0%
k_Bacteria;p_Cyanobacteria;c_Chloroplast;o_Cryptophyta;f_;g_	0.0%
k_Bacteria;p_Cyanobacteria;c_Chloroplast;o_Haptophyceae;f_;g_	0.0%
k_Bacteria;p_Cyanobacteria;c_Chloroplast;o_Stramenopiles;f_;g_	0.0%
k_Bacteria;p_Cyanobacteria;c_Chloroplast;o_Streptophyta;f_;g_	0.0%
k_Bacteria;p_Cyanobacteria;c_Nostocophycidae;o_Nostocales;f_;g_	0.0%
k_Bacteria;p_Cyanobacteria;c_Nostocophycidae;o_Nostocales;f_Nostocaceae;g_	0.0%
k_Bacteria;p_Cyanobacteria;c_Nostocophycidae;o_Nostocales;f_Nostocaceae;g_Dolichospermum	0.0%
k_Bacteria;p_Cyanobacteria;c_Oscillatoriohaptophyceae;o_Chroococcales;f_;g_	0.0%
k_Bacteria;p_Cyanobacteria;c_Oscillatoriohaptophyceae;o_Chroococcales;f_Cyanobacteriaceae;g_Cyanobacterium	0.0%
k_Bacteria;p_Cyanobacteria;c_Oscillatoriohaptophyceae;o_Chroococcales;f_Gomphosphaeriaceae;g_	0.0%
k_Bacteria;p_Cyanobacteria;c_Oscillatoriohaptophyceae;o_Chroococcales;f_Microcystaceae;g_Microcystis	0.0%
k_Bacteria;p_Cyanobacteria;c_Oscillatoriohaptophyceae;o_Chroococcales;f_Xenococcaceae;g_	0.0%
k_Bacteria;p_Cyanobacteria;c_Synechococcophycidae;o_Pseudanabaenales;f_;g_	0.0%
k_Bacteria;p_Cyanobacteria;c_Synechococcophycidae;o_Pseudanabaenales;f_Pseudanabaenaceae;g_Leptolyngbya	0.0%
k_Bacteria;p_Cyanobacteria;c_Synechococcophycidae;o_Synechococcales;f_Synechococcaceae;g_Synechococcus	0.0%
k_Bacteria;p_Deferribacteres;c_Deferribacteres;o_Deferribacterales;f_Deferribacteraceae;g_Geovibrio	0.0%
k_Bacteria;p_Deferribacteres;c_Deferribacteres;o_Deferribacterales;f_Deferribacteraceae;g_Mucispirillum	0.0%
k_Bacteria;p_Elusimicrobia;c_Elusimicrobia;o_Elusimicrobiales;f_;g_	0.0%
k_Bacteria;p_Elusimicrobia;c_Elusimicrobia;o_Elusimicrobiales;f_Elusimicrobiaceae;g_	0.0%
k_Bacteria;p_FBP;c_;o_;f_;g_	0.0%
k_Bacteria;p_Fibrobacteres;c_Fibrobacteria;o_Fibrobacterales;f_Fibrobacteraceae;g_Fibrobacter	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;Other;Other;Other;Other	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Bacilli;Other;Other;Other	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Bacilli;o_Bacillales;Other;Other	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Bacilli;o_Bacillales;f_;g_	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Bacilli;o_Bacillales;f_Alicyclobacillaceae;g_Alicyclobacillus	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Bacilli;o_Bacillales;f_Bacillaceae;Other	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Bacilli;o_Bacillales;f_Bacillaceae;g_	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Bacilli;o_Bacillales;f_Bacillaceae;g_Anaerobacillus	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Bacilli;o_Bacillales;f_Bacillaceae;g_Anoxybacillus	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Bacilli;o_Bacillales;f_Bacillaceae;g_Bacillus	0.8%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Bacilli;o_Bacillales;f_Bacillaceae;g_Geobacillus	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Bacilli;o_Bacillales;f_Bacillaceae;g_Marinibacillus	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Bacilli;o_Bacillales;f_Bacillaceae;g_Marinococcus	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Bacilli;o_Bacillales;f_Bacillaceae;g_Virgibacillus	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Bacilli;o_Bacillales;f_Listeriaceae;Other	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Bacilli;o_Bacillales;f_Listeriaceae;g_Listeria	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Bacilli;o_Bacillales;f_Paenibacillaceae;g_	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Bacilli;o_Bacillales;f_Paenibacillaceae;g_Ammoniphilus	0.0%

Şekil 4.8. (Devam) Cins seviyesinde oluşturulmuş OTU tablosuna ait renk kodları ve örnek bazında oranları. Hasta grubuna ait örnekler ABAL1-30,35 olarak gösterilmiştir. ABAL31-34 arasındaki örnekler çalışma dışı bırakıldığı için çalışmamızda değerlendirdiğimiz hasta grubundaki 31 numaralı örneğimiz ABAL35 olarak isimlendirilmiştir. Kontrol grubuna ait örnekler ise ABALK14-26 olarak gösterilmiştir, örnekler sırasıyla kontrol grubuna ait 1–13 arasındaki örneklerdir.

k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Bacilli;o_Bacillales;f_Paenibacillaceae;g_Brevibacillus	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Bacilli;o_Bacillales;f_Paenibacillaceae;g_Paenibacillus	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Bacilli;o_Bacillales;f_Planococcaceae;g_Other	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Bacilli;o_Bacillales;f_Planococcaceae;g_	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Bacilli;o_Bacillales;f_Planococcaceae;g_Lysinibacillus	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Bacilli;o_Bacillales;f_Planococcaceae;g_Paenisporosarcina	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Bacilli;o_Bacillales;f_Planococcaceae;g_Planomicrobium	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Bacilli;o_Bacillales;f_Planococcaceae;g_Rummeliibacillus	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Bacilli;o_Bacillales;f_Planococcaceae;g_Solibacillus	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Bacilli;o_Bacillales;f_Planococcaceae;g_Sporosarcina	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Bacilli;o_Bacillales;f_Sporolactobacillaceae;g_Sporolactobacillus	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Bacilli;o_Bacillales;f_Staphylococcaceae;g_Other	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Bacilli;o_Bacillales;f_Staphylococcaceae;g_Jeotgalicoccus	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Bacilli;o_Bacillales;f_Staphylococcaceae;g_Macrococcus	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Bacilli;o_Bacillales;f_Staphylococcaceae;g_Salinicoccus	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Bacilli;o_Bacillales;f_Staphylococcaceae;g_Staphylococcus	0.2%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Bacilli;o_Bacillales;f_Thermoactinomycetaceae;g_	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Bacilli;o_Bacillales;f_Thermoactinomycetaceae;g_Laceyella	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Bacilli;o_Bacillales;f_[Exiguobacteraceae];g_	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Bacilli;o_Bacillales;f_[Exiguobacteraceae];g_Exiguobacterium	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Bacilli;o_Gemellales;Other;Other	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Bacilli;o_Gemellales;f_;	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Bacilli;o_Gemellales;f_Gemellaceae;Other	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Bacilli;o_Gemellales;f_Gemellaceae;g_	0.3%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Bacilli;o_Gemellales;f_Gemellaceae;g_Gemella	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Bacilli;o_Haloplasmatales;f_Haloplasmataceae;g_	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Bacilli;o_Lactobacillales;Other;Other	0.3%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Bacilli;o_Lactobacillales;f_;	0.2%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Bacilli;o_Lactobacillales;f_Aerococcaceae;Other	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Bacilli;o_Lactobacillales;f_Aerococcaceae;g_	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Bacilli;o_Lactobacillales;f_Aerococcaceae;g_Aerococcus	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Bacilli;o_Lactobacillales;f_Aerococcaceae;g_Alloioicoccus	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Bacilli;o_Lactobacillales;f_Aerococcaceae;g_Facklamia	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Bacilli;o_Lactobacillales;f_Aerococcaceae;g_Marinilactibacillus	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Bacilli;o_Lactobacillales;f_Carnobacteriaceae;Other	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Bacilli;o_Lactobacillales;f_Carnobacteriaceae;g_	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Bacilli;o_Lactobacillales;f_Carnobacteriaceae;g_Carnobacterium	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Bacilli;o_Lactobacillales;f_Carnobacteriaceae;g_Desemzia	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Bacilli;o_Lactobacillales;f_Carnobacteriaceae;g_Granulicatella	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Bacilli;o_Lactobacillales;f_Carnobacteriaceae;g_Trichococcus	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Bacilli;o_Lactobacillales;f_Enterococcaceae;Other	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Bacilli;o_Lactobacillales;f_Enterococcaceae;g_	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Bacilli;o_Lactobacillales;f_Enterococcaceae;g_Enterococcus	0.1%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Bacilli;o_Lactobacillales;f_Enterococcaceae;g_Vagococcus	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Bacilli;o_Lactobacillales;f_Lactobacillaceae;Other	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Bacilli;o_Lactobacillales;f_Lactobacillaceae;g_	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Bacilli;o_Lactobacillales;f_Lactobacillaceae;g_Lactobacillus	4.8%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Bacilli;o_Lactobacillales;f_Lactobacillaceae;g_Pediococcus	0.3%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Bacilli;o_Lactobacillales;f_Leuconostocaceae;Other	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Bacilli;o_Lactobacillales;f_Leuconostocaceae;g_	0.1%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Bacilli;o_Lactobacillales;f_Leuconostocaceae;g_Fructobacillus	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Bacilli;o_Lactobacillales;f_Leuconostocaceae;g_Leuconostoc	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Bacilli;o_Lactobacillales;f_Leuconostocaceae;g_Weissella	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Bacilli;o_Lactobacillales;f_Streptococcaceae;Other	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Bacilli;o_Lactobacillales;f_Streptococcaceae;g_	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Bacilli;o_Lactobacillales;f_Streptococcaceae;g_Lactococcus	0.3%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Bacilli;o_Lactobacillales;f_Streptococcaceae;g_Streptococcus	4.1%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Bacilli;o_Turicibacteriales;f_Turicibacteraceae;g_Turicibacter	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia;Other;Other;Other	0.0%

Şekil 4.8. (Devam) Cins seviyesinde oluşturulmuş OTU tablosuna ait renk kodları ve örnek bazında oranları. Hasta grubuna ait örnekler ABAL1-30,35 olarak gösterilmiştir. ABAL31-34 arasındaki örnekler çalışma dışı bırakıldığı için çalışmamızda değerlendirdiğimiz hasta grubundaki 31 numaralı örneğimiz ABAL35 olarak isimlendirilmiştir. Kontrol grubuna ait örnekler ise ABALK14-26 olarak gösterilmiştir, örnekler sırasıyla kontrol grubuna ait 1–13 arasındaki örneklerdir.

k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia;o_f_g	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia;o_BSA2B-08;f_g	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia;o_Clostridiales;Other:Other	0.1%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia;o_Clostridiales;f_g	0.8%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia;o_Clostridiales;f_Caldicoprobacteraceae;g_Caldicoprobacter	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia;o_Clostridiales;f_Christensenellaceae;g	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia;o_Clostridiales;f_Clostridiaceae;Other	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia;o_Clostridiales;f_Clostridiaceae;g	0.1%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia;o_Clostridiales;f_Clostridiaceae;g_02d06	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia;o_Clostridiales;f_Clostridiaceae;g_Alkaliphilus	0.2%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia;o_Clostridiales;f_Clostridiaceae;g_Caloramator	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia;o_Clostridiales;f_Clostridiaceae;g_Clostridium	0.2%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia;o_Clostridiales;f_Clostridiaceae;g_Geoporaobacter_Thermotalea	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia;o_Clostridiales;f_Clostridiaceae;g_Natronincola_Anaerovirgula	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia;o_Clostridiales;f_Clostridiaceae;g_Oxobacter	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia;o_Clostridiales;f_Clostridiaceae;g_Proteinoclasticum	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia;o_Clostridiales;f_Clostridiaceae;g_SMB53	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia;o_Clostridiales;f_Dehalobacteriaceae;g	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia;o_Clostridiales;f_Dehalobacteriaceae;g_Dehalobacterium	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia;o_Clostridiales;f_Eubacteriaceae;g_Garciella	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia;o_Clostridiales;f_Eubacteriaceae;g_Pseudoramibacter_Eubacterium	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia;o_Clostridiales;f_Gracilbacteriaceae;g	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia;o_Clostridiales;f_Gracilbacteriaceae;g_Gracilbacter	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia;o_Clostridiales;f_Gracilbacteriaceae;g_Lutispora	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia;o_Clostridiales;f_Lachnospiraceae;Other	0.2%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia;o_Clostridiales;f_Lachnospiraceae;g	1.1%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia;o_Clostridiales;f_Lachnospiraceae;g_Anaerostipes	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia;o_Clostridiales;f_Lachnospiraceae;g_Blautia	0.3%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia;o_Clostridiales;f_Lachnospiraceae;g_Butyrvibrio	0.2%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia;o_Clostridiales;f_Lachnospiraceae;g_Catonella	0.1%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia;o_Clostridiales;f_Lachnospiraceae;g_Coprococcus	0.2%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia;o_Clostridiales;f_Lachnospiraceae;g_Dorea	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia;o_Clostridiales;f_Lachnospiraceae;g_Epulisplacium	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia;o_Clostridiales;f_Lachnospiraceae;g_Lachnobacterium	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia;o_Clostridiales;f_Lachnospiraceae;g_Lachnospira	0.2%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia;o_Clostridiales;f_Lachnospiraceae;g_Moryella	0.1%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia;o_Clostridiales;f_Lachnospiraceae;g_Oribacterium	0.3%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia;o_Clostridiales;f_Lachnospiraceae;g_Roseburia	0.2%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia;o_Clostridiales;f_Lachnospiraceae;g_Shuttleworthia	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia;o_Clostridiales;f_Lachnospiraceae;g_Ruminococcus	0.1%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia;o_Clostridiales;f_Peptococcaceae;g	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia;o_Clostridiales;f_Peptococcaceae;g_Desulfotobacter	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia;o_Clostridiales;f_Peptococcaceae;g_Desulfosporosinus	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia;o_Clostridiales;f_Peptococcaceae;g_Pelotomaculum	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia;o_Clostridiales;f_Peptococcaceae;g_Peptococcus	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia;o_Clostridiales;f_Peptococcaceae;g_rc4-4	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia;o_Clostridiales;f_Peptostreptococcaceae;g	0.1%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia;o_Clostridiales;f_Peptostreptococcaceae;g_Filifactor	0.1%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia;o_Clostridiales;f_Peptostreptococcaceae;g_Peptostreptococcus	0.1%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia;o_Clostridiales;f_Peptostreptococcaceae;g_Tepidibacter	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia;o_Clostridiales;f_Ruminococcaceae;Other	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia;o_Clostridiales;f_Ruminococcaceae;g	1.2%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia;o_Clostridiales;f_Ruminococcaceae;g_Anaerofilum	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia;o_Clostridiales;f_Ruminococcaceae;g_Anaerotruncus	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia;o_Clostridiales;f_Ruminococcaceae;g_Butyricicoccus	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia;o_Clostridiales;f_Ruminococcaceae;g_Ethanoligenens	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia;o_Clostridiales;f_Ruminococcaceae;g_Faecalibacterium	1.3%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia;o_Clostridiales;f_Ruminococcaceae;g_Oscillospira	0.2%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia;o_Clostridiales;f_Ruminococcaceae;g_Ruminococcus	0.4%

Şekil 4.8. (Devam) Cins seviyesinde oluşturulmuş OTU tablosuna ait renk kodları ve örnek bazında oranları. Hasta grubuna ait örnekler ABAL1-30,35 olarak gösterilmiştir. ABAL31-34 arasındaki örnekler çalışma dışı bırakıldığı için çalışmamızda değerlendirdiğimiz hasta grubundaki 31 numaralı örneğimiz ABAL35 olarak isimlendirilmiştir. Kontrol grubuna ait örnekler ise ABALK14-26 olarak gösterilmiştir, örnekler sırasıyla kontrol grubuna ait 1–13 arasındaki örneklerdir.

k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia;o_Clostridiales;f_Sulfobacillaceae;g_Sulfobacillus	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia;o_Clostridiales;f_Symbiobacteriaceae;g_Symbiobacterium	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia;o_Clostridiales;f_Syntrophomonadaceae;g_Syntrophomonas	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia;o_Clostridiales;f_Veillonellaceae;g_Other	0.1%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia;o_Clostridiales;f_Veillonellaceae;g_	0.3%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia;o_Clostridiales;f_Veillonellaceae;g_Acidaminococcus	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia;o_Clostridiales;f_Veillonellaceae;g_Anaerovibrio	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia;o_Clostridiales;f_Veillonellaceae;g_BSV43	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia;o_Clostridiales;f_Veillonellaceae;g_Dialister	0.4%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia;o_Clostridiales;f_Veillonellaceae;g_G07	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia;o_Clostridiales;f_Veillonellaceae;g_Megamonas	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia;o_Clostridiales;f_Veillonellaceae;g_Megasphaera	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia;o_Clostridiales;f_Veillonellaceae;g_Mitsuokella	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia;o_Clostridiales;f_Veillonellaceae;g_Pelosinus	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia;o_Clostridiales;f_Veillonellaceae;g_Phascocarctobacterium	0.3%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia;o_Clostridiales;f_Veillonellaceae;g_Schwartzia	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia;o_Clostridiales;f_Veillonellaceae;g_Selenomonas	3.1%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia;o_Clostridiales;f_Veillonellaceae;g_Succinilasticum	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia;o_Clostridiales;f_Veillonellaceae;g_Veillonella	9.7%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia;o_Clostridiales;f_Mogibacteriaceae;g_Other	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia;o_Clostridiales;f_Mogibacteriaceae;g_	0.1%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia;o_Clostridiales;f_Mogibacteriaceae;g_Anaerovorax	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia;o_Clostridiales;f_Mogibacteriaceae;g_Mogibacterium	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia;o_Clostridiales;f_Tissierellaceae;g_Other	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia;o_Clostridiales;f_Tissierellaceae;g_	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia;o_Clostridiales;f_Tissierellaceae;g_1-68	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia;o_Clostridiales;f_Tissierellaceae;g_Anaerococcus	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia;o_Clostridiales;f_Tissierellaceae;g_Finegoldia	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia;o_Clostridiales;f_Tissierellaceae;g_GW-34	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia;o_Clostridiales;f_Tissierellaceae;g_Gallicola	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia;o_Clostridiales;f_Tissierellaceae;g_Helcococcus	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia;o_Clostridiales;f_Tissierellaceae;g_Parvimonas	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia;o_Clostridiales;f_Tissierellaceae;g_Peptoniphilus	0.1%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia;o_Clostridiales;f_Tissierellaceae;g_Sedimentibacter	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia;o_Clostridiales;f_Tissierellaceae;g_Sporanaerobacter	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia;o_Clostridiales;f_Tissierellaceae;g_Tepidimicrobium	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia;o_Clostridiales;f_Tissierellaceae;g_Tissierella_Soehngenii	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia;o_Clostridiales;f_Tissierellaceae;g_WAL_1855D	0.1%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia;o_Clostridiales;f_Tissierellaceae;g_ph2	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia;o_Halanaerobiales;f_g_	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia;o_Halanaerobiales;f_Halanaerobiaceae;g_	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia;o_MBA08;f_g_	0.2%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia;o_Natranaerobiales;g_Other	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia;o_Natranaerobiales;f_Anaerobranchaceae;g_Dethiobacter	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia;o_Natranaerobiales;f_ML1228J-1;g_	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia;o_OPB54;f_g_	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia;o_SHA-98;f_g_	0.2%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia;o_SHA-98;f_D2;g_	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia;o_Thermoanaerobacterales;f_g_	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia;o_Thermoanaerobacterales;f_Thermoanaerobacteraceae;g_	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia;o_Thermoanaerobacterales;f_Thermoanaerobacteraceae;g_Thermacetogenium	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Erysipelotrichi;o_Erysipelotrichales;f_Erysipelotrichaceae;g_Other	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Erysipelotrichi;o_Erysipelotrichales;f_Erysipelotrichaceae;g_	0.1%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Erysipelotrichi;o_Erysipelotrichales;f_Erysipelotrichaceae;g_Allobaculum	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Erysipelotrichi;o_Erysipelotrichales;f_Erysipelotrichaceae;g_Bulleidia	0.2%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Erysipelotrichi;o_Erysipelotrichales;f_Erysipelotrichaceae;g_Catenibacterium	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Erysipelotrichi;o_Erysipelotrichales;f_Erysipelotrichaceae;g_Clostridium	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Erysipelotrichi;o_Erysipelotrichales;f_Erysipelotrichaceae;g_Coprobaecillus	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Erysipelotrichi;o_Erysipelotrichales;f_Erysipelotrichaceae;g_Holdemania	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Erysipelotrichi;o_Erysipelotrichales;f_Erysipelotrichaceae;g_PSB-M-3	0.0%

Şekil 4.8. (Devam) Cins seviyesinde oluşturulmuş OTU tablosuna ait renk kodları ve örnek bazında oranları. Hasta grubuna ait örnekler ABAL1-30,35 olarak gösterilmiştir. ABAL31-34 arasındaki örnekler çalışma dışı bırakıldığı için çalışmamızda değerlendirdiğimiz hasta grubundaki 31 numaralı örneğimiz ABAL35 olarak isimlendirilmiştir. Kontrol grubuna ait örnekler ise ABALK14-26 olarak gösterilmiştir, örnekler sırasıyla kontrol grubuna ait 1–13 arasındaki örneklerdir.

k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Erysipelotrichi;o_Erysipelotrichales;f_Erysipelotrichaceae;g_RFN20	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Erysipelotrichi;o_Erysipelotrichales;f_Erysipelotrichaceae;g_Sharpea	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Erysipelotrichi;o_Erysipelotrichales;f_Erysipelotrichaceae;g_Eubacterium	0.1%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Erysipelotrichi;o_Erysipelotrichales;f_Erysipelotrichaceae;g_cc_115	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Erysipelotrichi;o_Erysipelotrichales;f_Erysipelotrichaceae;g_p-75-a5	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_OPB54;o_f_g	0.0%
k_Bacteria;p_Fusobacteria;c_Fusobacteriia;o_Fusobacteriales;f_Fusobacteriaceae;g_Fusobacterium	2.0%
k_Bacteria;p_Fusobacteria;c_Fusobacteriia;o_Fusobacteriales;f_Leptotrichiaceae;Other	0.0%
k_Bacteria;p_Fusobacteria;c_Fusobacteriia;o_Fusobacteriales;f_Leptotrichiaceae;g	0.1%
k_Bacteria;p_Fusobacteria;c_Fusobacteriia;o_Fusobacteriales;f_Leptotrichiaceae;g_Leptotrichia	1.4%
k_Bacteria;p_Fusobacteria;c_Fusobacteriia;o_Fusobacteriales;f_Leptotrichiaceae;g_Sneathia	0.0%
k_Bacteria;p_GN02;c_BD1-5;o_f_g	0.0%
k_Bacteria;p_GN02;c_GKS2-174;o_f_g	0.0%
k_Bacteria;p_Gemmatimonadetes;c_Gemm-1;o_f_g	0.0%
k_Bacteria;p_Gemmatimonadetes;c_Gemm-2;o_f_g	0.0%
k_Bacteria;p_Gemmatimonadetes;c_Gemm-3;o_f_g	0.0%
k_Bacteria;p_Gemmatimonadetes;c_Gemm-5;o_f_g	0.0%
k_Bacteria;p_Gemmatimonadetes;c_Gemmatimonadetes;o_f_g	0.0%
k_Bacteria;p_Gemmatimonadetes;c_Gemmatimonadetes;o_Gemmatimonadales;f_Gemmatimonadaceae;g_Gemmatimonas	0.0%
k_Bacteria;p_Gemmatimonadetes;c_Gemmatimonadetes;o_KD8-87;f_g	0.0%
k_Bacteria;p_Hyd24-12;c_o_f_g	0.0%
k_Bacteria;p_Lentisphaerae;c_Lentisphaeria;o_Victivallales;f_Victivallaceae;g	0.0%
k_Bacteria;p_Lentisphaerae;c_Lentisphaeria;o_Z20;f_R4-45B;g	0.0%
k_Bacteria;p_NKB19;c_o_f_g	0.0%
k_Bacteria;p_NKB19;c_TSBW08;o_f_g	0.0%
k_Bacteria;p_OD1;c_ABY1;o_f_g	0.0%
k_Bacteria;p_OP11;c_OP11-4;o_f_g	0.0%
k_Bacteria;p_OP3;c_koll11;o_f_g	0.0%
k_Bacteria;p_OP9;c_JS1;o_BA021;f_g	0.0%
k_Bacteria;p_Planctomycetes;c_OM190;o_CL500-15;f_g	0.0%
k_Bacteria;p_Planctomycetes;c_Phycisphaerae;o_Phycisphaerales;f_g	0.0%
k_Bacteria;p_Planctomycetes;c_Phycisphaerae;o_WD2101;f_g	0.0%
k_Bacteria;p_Planctomycetes;c_Planctomycetia;o_Gemmatales;f_Gemmataceae;g	0.0%
k_Bacteria;p_Planctomycetes;c_Planctomycetia;o_Gemmatales;f_Gemmataceae;g_Gemmata	0.0%
k_Bacteria;p_Planctomycetes;c_Planctomycetia;o_Gemmatales;f_Isoosphaerae;g	0.0%
k_Bacteria;p_Planctomycetes;c_Planctomycetia;o_Pirellulales;f_Pirellulaceae;g	0.0%
k_Bacteria;p_Planctomycetes;c_Planctomycetia;o_Pirellulales;f_Pirellulaceae;g_A17	0.0%
k_Bacteria;p_Planctomycetes;c_Planctomycetia;o_Pirellulales;f_Pirellulaceae;g_Pirellula	0.0%
k_Bacteria;p_Planctomycetes;c_Planctomycetia;o_Planctomycetiales;f_Planctomycetaceae;g_Planctomyces	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;Other;Other;Other;Other	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_f_g	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_Caulobacterales;f_g	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_Caulobacterales;f_Caulobacteraceae;Other	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_Caulobacterales;f_Caulobacteraceae;g	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_Caulobacterales;f_Caulobacteraceae;g_Brevundimonas	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_Caulobacterales;f_Caulobacteraceae;g_Caulobacter	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_Caulobacterales;f_Caulobacteraceae;g_Mycoplana	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_Caulobacterales;f_Caulobacteraceae;g_Phenylobacterium	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_RF32;f_g	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_Rhizobiales;Other;Other	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_Rhizobiales;f_g	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_Rhizobiales;f_Aurantimonadaceae;g	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_Rhizobiales;f_Bartonellaceae;g	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_Rhizobiales;f_Beijerinckiaceae;g	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_Rhizobiales;f_Bradyrhizobiaceae;g	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_Rhizobiales;f_Bradyrhizobiaceae;g_Balneimonas	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_Rhizobiales;f_Bradyrhizobiaceae;g_Bradyrhizobium	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_Rhizobiales;f_Brucellaceae;Other	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_Rhizobiales;f_Brucellaceae;g_Ochrobactrum	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_Rhizobiales;f_Hyphomicrobiaceae;g	0.0%

Şekil 4.8. (Devam) Cins seviyesinde oluşturulmuş OTU tablosuna ait renk kodları ve örnek bazında oranları. Hasta grubuna ait örnekler ABAL1-30,35 olarak gösterilmiştir. ABAL31-34 arasındaki örnekler çalışma dışı bırakıldığı için çalışmamızda değerlendirdiğimiz hasta grubundaki 31 numaralı örneğimiz ABAL35 olarak isimlendirilmiştir. Kontrol grubuna ait örnekler ise ABALK14-26 olarak gösterilmiştir, örnekler sırasıyla kontrol grubuna ait 1–13 arasındaki örneklerdir.

k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_Rhizobiales;f_Hyphomicrobiaceae;g_Devesia	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_Rhizobiales;f_Hyphomicrobiaceae;g_Hyphomicrobium	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_Rhizobiales;f_Hyphomicrobiaceae;g_Parvibaculum	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_Rhizobiales;f_Hyphomicrobiaceae;g_Pedomicrobium	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_Rhizobiales;f_Hyphomicrobiaceae;g_Rhodoplanes	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_Rhizobiales;f_Methylobacteriaceae;g_	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_Rhizobiales;f_Methylobacteriaceae;g_Methylobacterium	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_Rhizobiales;f_Methylocystaceae;g_	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_Rhizobiales;f_Methylocystaceae;g_Pleomorphomonas	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_Rhizobiales;f_Phyllobacteriaceae;Other	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_Rhizobiales;f_Phyllobacteriaceae;g_	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_Rhizobiales;f_Phyllobacteriaceae;g_Mesorhizobium	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_Rhizobiales;f_Rhizobiaceae;Other	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_Rhizobiales;f_Rhizobiaceae;g_	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_Rhizobiales;f_Rhizobiaceae;g_Agrobacterium	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_Rhizobiales;f_Rhizobiaceae;g_Kaistia	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_Rhizobiales;f_Rhizobiaceae;g_Rhizobium	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_Rhizobiales;f_Rhodobiaceae;g_Afifella	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_Rhizobiales;f_Xanthobacteraceae;g_Labrys	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_Rhizobiales;f_Xanthobacteraceae;g_Xanthobacter	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_Rhodobacterales;f_Hyphomonadaceae;g_	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_Rhodobacterales;f_Hyphomonadaceae;g_Hyphomonas	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_Rhodobacterales;f_Hyphomonadaceae;g_Maricaulis	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_Rhodobacterales;f_Rhodobacteraceae;Other	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_Rhodobacterales;f_Rhodobacteraceae;g_	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_Rhodobacterales;f_Rhodobacteraceae;g_Anaerospira	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_Rhodobacterales;f_Rhodobacteraceae;g_Octadecabacter	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_Rhodobacterales;f_Rhodobacteraceae;g_Paracoccus	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_Rhodobacterales;f_Rhodobacteraceae;g_Phaeobacter	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_Rhodobacterales;f_Rhodobacteraceae;g_Rhodobacter	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_Rhodobacterales;f_Rhodobacteraceae;g_Rubellimicrobium	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_Rhodobacterales;f_Rhodobacteraceae;g_Sulfitobacter	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_Rhodospirillales;f_g_	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_Rhodospirillales;f_Acetobacteraceae;Other	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_Rhodospirillales;f_Acetobacteraceae;g_	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_Rhodospirillales;f_Acetobacteraceae;g_Acetobacter	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_Rhodospirillales;f_Acetobacteraceae;g_Acidiphilium	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_Rhodospirillales;f_Acetobacteraceae;g_Acidocella	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_Rhodospirillales;f_Acetobacteraceae;g_Gluconacetobacter	0.1%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_Rhodospirillales;f_Acetobacteraceae;g_Gluconobacter	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_Rhodospirillales;f_Acetobacteraceae;g_Roseomonas	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_Rhodospirillales;f_Rhodospirillaceae;g_	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_Rhodospirillales;f_Rhodospirillaceae;g_Inquilinus	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_Rhodospirillales;f_Rhodospirillaceae;g_Novispirillum	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_Rhodospirillales;f_Rhodospirillaceae;g_Skermanella	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_Rhodospirillales;f_Rhodospirillaceae;g_Telmatospirillum	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_Rickettsiales;f_g_	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_Rickettsiales;f_mitochondria;Other	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_Rickettsiales;f_mitochondria;g_Pythium	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_Sphingomonadales;f_g_	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_Sphingomonadales;f_Erythrobacteraceae;g_	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_Sphingomonadales;f_Sphingomonadaceae;Other	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_Sphingomonadales;f_Sphingomonadaceae;g_	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_Sphingomonadales;f_Sphingomonadaceae;g_Blastomonas	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_Sphingomonadales;f_Sphingomonadaceae;g_Kaistobacter	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_Sphingomonadales;f_Sphingomonadaceae;g_Novosphingobium	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_Sphingomonadales;f_Sphingomonadaceae;g_Sphingobium	0.1%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_Sphingomonadales;f_Sphingomonadaceae;g_Sphingomonas	0.1%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_Sphingomonadales;f_Sphingomonadaceae;g_Sphingopyxis	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Betaproteobacteria;Other;Other;Other	0.0%

Şekil 4.8. (Devam) Cins seviyesinde oluşturulmuş OTU tablosuna ait renk kodları ve örnek bazında oranları. Hasta grubuna ait örnekler ABAL1-30,35 olarak gösterilmiştir. ABAL31-34 arasındaki örnekler çalışma dışı bırakıldığı için çalışmamızda değerlendirdiğimiz hasta grubundaki 31 numaralı örneğimiz ABAL35 olarak isimlendirilmiştir. Kontrol grubuna ait örnekler ise ABALK14-26 olarak gösterilmiştir, örnekler sırasıyla kontrol grubuna ait 1–13 arasındaki örneklerdir.

k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Betaproteobacteria;o_f_g_	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Betaproteobacteria;o ASSO-13;f_g_	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Betaproteobacteria;o_Burkholderiales;Other;Other	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Betaproteobacteria;o_Burkholderiales;f_g_	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Betaproteobacteria;o_Burkholderiales;f_Alcaligenaceae;Other	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Betaproteobacteria;o_Burkholderiales;f_Alcaligenaceae;g_	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Betaproteobacteria;o_Burkholderiales;f_Alcaligenaceae;g_Achromobacter	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Betaproteobacteria;o_Burkholderiales;f_Alcaligenaceae;g_Pigmentiphaga	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Betaproteobacteria;o_Burkholderiales;f_Alcaligenaceae;g_Sutterella	0.2%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Betaproteobacteria;o_Burkholderiales;f_Burkholderiaceae;g_Burkholderia	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Betaproteobacteria;o_Burkholderiales;f_Burkholderiaceae;g_Lautropia	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Betaproteobacteria;o_Burkholderiales;f_Burkholderiaceae;g_Pandoraea	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Betaproteobacteria;o_Burkholderiales;f_Comamonadaceae;Other	0.1%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Betaproteobacteria;o_Burkholderiales;f_Comamonadaceae;g_	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Betaproteobacteria;o_Burkholderiales;f_Comamonadaceae;g_Acidovorax	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Betaproteobacteria;o_Burkholderiales;f_Comamonadaceae;g_Comamonas	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Betaproteobacteria;o_Burkholderiales;f_Comamonadaceae;g_Curvibacter	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Betaproteobacteria;o_Burkholderiales;f_Comamonadaceae;g_Delftia	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Betaproteobacteria;o_Burkholderiales;f_Comamonadaceae;g_Diaphorobacter	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Betaproteobacteria;o_Burkholderiales;f_Comamonadaceae;g_Hydrogenophaga	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Betaproteobacteria;o_Burkholderiales;f_Comamonadaceae;g_Hylemonella	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Betaproteobacteria;o_Burkholderiales;f_Comamonadaceae;g_Limnhabitans	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Betaproteobacteria;o_Burkholderiales;f_Comamonadaceae;g_Polaromonas	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Betaproteobacteria;o_Burkholderiales;f_Comamonadaceae;g_Ramlibacter	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Betaproteobacteria;o_Burkholderiales;f_Comamonadaceae;g_Tepidimonas	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Betaproteobacteria;o_Burkholderiales;f_Comamonadaceae;g_Variovorax	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Betaproteobacteria;o_Burkholderiales;f_Oxalobacteraceae;Other	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Betaproteobacteria;o_Burkholderiales;f_Oxalobacteraceae;g_	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Betaproteobacteria;o_Burkholderiales;f_Oxalobacteraceae;g_Cupriavidus	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Betaproteobacteria;o_Burkholderiales;f_Oxalobacteraceae;g_Janthinobacterium	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Betaproteobacteria;o_Burkholderiales;f_Oxalobacteraceae;g_Oxalobacter	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Betaproteobacteria;o_Burkholderiales;f_Oxalobacteraceae;g_Polynucleobacter	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Betaproteobacteria;o_Burkholderiales;f_Oxalobacteraceae;g_Ralstonia	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Betaproteobacteria;o_Methylophilales;f_g_	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Betaproteobacteria;o_Methylophilales;f_Methylophilaceae;g_	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Betaproteobacteria;o_Methylophilales;f_Methylophilaceae;g_Methylotenera	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Betaproteobacteria;o_Neisseriales;f_Neisseriaceae;Other	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Betaproteobacteria;o_Neisseriales;f_Neisseriaceae;g_	0.2%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Betaproteobacteria;o_Neisseriales;f_Neisseriaceae;g_Conchiformibius	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Betaproteobacteria;o_Neisseriales;f_Neisseriaceae;g_Eikenella	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Betaproteobacteria;o_Neisseriales;f_Neisseriaceae;g_Kingella	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Betaproteobacteria;o_Neisseriales;f_Neisseriaceae;g_Neisseria	3.4%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Betaproteobacteria;o_Neisseriales;f_Neisseriaceae;g_Vitreoscilla	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Betaproteobacteria;o_Nitrosomonadales;f_Nitrosomonadaceae;g_	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Betaproteobacteria;o_Procabbacteriales;f_g_	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Betaproteobacteria;o_Rhodocyclales;f_Rhodocyclaceae;Other	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Betaproteobacteria;o_Rhodocyclales;f_Rhodocyclaceae;g_	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Betaproteobacteria;o_Rhodocyclales;f_Rhodocyclaceae;g_Azoarcus	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Betaproteobacteria;o_Rhodocyclales;f_Rhodocyclaceae;g_Azospira	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Betaproteobacteria;o_Rhodocyclales;f_Rhodocyclaceae;g_Candidatus Accumulibacter	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Betaproteobacteria;o_Rhodocyclales;f_Rhodocyclaceae;g_Dechloromonas	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Betaproteobacteria;o_Rhodocyclales;f_Rhodocyclaceae;g_Hydrogenophilus	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Betaproteobacteria;o_Rhodocyclales;f_Rhodocyclaceae;g_Propionivibrio	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Betaproteobacteria;o_Rhodocyclales;f_Rhodocyclaceae;g_Thauera	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Betaproteobacteria;o_Thiobacterales;f_g_	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Deltaproteobacteria;o_f_g_	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Deltaproteobacteria;o_Bdellovibrionales;f_Bacteriovoracaceae;g_	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Deltaproteobacteria;o_Bdellovibrionales;f_Bdellovibrionaceae;g_Bdellovibrio	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Deltaproteobacteria;o_Desulfobacterales;f_Desulfobacteraceae;g_	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Deltaproteobacteria;o_Desulfobacterales;f_Desulfobulbaceae;g_	0.0%

Şekil 4.8. (Devam) Cins seviyesinde oluşturulmuş OTU tablosuna ait renk kodları ve örnek bazında oranları. Hasta grubuna ait örnekler ABAL1-30,35 olarak gösterilmiştir. ABAL31-34 arasındaki örnekler çalışma dışı bırakıldığı için çalışmamızda değerlendirdiğimiz hasta grubundaki 31 numaralı örneğimiz ABAL35 olarak isimlendirilmiştir. Kontrol grubuna ait örnekler ise ABALK14-26 olarak gösterilmiştir, örnekler sırasıyla kontrol grubuna ait 1–13 arasındaki örneklerdir.

k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Deltaproteobacteria;o_Desulfobacterales;f_Desulfobulbaceae;g_Desulfobulbus	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Deltaproteobacteria;o_Desulfovibrionales;f_Desulfomicrobiaceae;g_Desulfomicrobium	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Deltaproteobacteria;o_Desulfovibrionales;f_Desulfovibrionaceae;g_	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Deltaproteobacteria;o_Desulfovibrionales;f_Desulfovibrionaceae;g_Bilophila	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Deltaproteobacteria;o_Desulfovibrionales;f_Desulfovibrionaceae;g_Desulfovibrio	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Deltaproteobacteria;o_Desulfuromonadales;f_Desulfuromonadaceae;g_	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Deltaproteobacteria;o_Desulfuromonadales;f_Desulfuromonadaceae;g_Desulfuromonas	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Deltaproteobacteria;o_Desulfuromonadales;f_Geobacteraceae;g_Geobacter	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Deltaproteobacteria;o_GMD14H09;f_;	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Deltaproteobacteria;o_Myxococcales;f_;	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Deltaproteobacteria;o_Myxococcales;f_0319-6G20;g_	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Deltaproteobacteria;o_Myxococcales;f_Myxococcaceae;g_Anaeromyxobacter	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Deltaproteobacteria;o_NB1-j;f_MND4;g_	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Deltaproteobacteria;o_Spirobacillales;f_;	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Deltaproteobacteria;o_Syntrophobacterales;f_Syntrophaceae;g_Desulfomonile	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Deltaproteobacteria;o_Syntrophobacterales;f_Syntrophobacteraceae;g_	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Epsilonproteobacteria;o_Campylobacterales;f_Campylobacteraceae;g_	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Epsilonproteobacteria;o_Campylobacterales;f_Campylobacteraceae;g_Arcobacter	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Epsilonproteobacteria;o_Campylobacterales;f_Campylobacteraceae;g_Campylobacter	1.9%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Epsilonproteobacteria;o_Campylobacterales;f_Helicobacteraceae;g_Other	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Epsilonproteobacteria;o_Campylobacterales;f_Helicobacteraceae;g_	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Epsilonproteobacteria;o_Campylobacterales;f_Helicobacteraceae;g_Flexispira	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Epsilonproteobacteria;o_Campylobacterales;f_Helicobacteraceae;g_Helicobacter	0.1%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Gammaproteobacteria;Other;Other;Other	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Gammaproteobacteria;o_;	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Gammaproteobacteria;o_Aeromonadales;f_Aeromonadaceae;g_	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Gammaproteobacteria;o_Aeromonadales;f_Succinivibrionaceae;g_	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Gammaproteobacteria;o_Aeromonadales;f_Succinivibrionaceae;g_Anaerobiospirillum	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Gammaproteobacteria;o_Aeromonadales;f_Succinivibrionaceae;g_Succinatimonas	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Gammaproteobacteria;o_Aeromonadales;f_Succinivibrionaceae;g_Succinivibrio	0.1%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Gammaproteobacteria;o_Alteromonadales;f_125ds10;g_	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Gammaproteobacteria;o_Alteromonadales;f_Alteromonadaceae;g_	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Gammaproteobacteria;o_Alteromonadales;f_Alteromonadaceae;g_Cellvibrio	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Gammaproteobacteria;o_Alteromonadales;f_Alteromonadaceae;g_Marinobacter	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Gammaproteobacteria;o_Alteromonadales;f_Idiomarinaceae;g_	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Gammaproteobacteria;o_Alteromonadales;f_Idiomarinaceae;g_Idiomarina	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Gammaproteobacteria;o_Alteromonadales;f_OM60;g_	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Gammaproteobacteria;o_Alteromonadales;f_Shewanellaceae;g_Shewanella	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Gammaproteobacteria;o_Alteromonadales;f_[Chromatiaceae];Other	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Gammaproteobacteria;o_Alteromonadales;f_[Chromatiaceae];g_	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Gammaproteobacteria;o_Alteromonadales;f_[Chromatiaceae];g_Rheinheimera	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Gammaproteobacteria;o_Cardiobacterales;f_Cardiobacteriaceae;Other	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Gammaproteobacteria;o_Cardiobacterales;f_Cardiobacteriaceae;g_Cardiobacterium	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Gammaproteobacteria;o_Chromatiales;f_;	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Gammaproteobacteria;o_Chromatiales;f_Chromatiaceae;g_	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Gammaproteobacteria;o_Chromatiales;f_Chromatiaceae;g_Allochrochromatium	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Gammaproteobacteria;o_Chromatiales;f_Ectothiorhodospiraceae;Other	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Gammaproteobacteria;o_Chromatiales;f_Ectothiorhodospiraceae;g_Halorhodospira	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Gammaproteobacteria;o_Enterobacterales;f_Enterobacteriaceae;Other	0.1%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Gammaproteobacteria;o_Enterobacterales;f_Enterobacteriaceae;g_	0.6%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Gammaproteobacteria;o_Enterobacterales;f_Enterobacteriaceae;g_Buchnera	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Gammaproteobacteria;o_Enterobacterales;f_Enterobacteriaceae;g_Citrobacter	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Gammaproteobacteria;o_Enterobacterales;f_Enterobacteriaceae;g_Enterobacter	0.3%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Gammaproteobacteria;o_Enterobacterales;f_Enterobacteriaceae;g_Erwinia	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Gammaproteobacteria;o_Enterobacterales;f_Enterobacteriaceae;g_Escherichia	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Gammaproteobacteria;o_Enterobacterales;f_Enterobacteriaceae;g_Morganella	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Gammaproteobacteria;o_Enterobacterales;f_Enterobacteriaceae;g_Proteus	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Gammaproteobacteria;o_Enterobacterales;f_Enterobacteriaceae;g_Providencia	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Gammaproteobacteria;o_Enterobacterales;f_Enterobacteriaceae;g_Serratia	0.0%

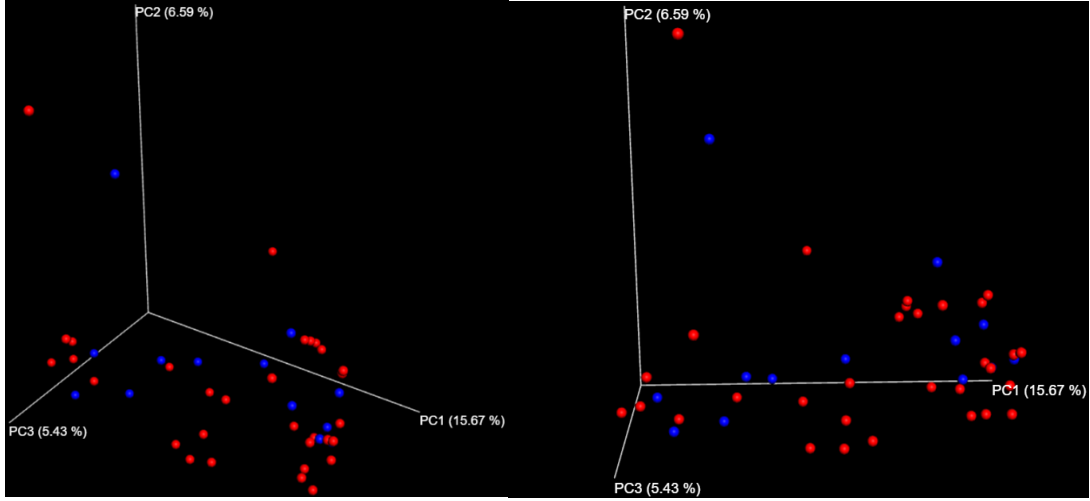
Şekil 4.8. (Devam) Cins seviyesinde oluşturulmuş OTU tablosuna ait renk kodları ve örnek bazında oranları. Hasta grubuna ait örnekler ABAL1-30,35 olarak gösterilmiştir. ABAL31-34 arasındaki örnekler çalışma dışı bırakıldığı için çalışmamızda değerlendirilmediği hasta grubundaki 31 numaralı örneğimiz ABAL35 olarak isimlendirilmiştir. Kontrol grubuna ait örnekler ise ABALK14-26 olarak gösterilmiştir, örnekler sırasıyla kontrol grubuna ait 1-13 arasındaki örneklerdir.

k_Bacteria;p__Proteobacteria;c__Gammaproteobacteria;o__Enterobacteriales;f__Enterobacteriaceae;g__Trabulsilla	0.0%
k_Bacteria;p__Proteobacteria;c__Gammaproteobacteria;o__Enterobacteriales;f__Enterobacteriaceae;g__Xenorhabdus	0.0%
k_Bacteria;p__Proteobacteria;c__Gammaproteobacteria;o__HOC36;f__g__	0.0%
k_Bacteria;p__Proteobacteria;c__Gammaproteobacteria;o__Legionellales;Other:Other	0.0%
k_Bacteria;p__Proteobacteria;c__Gammaproteobacteria;o__Legionellales;f__g__	0.0%
k_Bacteria;p__Proteobacteria;c__Gammaproteobacteria;o__Legionellales;f__Coxiellaceae;g__	0.0%
k_Bacteria;p__Proteobacteria;c__Gammaproteobacteria;o__Legionellales;f__Coxiellaceae;g__Aquicella	0.0%
k_Bacteria;p__Proteobacteria;c__Gammaproteobacteria;o__Legionellales;f__Legionellaceae;Other	0.0%
k_Bacteria;p__Proteobacteria;c__Gammaproteobacteria;o__Legionellales;f__Legionellaceae;g__	0.0%
k_Bacteria;p__Proteobacteria;c__Gammaproteobacteria;o__Legionellales;f__Legionellaceae;g__Legionella	0.0%
k_Bacteria;p__Proteobacteria;c__Gammaproteobacteria;o__Oceanospirillales;f__Halomonadaceae;Other	0.0%
k_Bacteria;p__Proteobacteria;c__Gammaproteobacteria;o__Oceanospirillales;f__Halomonadaceae;g__	0.0%
k_Bacteria;p__Proteobacteria;c__Gammaproteobacteria;o__Oceanospirillales;f__Halomonadaceae;g__Halomonas	0.0%
k_Bacteria;p__Proteobacteria;c__Gammaproteobacteria;o__Oceanospirillales;f__Oceanospirillaceae;g__	0.0%
k_Bacteria;p__Proteobacteria;c__Gammaproteobacteria;o__Oceanospirillales;f__Oceanospirillaceae;g__Marinomonas	0.0%
k_Bacteria;p__Proteobacteria;c__Gammaproteobacteria;o__Pasteurellales;f__Pasteurellaceae;Other	0.0%
k_Bacteria;p__Proteobacteria;c__Gammaproteobacteria;o__Pasteurellales;f__Pasteurellaceae;g__	0.0%
k_Bacteria;p__Proteobacteria;c__Gammaproteobacteria;o__Pasteurellales;f__Pasteurellaceae;g__Actinobacillus	0.7%
k_Bacteria;p__Proteobacteria;c__Gammaproteobacteria;o__Pasteurellales;f__Pasteurellaceae;g__Aggregatibacter	0.1%
k_Bacteria;p__Proteobacteria;c__Gammaproteobacteria;o__Pasteurellales;f__Pasteurellaceae;g__Chelonobacter	0.0%
k_Bacteria;p__Proteobacteria;c__Gammaproteobacteria;o__Pasteurellales;f__Pasteurellaceae;g__Haemophilus	2.2%
k_Bacteria;p__Proteobacteria;c__Gammaproteobacteria;o__Pasteurellales;f__Pasteurellaceae;g__Mannheimia	0.0%
k_Bacteria;p__Proteobacteria;c__Gammaproteobacteria;o__Pseudomonadales;Other:Other	0.0%
k_Bacteria;p__Proteobacteria;c__Gammaproteobacteria;o__Pseudomonadales;f__Moraxellaceae;Other	0.0%
k_Bacteria;p__Proteobacteria;c__Gammaproteobacteria;o__Pseudomonadales;f__Moraxellaceae;g__	0.0%
k_Bacteria;p__Proteobacteria;c__Gammaproteobacteria;o__Pseudomonadales;f__Moraxellaceae;g__Acinetobacter	0.1%
k_Bacteria;p__Proteobacteria;c__Gammaproteobacteria;o__Pseudomonadales;f__Moraxellaceae;g__Enhydrobacter	0.0%
k_Bacteria;p__Proteobacteria;c__Gammaproteobacteria;o__Pseudomonadales;f__Moraxellaceae;g__Moraxella	0.0%
k_Bacteria;p__Proteobacteria;c__Gammaproteobacteria;o__Pseudomonadales;f__Moraxellaceae;g__Perluclidibaca	0.0%
k_Bacteria;p__Proteobacteria;c__Gammaproteobacteria;o__Pseudomonadales;f__Moraxellaceae;g__Psychrobacter	0.0%
k_Bacteria;p__Proteobacteria;c__Gammaproteobacteria;o__Pseudomonadales;f__Pseudomonadaceae;Other	0.0%
k_Bacteria;p__Proteobacteria;c__Gammaproteobacteria;o__Pseudomonadales;f__Pseudomonadaceae;g__	0.0%
k_Bacteria;p__Proteobacteria;c__Gammaproteobacteria;o__Pseudomonadales;f__Pseudomonadaceae;g__Pseudomonas	0.6%
k_Bacteria;p__Proteobacteria;c__Gammaproteobacteria;o__Thiotrichales;f__Piscirickettsiaceae;g__	0.0%
k_Bacteria;p__Proteobacteria;c__Gammaproteobacteria;o__Thiotrichales;f__Piscirickettsiaceae;g__Methylophaga	0.0%
k_Bacteria;p__Proteobacteria;c__Gammaproteobacteria;o__Thiotrichales;f__Thiotrichaceae;g__Leucothrix	0.0%
k_Bacteria;p__Proteobacteria;c__Gammaproteobacteria;o__Vibrionales;Other:Other	0.0%
k_Bacteria;p__Proteobacteria;c__Gammaproteobacteria;o__Vibrionales;f__Pseudoalteromonadaceae;Other	0.0%
k_Bacteria;p__Proteobacteria;c__Gammaproteobacteria;o__Vibrionales;f__Pseudoalteromonadaceae;g__	0.0%
k_Bacteria;p__Proteobacteria;c__Gammaproteobacteria;o__Vibrionales;f__Pseudoalteromonadaceae;g__Pseudoalteromonas	0.0%
k_Bacteria;p__Proteobacteria;c__Gammaproteobacteria;o__Vibrionales;f__Pseudoalteromonadaceae;g__Vibrio	0.0%
k_Bacteria;p__Proteobacteria;c__Gammaproteobacteria;o__Vibrionales;f__Vibrionaceae;Other	0.0%
k_Bacteria;p__Proteobacteria;c__Gammaproteobacteria;o__Vibrionales;f__Vibrionaceae;g__	0.0%
k_Bacteria;p__Proteobacteria;c__Gammaproteobacteria;o__Vibrionales;f__Vibrionaceae;g__Vibrio	0.0%
k_Bacteria;p__Proteobacteria;c__Gammaproteobacteria;o__Xanthomonadales;f__Sinobacteraceae;g__	0.0%
k_Bacteria;p__Proteobacteria;c__Gammaproteobacteria;o__Xanthomonadales;f__Sinobacteraceae;g__Nevskia	0.0%
k_Bacteria;p__Proteobacteria;c__Gammaproteobacteria;o__Xanthomonadales;f__Sinobacteraceae;g__Steroidobacter	0.0%
k_Bacteria;p__Proteobacteria;c__Gammaproteobacteria;o__Xanthomonadales;f__Xanthomonadaceae;Other	0.0%
k_Bacteria;p__Proteobacteria;c__Gammaproteobacteria;o__Xanthomonadales;f__Xanthomonadaceae;g__	0.0%
k_Bacteria;p__Proteobacteria;c__Gammaproteobacteria;o__Xanthomonadales;f__Xanthomonadaceae;g__Dokdonella	0.0%
k_Bacteria;p__Proteobacteria;c__Gammaproteobacteria;o__Xanthomonadales;f__Xanthomonadaceae;g__Luteimonas	0.0%
k_Bacteria;p__Proteobacteria;c__Gammaproteobacteria;o__Xanthomonadales;f__Xanthomonadaceae;g__Lysobacter	0.0%
k_Bacteria;p__Proteobacteria;c__Gammaproteobacteria;o__Xanthomonadales;f__Xanthomonadaceae;g__Pseudoxanthomonas	0.0%
k_Bacteria;p__Proteobacteria;c__Gammaproteobacteria;o__Xanthomonadales;f__Xanthomonadaceae;g__Rhodanobacter	0.0%
k_Bacteria;p__Proteobacteria;c__Gammaproteobacteria;o__Xanthomonadales;f__Xanthomonadaceae;g__Stenotrophomonas	0.0%
k_Bacteria;p__Proteobacteria;c__Gammaproteobacteria;o__Xanthomonadales;f__Xanthomonadaceae;g__Thermomonas	0.0%
k_Bacteria;p__Proteobacteria;c__Gammaproteobacteria;o__Xanthomonadales;f__Xanthomonadaceae;g__Xanthomonas	0.0%
k_Bacteria;p__Proteobacteria;c__Gammaproteobacteria;o__[Marinicellales];f__[Marinicellaceae];g__Marinicella	0.0%
k_Bacteria;p__SBR1093;c__VHS-B5-50;o__f__g__	0.0%

Şekil 4.8. (Devam) Cins seviyesinde oluşturulmuş OTU tablosuna ait renk kodları ve örnek bazında oranları. Hasta grubuna ait örnekler ABAL1-30,35 olarak gösterilmiştir. ABAL31-34 arasındaki örnekler çalışma dışı bırakıldığı için çalışmamızda değerlendirdiğimiz hasta grubundaki 31 numaralı örneğimiz ABAL35 olarak isimlendirilmiştir. Kontrol grubuna ait örnekler ise ABALK14-26 olarak gösterilmiştir, örnekler sırasıyla kontrol grubuna ait 1-13 arasındaki örneklerdir.

k_Bacteria;p_SBR1093;c_VHS-B5-50;o_ ;f_ ;g_	0.0%
k_Bacteria;p_SR1;c_ ;o_ ;f_ ;g_	0.1%
k_Bacteria;p_Spirochaetes;c_Spirochaetes;o_Sphaerochaetales;f_Sphaerochaetaceae;g_	0.0%
k_Bacteria;p_Spirochaetes;c_Spirochaetes;o_Sphaerochaetales;f_Sphaerochaetaceae;g_Sphaerochaeta	0.0%
k_Bacteria;p_Spirochaetes;c_Spirochaetes;o_Spirochaetales;f_Spirochaetaceae;g_Treponema	0.4%
k_Bacteria;p_Synergistetes;c_Synergistia;o_Synergistales;Other;Other	0.0%
k_Bacteria;p_Synergistetes;c_Synergistia;o_Synergistales;f_Anaerobaculaceae;g_Anaerobaculum	0.0%
k_Bacteria;p_Synergistetes;c_Synergistia;o_Synergistales;f_Dethiosulfovibronaceae;g_Aminobacterium	0.0%
k_Bacteria;p_Synergistetes;c_Synergistia;o_Synergistales;f_Dethiosulfovibronaceae;g_HAT3	0.0%
k_Bacteria;p_Synergistetes;c_Synergistia;o_Synergistales;f_Dethiosulfovibronaceae;g_Jonquetella	0.0%
k_Bacteria;p_Synergistetes;c_Synergistia;o_Synergistales;f_Dethiosulfovibronaceae;g_Pyramidobacter	0.0%
k_Bacteria;p_Synergistetes;c_Synergistia;o_Synergistales;f_Dethiosulfovibronaceae;g_TG5	0.1%
k_Bacteria;p_Synergistetes;c_Synergistia;o_Synergistales;f_Synergistaceae;Other	0.0%
k_Bacteria;p_Synergistetes;c_Synergistia;o_Synergistales;f_Synergistaceae;g_	0.0%
k_Bacteria;p_Synergistetes;c_Synergistia;o_Synergistales;f_Synergistaceae;g_vadinCA02	0.0%
k_Bacteria;p_TM6;c_SJA-4;o_ ;f_ ;g_	0.0%
k_Bacteria;p_TM7;Other;Other;Other;Other	0.0%
k_Bacteria;p_TM7;c_ ;o_ ;f_ ;g_	0.0%
k_Bacteria;p_TM7;c_MJK10;o_ ;f_ ;g_	0.0%
k_Bacteria;p_TM7;c_SC3;o_ ;f_ ;g_	0.0%
k_Bacteria;p_TM7;c_TM7-1;o_ ;f_ ;g_	0.0%
k_Bacteria;p_TM7;c_TM7-3;Other;Other;Other	0.0%
k_Bacteria;p_TM7;c_TM7-3;o_ ;f_ ;g_	0.5%
k_Bacteria;p_TM7;c_TM7-3;o_Blg18;f_ ;g_	0.0%
k_Bacteria;p_TM7;c_TM7-3;o_CW040;f_ ;g_	0.1%
k_Bacteria;p_TM7;c_TM7-3;o_CW040;f_F16;g_	0.2%
k_Bacteria;p_TM7;c_TM7-3;o_EW055;f_ ;g_	0.0%
k_Bacteria;p_TM7;c_TM7-3;o_I025;f_ ;g_	0.0%
k_Bacteria;p_TM7;c_TM7-3;o_I025;f_Rs-045;g_	0.0%
k_Bacteria;p_Tenericutes;c_Mollicutes;o_Acholeplasmatales;f_Acholeplasmataceae;g_	0.0%
k_Bacteria;p_Tenericutes;c_Mollicutes;o_Acholeplasmatales;f_Acholeplasmataceae;g_Acholeplasma	0.0%
k_Bacteria;p_Tenericutes;c_Mollicutes;o_Acholeplasmatales;f_Acholeplasmataceae;g_Candidatus Phytoplasma	0.0%
k_Bacteria;p_Tenericutes;c_Mollicutes;o_Anaeroplasmatales;f_Anaeroplasmataceae;g_	0.0%
k_Bacteria;p_Tenericutes;c_Mollicutes;o_Anaeroplasmatales;f_Anaeroplasmataceae;g_Anaeroplasma	0.0%
k_Bacteria;p_Tenericutes;c_Mollicutes;o_Mycoplasmatales;f_Mycoplasmataceae;g_	0.0%
k_Bacteria;p_Tenericutes;c_Mollicutes;o_Mycoplasmatales;f_Mycoplasmataceae;g_Mycoplasma	0.1%
k_Bacteria;p_Tenericutes;c_Mollicutes;o_RF39;f_ ;g_	0.2%
k_Bacteria;p_Tenericutes;c_Mollicutes;o_RsaHF231;f_ ;g_	0.0%
k_Bacteria;p_Tenericutes;c_RF3;o_ML615J-28;f_ ;g_	0.0%
k_Bacteria;p_Thermotogae;c_Thermotogae;o_Thermotogales;f_Thermotogaceae;g_AUTHM297	0.0%
k_Bacteria;p_Thermotogae;c_Thermotogae;o_Thermotogales;f_Thermotogaceae;g_S1	0.0%
k_Bacteria;p_Verrucomicrobia;c_Opitutae;o_ ;f_ ;g_	0.0%
k_Bacteria;p_Verrucomicrobia;c_Opitutae;o_Opitutales;f_Opitutaceae;g_	0.0%
k_Bacteria;p_Verrucomicrobia;c_Opitutae;o_Opitutales;f_Opitutaceae;g_Opitutus	0.0%
k_Bacteria;p_Verrucomicrobia;c_Opitutae;o_Puniceicoccales;f_Puniceicoccaceae;g_Coralimargarita	0.0%
k_Bacteria;p_Verrucomicrobia;c_Opitutae;o_[Cerasicoccales];f_[Cerasicoccaceae];g_	0.0%
k_Bacteria;p_Verrucomicrobia;c_Verruco-5;o_LD1-PB3;f_ ;g_	0.0%
k_Bacteria;p_Verrucomicrobia;c_Verruco-5;o_WCHB1-41;f_ ;g_	0.0%
k_Bacteria;p_Verrucomicrobia;c_Verruco-5;o_WCHB1-41;f_RFP12;g_	0.0%
k_Bacteria;p_Verrucomicrobia;c_Verruco-5;o_WCHB1-41;f_WCHB1-25;g_	0.0%
k_Bacteria;p_Verrucomicrobia;c_Verrucomicrobiae;o_Verrucomicrobiales;f_Verrucomicrobiaceae;g_	0.0%
k_Bacteria;p_Verrucomicrobia;c_Verrucomicrobiae;o_Verrucomicrobiales;f_Verrucomicrobiaceae;g_Akkermansia	0.2%
k_Bacteria;p_Verrucomicrobia;c_Verrucomicrobiae;o_Verrucomicrobiales;f_Verrucomicrobiaceae;g_Luteolibacter	0.0%
k_Bacteria;p_Verrucomicrobia;c_Verrucomicrobiae;o_Verrucomicrobiales;f_Verrucomicrobiaceae;g_Prostheobacter	0.0%
k_Bacteria;p_Verrucomicrobia;c_Verrucomicrobiae;o_Verrucomicrobiales;f_Verrucomicrobiaceae;g_Verrucomicrobium	0.0%
k_Bacteria;p_Verrucomicrobia;c_[Methylococcaceae];o_Methylococcaceae;f_ ;g_	0.0%
k_Bacteria;p_Verrucomicrobia;c_[Pedosphaerae];o_[Pedosphaerales];f_ ;g_	0.0%
k_Bacteria;p_Verrucomicrobia;c_[Pedosphaerae];o_[Pedosphaerales];f_Ellin517;g_	0.0%
k_Bacteria;p_Verrucomicrobia;c_[Pedosphaerae];o_[Pedosphaerales];f_R4-41B;g_	0.0%
k_Bacteria;p_Verrucomicrobia;c_[Spartobacteria];o_[Chthoniobacteriales];f_[Chthoniobacteraceae];g_Candidatus Xiphinematobacter	0.0%
k_Bacteria;p_WPS-2;c_ ;o_ ;f_ ;g_	0.0%
k_Bacteria;p_WS6;c_B142;o_ ;f_ ;g_	0.0%
k_Bacteria;p_WS6;c_SC72;o_ ;f_ ;g_	0.0%
k_Bacteria;p_WWE1;c_[Cloacamonae];o_[Cloacamonales];Other;Other	0.0%
k_Bacteria;p_WWE1;c_[Cloacamonae];o_[Cloacamonales];f_ ;g_	0.0%
k_Bacteria;p_WWE1;c_[Cloacamonae];o_[Cloacamonales];f_[Cloacamonaceae];Other	0.0%
k_Bacteria;p_WWE1;c_[Cloacamonae];o_[Cloacamonales];f_[Cloacamonaceae];g_	0.0%
k_Bacteria;p_WWE1;c_[Cloacamonae];o_[Cloacamonales];f_[Cloacamonaceae];g_W22	0.0%
k_Bacteria;p_[Thermi];c_Deinococci;o_Deinococcales;f_Deinococcaceae;g_Deinococcus	0.0%
k_Bacteria;p_[Thermi];c_Deinococci;o_Deinococcales;f_Trueperaceae;g_B-42	0.0%
k_Bacteria;p_[Thermi];c_Deinococci;o_Thermales;f_Thermaceae;g_Meiothermus	0.0%
k_Bacteria;p_[Thermi];c_Deinococci;o_Thermales;f_Thermaceae;g_Thermus	0.0%

Şekil 4.8. (Devam) Cins seviyesinde oluşturulmuş OTU tablosuna ait renk kodları ve örnek bazında oranları. Hasta grubuna ait örnekler ABAL1-30,35 olarak gösterilmiştir. ABAL31-34 arasındaki örnekler çalışma dışı bırakıldığı için çalışmamızda değerlendirdiğimiz hasta grubundaki 31 numaralı örneğimiz ABAL35 olarak isimlendirilmiştir. Kontrol grubuna ait örnekler ise ABALK14-26 olarak gösterilmiştir, örnekler sırasıyla kontrol grubuna ait 1–13 arasındaki örneklerdir.



Şekil 4.9. Beta çeşitlilik Temel Koordinatlar Analizi Görüntüsü (3 Boyutlu). Kırmızı; Hasta grubuna ait örnekler, Mavi; Kontrol grubuna ait örnekler

Beta çeşitlilik temel koordinatlar analizini değerlendirdiğimizde, hasta grubundan iki örneğin (6 ve 16), kontrol grubundan da bir örneğin (9) farklı bölgelerde konumlandığını, dolayısıyla diğer örnekler nazaran farklı mikrobiyom çeşitliliğine sahip olduğu tespit edildi. Bu örneklerin 16s rRNA okuma oranlarını değerlendirdiğimizde; 6 numaralı hasta örneğinin yaklaşık %81’lik kısmının *Lactobacillus*, 16 numaralı hasta örneğinin ise %40’lık kısmının *Streptococcus*, 9 numaralı kontrol bireyine ait örneğin ise, %16’sının *Pseudomonas* olduğu raporlandı.

Yeni nesil dizileme ile mikrobiyom içerisindeki cins dağılımları hasta ve kontrol grubu için ayrı olarak hesaplandı. Ortalama bazında akciğer kanserli hasta grubunda en yüksek okuma alınan 5 bakteri cinsinin *Prevotella* (%22,6), *Veillonella* (%10,8), *Lactobacillus* (%4,5), *Streptococcus* (%4,8), *Neisseria* (%4,7) olduğu tespit edildi. Hasta grubunda kültürde *Bacillus subtilis* üreyen bir örneğin (27 numaralı örnek) Yeni Nesil Dizileme Analizi ile değerlendirdiğimizde, %99’luk kısmının tanımlanamadığı raporlandı. Kültürde üreme gözlemlenmeyen örnekleri Yeni Nesil Dizileme Analizi ile değerlendirdiğimizde en sık tespit edilen cinslerin 2 numaralı örnekte *Prevotella* (%11), 6 numaralı örnekte *Lactobacillus* (%81), 8 numaralı örnekte *Lactobacillus* (%7) 10 numaralı örnekte *Prevotella* (%42), 15 numaralı örnekte *Prevotella* (%14), 18 numaralı örnekte *Prevotella* (%39), 20 numaralı örnekte *Prevotella* (%42), 21 numaralı örnekte *Prevotella* (%23), 22 numaralı örnekte *Bacteriodes* (%13), 29 numaralı örnekte *Bacteriodes* (%12), 30 numaralı örnekte *Prevotella* (%37) olduğu belirlendi (Çizelge 4.4).

Çizelge 4.4. Yeni Nesil Dizileme ile Akciğer Mikrobiyom Analizi Sonucunda Hasta Grubunda Belirlenen En Baskın Beş Bakteri Cinsi ile Kültürde İzolasyon Sonuçlarının Karşılaştırılması.

YND ile Akciğer Mikrobiyom Analizi Sonucunda Bağlı Bolluk Oranlarına Göre Bakteri Cins Sıralaması						Kültürde İzolasyon Sonucu	Kültürde İzole Edilen Bakteri Cinsinin YND'de Bağlı Bolluk Oranı
No	Birinci Sıra	İkinci Sıra	Üçüncü Sıra	Dördüncü Sıra	Beşinci Sıra		
1	Prevotella* (%27,40)	Porphyrmonas (%18,50)	Veillonella (%15,72)	Streptococcus (%7,53)	Fusobacterium (%4,62)	<i>Streptococcus spp.</i>	%7,53
2	Prevotella* (%10,79)	Lactobacillus (%10,67)	Bacteroides (%8,95)	Enterobacter (%3,48)	Faecalibacterium (%2,88)	Üreme olmadı	-
3	Prevotella* (%41,70)	Veillonella (%16,32)	Selenomonas (%10,52)	Streptococcus (%6,43)	Prevotella** (%3,99)	<i>Streptococcus spp.</i>	%6,43
4	Prevotella* (%33,25)	Veillonella (%19,54)	Neisseria (%8,91)	Selenomonas (%7,68)	Haemophilus (%5,49)	<i>Neisseria sicca</i> <i>Haemophilus spp.</i>	%8,91 %5,49
5	Prevotella* (%17,33)	Veillonella (%11,56)	Neisseria (%7,84)	Streptococcus (%5,87)	Capnocytophaga (%5,80)	<i>Neisseria sicca</i> <i>S. pneumoniae</i>	%7,84 %5,87
6	Lactobacillus (%80,48)	Prevotella* (%2,05)	Bacteroides (%1,18)	Bacillus (%0,96)	Haemophilus (%0,71)	Üreme olmadı	-
7	Prevotella* (%15,75)	Neisseria (%7,07)	Lactobacillus (%4,75)	Veillonella (%4,63)	Fusobacterium (%4,49)	<i>Neisseria spp.</i>	%7,07
8	Lactobacillus (%6,12)	Prevotella* (%5,90)	Bacteroides (%4,61)	Enterobacter (%2,85)	Faecalibacterium (%1,95)	Üreme olmadı	-
9	Prevotella* (%26,31)	Veillonella (%9,95)	Lactobacillus (%6,51)	Bacteroides (%3,33)	Neisseria (%3,17)	<i>Bacillus subtilis</i>	%2,70
10	Prevotella* (%41,82)	Veillonella (%9,48)	Campylobacter (%6,95)	Lactobacillus (%3,70)	Streptococcus (%3,61)	Üreme olmadı	-
11	Prevotella* (%24,35)	Neisseria (%16,76)	Veillonella (%10,39)	Porphyrmonas (%5,47)	Rothia (%4,11)	<i>Neisseria spp.</i>	%16,76
12	Prevotella* (%35,03)	Neisseria (%18,15)	Veillonella (%17,37)	Prevotella** (%5,54)	Leptotrichia (%4,95)	<i>Neisseria spp.</i>	%18,15
13	Prevotella* (%38,56)	Neisseria (%7,48)	Fusobacterium (%7,25)	Veillonella (%6,85)	Streptococcus (%6,67)	<i>Neisseria spp.</i> <i>Streptococcus spp.</i>	%7,48 %6,67

*Prevotellaceae ailesi, **Paraprevotellaceae ailesi

Çizelge 4.4. (Devam) Yeni Nesil Dizileme ile Akciğer Mikrobiyom Analizi Sonucunda Hasta Grubunda Belirlenen En Baskın Beş Bakteri Cinsi ile Kültürde İzolasyon Sonuçlarının Karşılaştırılması.

YND ile Akciğer Mikrobiyom Analizi Sonucunda Bağlı Bolluk Oranlarına Göre Bakteri Cins Sıralaması						Kültürde İzolasyon Sonucu	Kültürde İzole Edilen Bakteri Cinsinin YND'de Bağlı Bolluk Oranı
No	Birinci Sıra	İkinci Sıra	Üçüncü Sıra	Dördüncü Sıra	Beşinci Sıra		
14	Prevotella* (%15,51)	Veillonella (%12,30)	Haemophilus (%10,22)	Bacteroides (%5,64)	Streptococcus (%3,51)	<i>Haemophilus spp</i>	%10,22
15	Prevotella* (%13,93)	Faecalibacterium (%5,04)	Haemophilus (%4,95)	Bacteroides (%4,80)	Prevotella** (%4,01)	Üreme olmadı	-
16	Streptococcus (%40,04)	Lactobacillus (%15,90)	Prevotella* (%8,73)	Porphyromonas (%2,85)	Fusobacterium (%2,56)	<i>S. pneumoniae</i>	%40,04
17	Prevotella* (%33,71)	Prevotella** (%10,28)	Neisseria (%9,73)	Veillonella (%9,70)	Porphyromonas (%8,44)	<i>Neisseria spp.</i>	%9,73
18	Prevotella* (%38,63)	Veillonella (%15,29)	Selenomonas (%10,18)	Leptotrichia (%8,11)	Prevotella** (%3,80)	Üreme olmadı	-
19	Prevotella* (%33,82)	Veillonella (%24,16)	Selenomonas (%10,61)	Prevotella** (%4,53)	Haemophilus (%3,58)	<i>Haemophilus spp.</i> <i>Streptococcus spp.</i>	%3,58 %3,20
20	Prevotella* (%41,99)	Veillonella (%20,45)	Selenomonas (%9,39)	Prevotella** (%3,88)	Streptococcus (%1,19)	Üreme olmadı	-
21	Prevotella* (%22,28)	Veillonella (%17,28)	Porphyromonas (%6,48)	Fusobacterium (%5,45)	Capnocytophaga (%3,83)	Üreme olmadı	-
22	Bacteroides (%12,31)	Prevotella* (%10,88)	Faecalibacterium (%8,08)	Ruminococcus (%3,81)	Lactococcus (%3,66)	Üreme olmadı	-
23	Prevotella* (%23,56)	Veillonella (%17,51)	Neisseria (%8,57)	Prevotella** (%8,39)	Actinobacillus (%7,43)	<i>Neisseria spp.</i>	%8,57
24	Prevotella* (%24,57)	Bacteroides (%10,22)	Faecalibacterium (%5,50)	Veillonella (%3,74)	Lactococcus (%2,47)	<i>S. pneumoniae</i>	%1,80
25	Prevotella* (%20,80)	Actinobacillus (%14,53)	Veillonella (%9,98)	Streptococcus (%7,97)	Haemophilus (%5,61)	<i>Streptococcus spp.</i>	%7,97
26	Prevotella* (%15,17)	Veillonella (%8,73)	Selenomonas (%7,99)	Capnocytophaga (%7,48)	Porphyromonas (%7,17)	<i>Neisseria spp.</i> <i>Haemophilus spp.</i>	%6,60 %5,40

*Prevotellaceae ailesi, **Paraprevotellaceae ailesi

Çizelge 4.4. (Devam) Yeni Nesil Dizileme ile Akciğer Mikrobiyom Analizi Sonucunda Hasta Grubunda Belirlenen En Baskın Beş Bakteri Cinsi ile Kültürde İzolasyon Sonuçlarının Karşılaştırılması.

YND ile Akciğer Mikrobiyom Analizi Sonucunda Bağlı Bolluk Oranlarına Göre Bakteri Cins Sıralaması						Kültürde İzolasyon Sonucu	Kültürde İzole Edilen Bakteri Cinsinin YND'de Bağlı Bolluk Oranı
No	Birinci Sıra	İkinci Sıra	Üçüncü Sıra	Dördüncü Sıra	Beşinci Sıra		
27	-	-	-	-	-	<i>Bacillus subtilis</i>	-
28	Prevotella* (%31,15)	Veillonella (%17,35)	Neisseria (%8,75)	Prevotella** (%6,12)	Porphyromonas (%4,70)	<i>Neisseria sicca</i>	%8,75
29	Bacteroides (%11,52)	Prevotella* (%10,56)	Faecalibacterium (%7,11)	Lactococcus (%3,33)	Lactobacillaceae (%2,70)	Üreme olmadı	-
30	Prevotella* (%36,95)	Veillonella (%19,20)	Selenomonas (%8,57)	Streptococcus (%3,20)	Actinomyces (%2,87)	Üreme olmadı	-
31	Prevotella* (%30,71)	Veillonella (%11,90)	Fusobacterium (%10,35)	Porphyromonas (%9,26)	Streptococcus (%6,69)	<i>Streptococcus spp.</i>	%6,96

*Prevotellaceae ailesi, **Paraprevotellaceae ailesi

Yeni nesil dizileme ile mikrobiyom içerisindeki cins dağılımlarını değerlendirmemiz sonucunda; ortalama bazında kontrol grubunda en yüksek okuma alınan 5 bakteri cinsinin *Prevotella* (%26,4), *Veillonella* (%8,6), *Lactobacillus* (%5,1), *Streptococcus* (%3,4), *Campylobacter* (%3,0) olduğu tespit edildi. Kontrol grubunda, kültürde üreme gözlenenmeyen örnekleri Yeni Nesil Dizileme Analizi ile değerlendirdiğimizde en sık tespit edilen cinslerin 7 numaralı örnekte *Prevotella* (%29), 10 numaralı örnekte *Prevotella* (%46) olduğu raporlandı (Çizelge 4.5).

Hasta ve kontrol gruplarına ait 44 örneğin ortalaması alındığında, en yüksek okuma alınan 5 bakteri cinsi sırasıyla; %24,5 *Prevotella*, %9,7 *Veillonella*, %4,8 *Lactobacillus*, %4,1 *Streptococcus*, %3,4 *Neisseria* olarak tespit edildi. Fakat hasta ve kontrol grubu arasında bu mikroorganizma cinsleri için istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı.

Hasta grubu ile kontrol grubunun karşılaştırılması sonucunda; hasta grubunda *Lactococcus* ($p \leq 0.001$), *Pediococcus* ($p = 0.007$), *Anaerobacillus* ($p = 0.002$) ve *Friedmanniella* ($p = 0.006$) cinsi bakterilerin, kontrol grubunda ise *Helicobacter* ($p = 0.009$), *Enterobacter* ($p \leq 0.001$) ve *Vibrio* ($p = 0.004$) dahil olmak üzere 24 bakteri cinsinin istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunduğu tespit edildi (Çizelge 4.6).

Hasta grubunda akciğer kanserine eşlik eden ek hastalığı olan bireyler ile kontrol grubunun karşılaştırılması sonucunda; diabetes mellitus gibi sistemik hastalıkların akciğer kanserine eşlik ettiği hastalarda *Lactococcus* ($p = 0.001$), *Anaerobacillus* ($p = 0.003$) ve *Friedmanniella* ($p = 0.005$) cinsi bakterilerin, kontrol grubunda ise *Acetobacter* ($p \leq 0.001$) cinsi bakterilerin istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek olduğu tespit edildi (Çizelge 4.7).

Hasta grubunda akciğer kanserine eşlik eden ek hastalığı olmayan bireyler ile kontrol grubunun karşılaştırılması sonucunda; Ek hastalığı olmayan akciğer kanserli hasta grubunda *Burkholderia* ($p = 0.006$), *Lactococcus* ($p = 0.002$), *Pediococcus* ($p = 0.007$) ve *Anaerobacillus* ($p = 0.005$) cinsi bakterilerin, kontrol grubunda ise *Enterobacter* ($p \leq 0.001$) ve *Vibrio* ($p = 0.004$) dahil olmak üzere 27 bakteri cinsinin istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek olduğu tespit edildi (Çizelge 4.8).

Çizelge 4.5. Yeni Nesil Dizileme ile Akciğer Mikrobiyom Analizi Sonucunda Kontrol Grubunda Belirlenen En Baskın Beş Bakteri Cinsi ile Kültürde İzolasyon Sonuçlarının Karşılaştırılması.

YND ile Akciğer Mikrobiyom Analizi Sonucunda Bağlı Bolluk Oranlarına Göre Bakteri Cins Sıralaması						Kültürde İzolasyon Sonucu	Kültürde İzole Edilen Bakteri Cinsinin YND'de Bağlı Bolluk Oranı
No	Birinci Sıra	İkinci Sıra	Üçüncü Sıra	Dördüncü Sıra	Beşinci Sıra		
1	Prevotella* (%17,73)	Lactobacillus (%17,38)	Bacteroides (%3,05)	Streptococcus (%2,68)	Veillonella (%2,58)	<i>S. aureus</i>	%1,1
2	Prevotella* (%28,18)	Neisseria (%10,75)	Veillonella (%7,95)	Porphyromonas (%7,56)	Prevotella** (%7,55)	<i>Neisseria sicca</i>	%10,75
3	Prevotella* (%39,89)	Veillonella (%28,01)	Haemophilus (%3,67)	Streptococcus (%3,55)	Fusobacterium (%3,51)	<i>Haemophilus spp.</i>	%3,67
4	Prevotella* (%22,17)	Lactobacillus (%6,41)	Neisseria (%5,55)	Bacteroides (%4,31)	Haemophilus (%3,73)	<i>Haemophilus spp.</i>	%3,73
5	Lactobacillus (%16,35)	Prevotella (%10,77)	Bacillus (%6,72)	Bacteroides (%6,42)	Streptococcus (%3,13)	<i>Bacillus subtilis</i>	%6,72
6	Prevotella* (%37,96)	Veillonella (%24,83)	Campylobacter (%7,01)	Streptococcus (%3,85)	Porphyromonas (%3,13)	<i>Streptococcus spp.</i>	%3,85
7	Prevotella* (%28,10)	Campylobacter (%16,92)	Selenomonas (%16,19)	Veillonella (%9,44)	Prevotella** (%5,66)	Üreme olmadı	-
8	Prevotella* (%40,48)	Veillonella (%13,09)	Selenomonas (%11,61)	Haemophilus (%4,23)	Prevotella** (%3,46)	<i>Haemophilus spp.</i>	%4,23
9	Pseudomonas (%16,21)	Streptococcus (%7,38)	Lactobacillus (%0,95)	Prevotella (%0,76)	Bacteroides (%0,47)	<i>S. pneumoniae</i>	%7,38
10	Prevotella* (%45,27)	Actinomyces (%8,28)	Veillonella (%6,35)	Prevotella** (%4,78)	Campylobacter (%4,47)	Üreme olmadı	-
11	Prevotella* (%31,40)	Porphyromonas (%14,04)	Veillonella (%7,76)	Fusobacterium (%5,61)	Prevotella** (%3,27)	<i>Neisseria sicca</i>	%2,40
12	Prevotella* (%31,21)	Veillonella (%9,24)	Lactobacillus (%6,18)	Streptococcus (%4,16)	Bacteroides (%4,12)	<i>Streptococcus spp.</i>	%4,16
13	Lactobacillus (%12,85)	Prevotella (%9,58)	Bacteroides (%5,45)	Faecalibacterium (%3,45)	Bacillus (%3,17)	<i>Staphylococcus spp.</i>	%1,60

*Prevotellaceae ailesi, **Paraprevotellaceae ailesi

Çizelge 4.6. Hasta grubu ile Kontrol grubunun karşılaştırılması sonucunda istatistiksel olarak anlamlı derecede baskın olan cinslerin dağılımı

Grup	Baskın Cinsler	p Değeri
Kontrol	<i>Helicobacter</i>	0.009
	<i>Enterobacter</i>	p≤0.001
	<i>Vibrio</i>	0.004
	<i>Candidatus Microthrix</i>	0.009
	<i>Microbacterium</i>	0.003
	<i>Salinibacterium</i>	0.002
	<i>Arthrobacter</i>	0.001
	<i>Rubrobacter</i>	0.004
	<i>Olivibacter</i>	0.004
	<i>Anaerolinea</i>	0.008
	<i>Sporosarcina</i>	0.002
	<i>Granulicatella</i>	0.002
	<i>Caldicoprobacter</i>	p≤0.001
	<i>Alkaliphilus</i>	0.001
	<i>Ethanoligenens</i>	p≤0.001
	<i>Syntrophomonas</i>	0.004
	<i>Gallicola</i>	0.002
	<i>Tepidimicrobium</i>	0.005
	<i>Sharpea</i>	0.002
	<i>Pirellula</i>	0.003
	<i>Rhodoplanes</i>	0.007
	<i>Acetobacter</i>	p≤0.001
	<i>Marinicella</i>	0.008
	<i>Anaeroplasma</i>	0.009
Hasta	<i>Lactococcus</i>	p≤0.001
	<i>Pediococcus</i>	0.007
	<i>Anaerobacillus</i>	0.002
	<i>Friedmanniella</i>	0.006

Çizelge 4.7. Hasta grubunda akciğer kanserine eşlik eden ek hastalığı olan bireyler ile kontrol grubunun karşılaştırılması sonucunda istatistiksel olarak anlamlı derecede baskın olan cinslerin dağılımı

Grup	Baskın Cinsler	p Değeri
Kontrol	<i>Acetobacter</i>	p≤0.001
Hasta	<i>Anaerobacillus</i>	0.003
	<i>Friedmanniella</i>	0.005
	<i>Lactococcus</i>	0.001

Çizelge 4.8. Hasta grubunda akciğer kanserine eşlik eden ek hastalığı olmayan bireyler ile kontrol grubunun karşılaştırılması sonucunda istatistiksel olarak anlamlı derecede baskın olan cinslerin dağılımı

Grup	Baskın Cinsler	p Değeri
Kontrol	<i>Enterobacter</i>	$p \leq 0.001$
	<i>Vibrio</i>	0.002
	<i>Rikenella</i>	0.006
	<i>Halorhabdus</i>	0.005
	<i>Microbacterium</i>	0.004
	<i>Salinibacterium</i>	0.003
	<i>Arthrobacter</i>	0.001
	<i>Kribbella</i>	0.007
	<i>Rubrobacter</i>	0.005
	<i>Paludibacter</i>	0.008
	<i>Olivibacter</i>	0.004
	<i>Salinibacter</i>	0.007
	<i>Anaerolinea</i>	0.008
	<i>Paenibacillus</i>	0.008
	<i>Sporosarcina</i>	0.002
	<i>Granulicatella</i>	0.004
	<i>Caldicoprobacter</i>	$p \leq 0.001$
	<i>Alkaliphilus</i>	0.001
	<i>Ethanoligenens</i>	$p \leq 0.001$
	<i>Syntrophomonas</i>	0.004
	<i>Gallicola</i>	0.003
	<i>Tepidimicrobium</i>	0.006
	<i>Sharpea</i>	0.002
	<i>Acetobacter</i>	0.009
	<i>Janthinobacterium</i>	0.005
	<i>Pseudoalteromonas</i>	0.004
	<i>Anaeroplasma</i>	0.007
Hasta	<i>Burkholderia</i>	0.006
	<i>Lactococcus</i>	0.002
	<i>Pediococcus</i>	0.007
	<i>Anaerobacillus</i>	0.005

Hasta grubunda akciğer kanserine eşlik eden ek hastalığı olan bireyler ile eşlik eden ek hastalığı olmayan bireylerin karşılaştırılması sonucunda; eşlik eden ek hastalığı olan akciğer kanserli hastalar ile *Morgenalla* ($p=0.009$), *Scardovia* ($p \leq 0.001$), *Janthinobacterium* ($p=0.003$), *Desulfobulbus* ($p=0.002$) cinsi bakterilerin istatistiksel olarak anlamlı derecede ilişkili bulunduğu tespit edildi (Çizelge 4.9).

Çizelge 4.9. Hasta grubunda akciğer kanserine eşlik eden ek hastalığı olan bireyler ile hasta grubunda akciğer kanserine eşlik eden ek hastalığı olmayan bireylerin karşılaştırılması sonucunda istatistiksel olarak anlamlı derecede baskın olan cinslerin dağılımı

Grup	Baskın Cinsler	p Değeri
Ek hastalığı olan bireyler	<i>Scardovia</i>	$p \leq 0.001$
	<i>Morganella</i>	0.009
	<i>Janthinobacterium</i>	0.003
	<i>Desulfobulbus</i>	0.002
Ek hastalığı olmayan bireyler	-	-

Hasta grubunda sigara içen bireyler ile sigara içmeyen bireylerin karşılaştırılması sonucunda; sigara içmeyen akciğer kanserli hastalar ile *Streptococcus* ($p=0.005$), *Peptostreptococcus* ($p=0.007$) ve *Fusobacterium* (0.002) dahil olmak üzere 9 bakteri cinsinin istatistiksel olarak anlamlı derecede ilişkili bulunduğu tespit edildi (Çizelge 4.10).

Çizelge 4.10. Hasta grubunda sigara içen bireyler ile hasta grubunda sigara içmeyen bireylerin karşılaştırılması sonucunda istatistiksel olarak anlamlı derecede baskın olan cinslerin dağılımı

Grup	Baskın Cinsler	p Değeri
Sigara içmeyen bireyler	<i>Streptococcus</i>	0.005
	<i>Peptostreptococcus</i>	0.007
	<i>Fusobacterium</i>	0.002
	<i>Paludibacter</i>	$p \leq 0.001$
	<i>Gemella</i>	0.001
	<i>Granulicatella</i>	0.004
	<i>Megamonas</i>	0.002
	<i>Peptoniphilus</i>	0.008
	<i>Lautropia</i>	0.007
Sigara içen bireyler	-	-

5. TARTIŞMA

Çok sayıdaki kanser araştırmaları sonucunda kanser etyopatogenezinin sorumlu potansiyel faktörlerin açık olarak tanımlanması ve moleküler mekanizmalarının tespit edilerek bunların terapötik hedef olarak kullanılması ile sağkalım oranında başarılar elde edilmiş ve sürveyans uzatılabilmiş olsa da, kanser hala tamamen tedavi edilebilir bir hastalık haline getirilememiştir^{2,3}. Günümüzde özellikle yüksek morbidite ve mortaliteye sebep olan kolon ve akciğer kanserlerinin bağırsağa ya da alt solunum yollarına yerleşmiş mikroorganizmalarla ilişkisi merak edilmektedir. Son yıllarda yeni nesil dizileme yönteminin kullanıma girmesiyle, mikrobiyotanın karsinogenezdeki muhtemel rolünü anlamaya yönelik araştırmalar hız kazanmıştır. Genellikle, bağırsak mikrobiyotasının gerek insan sağlığına genel etkisi gerekse de kolon kanseri başta olmak üzere gastrointestinal kanserlere lokal etkisi üzerinde odaklanılmıştır. Ancak, akciğer kanserleri üzerine akciğer mikrobiyotasının lokal etkisini araştıran çok az sayıda çalışma^{2,9,28-34,43} bulunması sebebiyle, bu muhtemel ilişkiyi belirlemeyi hedeflediğimiz çalışmamızda BAL örneklerinde metagenomik DNA analiziyle akciğer mikrobiyomunu incelemekle beraber konvansiyonel kültür yöntemleriyle alt solunum yollarındaki muhtemel bakteri kolonizasyonunu da tespit etmeye çalıştık. Her ne kadar örnek sayımız çok yeterli olmasa da, kanserli hasta grubu ile kontrol grubu arasındaki karşılaştırmaya ek olarak hasta grubu içerisinde ek hastalık bulunmasını ve sigara kullanımını da dikkate alarak farklı gruplar arasında değerlendirmeler yapıldı ve istatistiksel olarak anlamlı sonuçlar elde edildi.

Yapılan çalışmalarda bronkoalveolar sıvıların akciğer mikrobiyotasını yansıtan en değerli örnek olduğu belirtilmekte, böylece akciğer kanserli hastalar ile sağlıklı bireyler arasındaki bakteriyel çeşitliliğin tespit edilerek akciğer kanseri gelişiminin önceden tahmin edilebileceği öngörülmektedir¹⁹. Bu sebeple, bizim çalışmamızda da bronkoalveolar lavaj örnekleri kullanıldı. Yakın tarihli birçok çalışmada akciğer kanserli hastaların akciğerlerinde sağlıklı bireylere göre daha az bakteri çeşitliliğine sahip olduğu gösterilmiş olsa da^{40,120,121,179}, çalışmamızda farklı olarak hasta ve kontrol grubunda sırasıyla 37 ve 40 şube, 92 ve 97 sınıf, 185 ve 180 takım, 360 ve 337 aile, 774 ve 697 cins belirlenmiştir. Ancak, hasta grubumuzdaki mikrobiyal çeşitliliğin fazla bulunması birey sayısının kontrol grubundakinden çok fazla olmasından da

kaynaklanmış olabilir. Diğer taraftan, BAL örneklerini bizden farklı olarak tek taraflı kitleleri olan akciğer kanseri tanısı almış hastaların hem kanserli hem de sağlıklı akciğer loblarından alarak karşılaştıran Zhuo ve arkadaşları çalışmamızı destekler şekilde kanserli ve sağlıklı akciğerlerde sırasıyla 46 ve 43 şube, 123 ve 112 sınıf, 177 ve 158 takım, 342 ve 313 aile, 690 ve 631 cins belirlemişlerdir.

Bazı bakterilerin kanser dahil olmak üzere bulaşıcı olmayan birçok hastalığın etyopatogenezinde rol oynayabileceği, özellikle alt solunum yollarına yerleşen bakterilerin akciğer kanser gelişimi ile yakın bir ilişki içinde olduğu bilinmektedir. Akciğer mikrobiyotasının, yaşam tarzı, kirlilik, tütün kullanımı gibi çeşitli faktörler ile ilişkili olduğu ve bu faktörlerin mikrobiyota kompozisyonunu da değiştirebileceği göz önünde bulundurulmalıdır^{55,119,120}. Hosgood ve ark.¹¹⁹ ile Liu ve ark.¹²⁰ yapmış oldukları çalışmalarda sigara kullanımının akciğerdeki bakteri çeşitliliğini azalttığını belirtmişlerdir. Bu da sigara kullanımının disbiyoz ile sonuçlandığını, dolayısıyla akciğer sağlığının sürdürülebilmesini önemli ölçüde engellediğini akla getirmektedir. Benzer şekilde çalışmamızda da, akciğer kanserli hasta grubunda sigara kullananlarda 528, aktif olarak sigara kullanmayanlarda ise 724 olmak üzere toplam 774 bakteri cinsi tespit edilmiştir. Sigara kullanan akciğer kanserli hastalarda 246 bakteri cinsi tespit edilememiştir. Her ne kadar sonuçlarımız literatürle uyumlu olsa da, aktif sigara kullanmama kriteri olarak son 3 aydır sigara kullanmıyor olmayı uyguladığımızdan, bu sürenin mikrobiyota şekillenmesini ne kadar etkilediği bilinmemektedir. Sigara alışkanlığının tam olarak bırakıldığını söyleyebilmek için beklenen süre her ne kadar klinisyenlerce 1 yıl olarak kabul görse de, bırakan kişilerde 2-3 hafta ile 3 ay arasında bir sürede solunum yollarını temizleme görevlerini üstlenen öksürme refleksinin ve silyanın onarımı tamamlanmakta, nikotin yoksunluk belirtileri yok olmaktadır. Böylece, mikrobiyotanın şekillenmesinde aktif sigara kullanmama kriterinin de kesin olmaması sebebiyle, bu çalışmada bu kriter için 3 aylık sürenin yeterli olabileceğini düşündük. Mikrobiyal çeşitliliğin sigara kullanımı ile ilişkisini daha doğru belirleyebilmek için sigara kullanımının uygun bir şekilde derecelendirildiği daha geniş popülasyonlu çalışmalara ihtiyaç olduğu açıktır.

Liu ve arkadaşlarının Çin’de 2018 yılında, tek taraflı kitleleri olan akciğer kanserli hastaların ve sağlıklı kontrol bireylerinin alt solunum yolu mikrobiyomunu karşılaştırmayı amaçlamışlardır. Tek taraflı kitleleri olan 24 akciğer kanseri hastasından

ve 18 sağlıklı kontrol bireyinden bronkoskopi sonrası korunmuş fırça örnekleri toplamışlardır. Örnekleri 16S rRNA tabanlı yeni nesil dizileme yöntemi ile analiz etmişlerdir. Sonuç olarak, akciğer kanserli hastaların, kontrol grubundaki bireylere nazaran daha az mikrobiyal çeşitliliğe sahip olduğunu tespit etmişlerdir. Akciğer kanserli hastalarda, *Streptococcus* cinsi bakterileri, kontrol grubunda ise *Staphylococcus* cinsi bakterileri anlamlı derecede yüksek bulmuşlardır⁴⁰. Wang ve arkadaşları 2019 yılında Çin’de yaptıkları çalışmada akciğer kanserli hastaların tükürük ve BAL örneklerinde mikroorganizma çeşitliliğini araştırmışlardır. Bronkojenik karsinomlu 51 hastadan ve 15 sağlıklı kontrolden tükürük ve BAL örnekleri toplamışlardır. Örneklerden DNA ekstraksiyonu sonrası 16S rRNA amplikon dizilimi yapmışlardır. Akciğer kanserli hastaların hem tükürük hem de BAL örneklerinde sağlıklı kontrollerden daha düşük mikrobiyal çeşitliliğe sahip olduğunu tespit etmişlerdir. *Treponema* ve *Filifactor* cinsi bakterilerin BAL örneklerinde potansiyel biyobelirteçler olarak kullanılabileceği sonucuna varmışlardır¹⁷⁹. Lee ve arkadaşlarının 2016 yılında Kore’de yaptıkları çalışmada, 20 akciğer kanseri hastasından ve 8 sağlıklı kontrol bireyinden BAL örneği almışlardır. Örnekleri 16S rRNA tabanlı yeni nesil dizileme yöntemi ile analiz etmişlerdir. Akciğer kanserli hastalarda, *Veillonella* ve *Megasphaera* cinsi bakterileri, anlamlı derecede yüksek bulmuşlardır¹²¹. Görüldüğü gibi her üç çalışmada da konvansiyonel kültür yöntemleri ile inceleme yapılmamıştır. Ayrıca çalışmamızda, hasta ve kontrol grubu arasında *Streptococcus*, *Staphylococcus*, *Treponema* ve *Filifactor* cinsi bakteriler için istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır.

Apopa ve arkadaşlarının 2018 yılında Güney Kore’de yapmış oldukları çalışmada, adenokarsinomu tanısı alan hastaların akciğer mikrobiyotalarını, küçük hücreli olmayan akciğer kanseri tanısı alan ve skuamöz hücreli karsinom tanısı alan hastaların akciğer mikrobiyotalarıyla kıyaslamışlardır. Adenokarsinomlu hastalardan 11, skuamöz hücreli karsinomu olan hastalardan 10 ve 8 normal dokudan biyopsi örneği almışlardır. Örnekleri 16S rRNA tabanlı yeni nesil dizileme yöntemi ile analiz etmişlerdir. Adenokarsinomu olan hastalarda Cyanobacteria şubesinin, skuamöz hücreli karsinomu olan hastalarda Acidobacteria şubesinin istatistiksel olarak anlamlı derecede fazla bulunduğunu, bakteri cinslerinin %90’ından fazlasının Actinobacteria, Proteobacteria ve Bacterioidetes şubesine ait olduklarını tespit etmişlerdir²¹.

Çalışmamızda ise hasta grubuna ait bakteri cinslerinin %80'inden fazlasının *Firmicutes*, *Bacteroidetes*, ve *Proteobacteria* şubelerine ait oldukları tespit edilmiştir.

Akciğer kanserli hastalarda akciğer mikrobiyotası ile yapılan çalışmalarda kontrol grubu bireylere kıyasla *Granulicatella*, *Abiotrophia*, *Streptococcus*, *Veillonella*, *Megasphaera*, *Treponema* ve *Filifactor* cinsi bakterilerin istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulundukları tespit edilmiştir^{40,55,119-122,180}. Çalışmamızda yeni nesil dizileme ile mikrobiyom analizinde *Abiotrophia*, *Megasphaera*, *Treponema* ve *Filifactor* cinsi bakterilerin çok düşük okuma oranlarına sahip olduğu bulunmuştur. *Granulicatella* cinsi bakteriler kontrol grubunda istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. *Streptococcus* ve *Veillonella* cinsi bakteriler ise hasta grubunda daha yüksek okuma oranlarına sahip olsalar da kontrol grubu ile arasında bu bakteri cinsleri için anlamlı bir fark bulunmamıştır.

Druzhinin ve arkadaşları 2020 yılında yapmış oldukları çalışmada, akciğer kanserli hastaların akciğer mikrobiyotasını belirlemeyi amaçlamışlardır. Yeni tanı almış 17 akciğer kanseri hastadan ve 17 kontrol bireyinden balgam örnekleri almışlardır. Örnekleri 16S rRNA dizilemesiyle analiz etmişlerdir. *Streptococcus*, *Prevotella*, *Veillonella*, *Campylobacter*, *Neisseria* ve *Lactobacillus* dahil olmak üzere 48 bakteri cinsini her iki grupta tespit etmişlerdir. *Pediococcus* dahil olmak üzere 6 bakteri cinsini yalnız hasta grubunda, *Corynebacterium* ve *Scardovia* dahil olmak üzere 12 bakteri cinsini ise yalnız kontrol grubunda tespit etmişlerdir¹⁸⁰. Çalışmamızda ise yeni nesil dizileme ile mikrobiyom analizinde 628 bakteri cinsi her iki grupta, 146 bakteri cinsi yalnız hasta grubunda, 69 bakteri cinsi ise yalnız kontrol grubunda tespit edilmiştir.

Mikrobiyota araştırmalarında yeni nesil dizileme yöntemlerinin çeşitliliği konvansiyonel yöntemlere göre çok daha hassas sunduğu ortaya konulmuştur^{181,182}. Standart kültür yöntemleri ile tüm mikrobiyal türlerin %1'den azının laboratuvar ortamlarında kolaylıkla izole edilebildiği bilinmektedir¹⁷³. Buna sebep olarak çevrede bulunan birçok mikroorganizma türü için uygun kültürleme yönteminin kullanılmaması düşünülebilir. Öyle ki, mikroorganizmaların kültür ortamında üretmek için yeterli sayıda olmaması ya da uygun kültür şartlarının oluşturulamaması gibi sebepler ile kültürleme sonucunda elde edilen verilerin mikrobiyotayı yorumlamak için yeterli olmadığı kabul görmeye başlamıştır. Ayrıca, YND ile akciğer mikrobiyomu analizinde

beklenenin üzerinde bağırsak bakterilerine ait DNA tespit edilmesi “bağırsak-akciğer eksenini” adı verilen organlararası etkileşim sebebiyle olabilir. Bu durum bakterilerin bozulmadan bir bütün olarak ya da fragmanlarının mezenterik lenfatik sistem yoluyla intestinal bariyeri aşarak sistemik kan dolaşımına ulaşması sonucunda bağırsak ve akciğer arasında geçiş yapması şeklinde açıklanmaktadır²⁸⁻³⁴. Her ne kadar yeni nesil dizileme yöntemleri ile son yıllarda yüzlerce yeni bakteri cinsi tespit edilmiş olsa da, bakteriler tür düzeyinde ayırt edilememektedir. Sonuç olarak, yeni nesil dizileme yöntemleriyle mikrobiyota analizlerinin uygun kültür yöntemleri ile desteklenmesinin elde edilen sonuçları daha geçerli kılacağı kanaatindeyiz.

Çalışmamızda kültürde izolasyonu YND ile mikrobiyom analizinden önce yaptığımızdan ve dünyada da akciğer mikrobiyom analizi ile ilgili az sayıda çalışma yapıldığından ötürü kanlı ve endo besiyerlerine ek olarak adi agar, çikolatamsı agar ve LJ besiyerlerini de kullandık. Buna rağmen mikrobiyom analizi sonuçlarımızla kültürde izolasyon sonuçlarımız çok da uyumlu çıkmadı. Çalışmamızda, kültürde hasta grubunda *Neisseria* (%32,3) ve *Streptococcus* (%29) cinsi bakteriler, kontrol grubunda da *Haemophilus* (%32,3), *Streptococcus* (%32,3) cinsi bakteriler baskın olarak izole edilmişken, YND ile mikrobiyom analizinde her iki grupta da *Prevotella* ve *Veillonella* gibi anaerob bakteri cinslerinin baskın olduğu tespit edilmiştir. Çalışmamızda anaerob kültür gibi özel kültür yöntemleri kullanılmadığı için, bu bakterilerin mikrobiyota içerisinde gerçekten yer alıp almadığı kanıtlanmasa da, alt solunum yollarından izole edilebildiklerini bildiren çalışmalar mevcuttur. Rybojad ve arkadaşlarının akciğer kanserli hastaların alt solunum yollarında kolonize olan anaerob bakterileri yalnızca anaerob kültür yöntemiyle araştırdıkları, moleküler yöntem kullanmadıkları çalışmada hastaların 16 (%53.3)’sında birden fazla anaerob bakteri türü izole etmişlerdir. En sık izole ettikleri cins *Actinomyces* ve *Peptostreptococcus* olsa da, *Veillonella*, *Prevotella*, *Lactobacillus* ve *Bacteroides* cinsi bakterileri de izole etmişlerdir¹⁸³. Bu bilgiler ışığında mikrobiyotayı belirlemek için yapılacak çalışmalarda anaerob kültür yöntemlerinin de eklenmesi ile daha kesin değerlendirme yapılabileceği görülmektedir.

Bağırsak-akciğer eksenini üzerine yapılan araştırmalarda mantarlar ile bakteriler arasında da kritik etkileşimlerin olduğu ve bu etkileşimlerin de akciğer kanseri gelişiminde rol oynayabileceği gösterilmiştir^{28,29,31}. Bu mikroorganizmalar homeostazis gibi fizyolojik durumlarda ve hastalıkta birbirlerinin fonksiyonlarını üstlenip immünite

modülasyonu ile doku hasarını engelleyebilmekte ve bağırsak ile akciğer arasında iki yönlü geçiş yapabilmektedirler. İn vitro çalışmalarda *Candida* tarafından *Streptococcus* çoğalmasının uyarılması ve biyofilm oluşumunun artırılması veya *Streptococcus* tarafından *Candida* patojenitesinin artırılması gibi sinerjistik etkileşimler iki tür arasında tespit edilmiştir^{28,29,31}. Bu sebeplerle, mantarların da bakteriler ile birlikte akciğer mikrobiyota kompozisyonunun değişmesine katkıda bulunabileceği düşünülmektedir. Biz YND ile mikrobiyom analizinde yalnızca bakteri mikrobiyomunu tespit ettiğimiz için, kültürle de bakteri izolasyonu ve identifikasyonu yaptık. Ancak mantar mikrobiyomu ve kültürünün de bakteriler ile birlikte araştırılmasının bundan sonraki çalışmalara güç katacağını düşününmekteyiz.

Bağırsak mikrobiyotasının karsinogenez süreçleriyle birlikte kanser tedavisi aşamalarındaki rolünü inceleyen çalışmalarda, mikrobiyotanın tümör mikroçevresindeki myeloid kökenli hücreler aracılığı ile kemoterapi ve immünoterapi gibi çeşitli antikanser tedavi modellerine verilen yanıtı etkilediği gösterilmiştir^{24,106,123,124}. Bu araştırmalar kanser tedavilerine yanıt ve toksisitenin bireye özgü olmasının bağırsak mikrobiyotası ile ilişkisini destekler niteliktedir. Akciğer kanserli hastalarda kemoterapi ve ICI gibi kanser tedavisi sonrası bağırsak mikrobiyotasını inceleyen az sayıdaki çalışmalarda da aynı sonuca varılmıştır^{184,185}. Bunlara ek olarak bağırsak-akciğer ekseninin akciğer kanseri üzerine olan etkileri de göz önüne alındığında, akciğer ve bağırsak mikrobiyotalarının birlikte incelenmesinin bu kanserlerin önlenmesinde ve tedavi etkinliğinin sağlanmasında anahtar rol oynayacağı kanaatindeyiz.

6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Balcalı Hastanesi Göğüs Hastalıkları Polikliniğine 2019 Aralık – 2020 Ekim tarihleri arasında başvuran ve klinik olarak akciğer kanseri tanısı almış hastalarda akciğer mikrobiyotasının rolünü anlamayı amaçladığımız çalışmamızın sonucunda;

1. Konvansiyonel kültür yöntemleri ile; akciğer kanserli 31 hastanın %64.5'inden, pulmoner nodülü olan fakat akciğer kanser tanısı almayan 13 kontrol bireyin ise %84.6'sından çeşitli bakteriler izole edildiği,
2. Akciğer kanserli hastalarda en sık *Neisseria* spp. (hastaların %32,3'ünde) ve *Streptococcus* spp. (hastaların %29,0'ında) izole edilirken, kontrol bireylerde ise en sık izole edilen cinslerin her ikisinde de izolasyon oranı %23,1 olmak üzere *Haemophilus* ve *Streptococcus* olduğu,
3. Gerek kültür gerekse yeni nesil dizileme yöntemi ile hiçbir BAL örneğinde mikobakteri tespit edilemediği,
4. Mikrobiyom çeşitliliğinin şube ve sınıf düzeylerinde kontrol grubunda daha yüksek bulunmasına karşılık takım, aile ve cins düzeylerinde hasta grubunda daha yüksek bulunduğu,
5. Hasta grubunda mikrobiyom çeşitliliğinin şube ve cins düzeylerinde aktif olarak sigara kullanmayan bireylerde aktif olarak sigara kullanan bireylere göre daha yüksek bulunduğu, ayrıca eşlik eden ek hastalığı olmayan bireylerde eşlik eden ek hastalığı olan bireylere göre daha yüksek bulunduğu,
6. Yeni nesil dizileme ile mikrobiyom içerisindeki şube dağılımlarını değerlendirmemiz sonucunda; ortalama bazında akciğer kanserli hasta grubunda en yüksek okuma alınan 5 bakteri şubesinin *Firmicutes* (%37,0), *Bacteroides* (%33,8), *Proteobacteria* (%11,1), *Fusobacteria* (%4,0) ve *Actinobacteria* (%1,8) olduğu, kontrol grubunda da aynı şubelerin ilk 5 sırada yer aldığı, sıralamanın ise *Bacteroides* (%35,2), *Firmicutes* (%33,6), *Proteobacteria* (%12,3), *Actinobacteria* (%3,4) ve *Fusobacteria* (%3,2) şeklinde olduğu,
7. Yeni nesil dizileme ile mikrobiyom içerisindeki cins dağılımlarını değerlendirmemiz sonucunda; ortalama bazında akciğer kanserli hasta grubunda

en yüksek okuma alınan 5 bakteri cinsinin *Prevotella* (%22,6), *Veillonella* (%10,8), *Lactobacillus* (%4,5), *Streptococcus* (%4,8), *Neisseria* (%4,7) olduğu, kontrol grubunda ise *Prevotella* (%26,4), *Veillonella* (%8,6), *Lactobacillus* (%5,1), *Streptococcus* (%3,4), *Campylobacter* (%3,0) olduğu görüldü.

Ayrıca, grup karşılaştırmalarında elde edilen verilerin istatistiksel olarak değerlendirilmesi sonucunda;

8. Hasta grubu ile kontrol grubunun karşılaştırılmasında; hasta grubunda *Lactococcus*, *Pediococcus*, *Anaerobacillus* ve *Friedmanniella* cinsi bakterilerin, kontrol grubunda ise *Helicobacter*, *Enterobacter* ve *Vibrio* dahil olmak üzere 24 bakteri cinsinin anlamlı derecede yüksek bulunduğu,
9. Hasta grubunda akciğer kanserine eşlik eden ek hastalığı olan bireyler ile kontrol grubunun karşılaştırılması sonucunda; diabetes mellitus gibi sistemik hastalıkların akciğer kanserine eşlik ettiği hastalarda *Lactococcus*, *Anaerobacillus* ve *Friedmanniella* cinsi bakterilerin, kontrol grubunda ise *Acetobacter* cinsi bakterilerin anlamlı derecede yüksek olduğu,
10. Hasta grubunda akciğer kanserine eşlik eden ek hastalığı olmayan bireyler ile kontrol grubunun karşılaştırılması sonucunda; Ek hastalığı olmayan akciğer kanserli hasta grubunda *Burkholderia*, *Lactococcus*, *Pediococcus* ve *Anaerobacillus* cinsi bakterilerin, kontrol grubunda ise *Enterobacter* ve *Vibrio* dahil olmak üzere 27 bakteri cinsinin anlamlı derecede yüksek olduğu,
11. Hasta grubunda akciğer kanserine eşlik eden ek hastalığı olan bireyler ile eşlik eden ek hastalığı olmayan bireylerin karşılaştırılması sonucunda; eşlik eden ek hastalığı olan akciğer kanserli hastalar ile *Morgenalla*, *Scardovia*, *Janthinobacterium*, *Desulfobulbus* cinsi bakterilerin anlamlı derecede ilişkili bulunduğu,
12. Hasta grubunda sigara içen bireyler ile sigara içmeyen bireylerin karşılaştırılması sonucunda; sigara içmeyen akciğer kanserli hastalar ile *Streptococcus*, *Peptostreptococcus* ve *Fusobacterium* dahil olmak üzere 9 bakteri cinsinin anlamlı derecede ilişkili bulunduğu belirlendi.

Çalışmamız Ülkemizde akciğer kanserli hastaların akciğer mikrobiyotasının incelendiği ilk çalışma özelliğini taşımaktadır. Aynı zamanda, dünyada da yeni nesil dizileme ile akciğer mikrobiyotası analizinin kültürde izolasyon ile birlikte değerlendirildiği az sayıda çalışmalardan biridir. Bu sebeple, çalışmamız akciğer kanserinin mikrobiyota ile ilişkisini aydınlatmaya yönelik çalışmalara ışık tutacaktır. Sonuç olarak, akciğer kanserli hastalarda mikrobiyota kompozisyonunun rolünün daha iyi anlaşılabilir olarak mikroorganizmaların kanser biyobelirteçleri olarak kullanılabilirliği, ayrıca mikrobiyal çeşitliliğin sigara kullanımı gibi risk faktörleri ile ilişkisinin daha doğru belirlenebilmesi için sigara kullanımının da uygun bir şekilde derecelendirildiği ve örneklem sayısının fazla olduğu kapsamlı çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Mikrobiyotanın hastalıklarla ilişkisinin ve karsinogenezdeki rolünün aydınlatılması amacıyla yapılan çalışmalarda, gerektiğinde YND ile mikrobiyom analizinin anaerob ve mantar kültürleri de dahil olmak üzere uygun besiyerleri kullanılarak konvansiyonel kültür yöntemleri ile de desteklenmesi, ayrıca akciğer mikrobiyotası ile birlikte bağırsak mikrobiyotasının da incelenmesi daha kesin değerlendirme yapılmasına yarar sağlayacağı kanaatindeyiz. Böylece, bu araştırmaların kanser tanı, tarama ve tedavisindeki yerinin artması ile akciğer sağlığı sürdürülebilecek, ayrıca akciğer kanserlerinin önlenmesi ve tedavi etkinliğinin artması da sağlanabilecektir.

KAYNAKLAR

1. **Yılmaz Ü.** Akciğer kanserlerinde tedavi yaklaşımları. *Nucl Med Semin*, **2018**; 4(1):32-38.
2. **Maddi A, et al.** The microbiome and lung cancer. *J Thorac Dis*, **2019**; 11(1):280-291.
3. **Genç AC, Hacibekiroğlu İ.** Mikrobiyota ve Kanser. *J Biotechnol and Strategic Health Res*, **2017**; 1(Special issue):123-131.
4. **Bhatt AP, Redinbo MR, Bultman SJ.** The role of the microbiome in cancer development and therapy. *CA Cancer J Clin*, **2017**; 67(4):326-44.
5. **Bashiardes S, Tuganbaev T, Federici S, Elinav E.** The microbiome in anti-cancer therapy. *Seminars in Immunology*, **2017**; 32:74–81.
6. **Coley WB.** The treatment of malignant tumors by repeated inoculations of erysipelas. With a report of ten original cases. 1893. *Clin. Orthop. Relat. Res*, **1991**; 262:3-11.
7. **Dzutsev A, Goldszmid RS, Viaud S, Zitvogel L, Trinchieri G.** The role of the microbiota in inflammation, carcinogenesis, and cancer therapy. *European journal of immunology*, **2015**; 45(1):17-31.
8. **Clarke G, Stilling RM, Kennedy PJ, Stanton C, Cryan JF, Dinan TG.** Minireview: Gut microbiota: the neglected endocrine organ. *Mol Endocrinol*, **2014**; 28(8):1221-38.
9. **Mao Q, et al.** Interplay between the lung microbiome and lung cancer. *Cancer Letters*, **2018**; 415: 40-48.
10. **Sepich-Poore GD, et al.** The microbiome and human cancer. *Science*, **2021**; 371(6536):eabc4552.
11. **Gerritsen J, Smidt H, Rijkers GT, de Vos WM.** Intestinal microbiota in human health and disease: the impact of probiotics. *Genes & nutrition*, **2011**; 6(3):209-40.
12. **Sandek A, Bauditz J, Swidsinski A, Buhner S, Weber-Eibel J, Von Haehling S, et al.** Altered intestinal function in patients with chronic heart failure. *Journal of the American College of Cardiology*, **2007**; 50(16):1561-9.
13. **Fuentealba C, Figuerola F, Estévez AM, Bastías JM, Muñoz O.** Bioaccessibility of lignans from fl axseed (*Linum usitatissimum* L.) determined by single-batch in vitro simulation of the digestive process. *Journal of the science of food and agriculture*, **2014**; 94(9):1729-38.
14. **Pleguezuelos-Manzano C, Puschhof J, Huber AR, et al.** Mutational signature in colorectal cancer caused by genotoxic pks+ *E. coli*. *Nature*, **2002**; 580:269–273.
15. **Wilson MR, Jiang Y, Villalta PW, Stornetta A, Boudreau PD, et al.** The human gut bacterial genotoxin colibactin alkylates DNA. *Science*, **2019**; 15;363(6428):eaar7785.
16. **Dejea CM, Fathi P, Craig JM, Boleij A, Taddese R, et al.** Patients with familial adenomatous polyposis harbor colonic biofilms containing tumorigenic bacteria. *Science*, **2018**; 359:592–597.
17. **He Z, Gharaibeh RZ, Newsome RC, Pope JL, Dougherty MW, et al.** *Campylobacter jejuni* promotes colorectal tumorigenesis through the action of cytolethal distending toxin. *Gut*, **2019**; 68(2):289–300.
18. **Boot A, et al.** Characterization of colibactin-associated mutational signature in an Asian oral squamous cell carcinoma and in other mucosal tumor types. *Genome Res*, **2020**; 30(6):803–813.

19. **Barrett M, Hand CK, Shanahan F, Murphy T, O'Toole PW.** Mutagenesis by microbe: The role of the microbiota in shaping the cancer genome. *Trends Cancer*, **2020**; 6(4):277–287.
20. **Herr HW, Morales A.** History of bacillus Calmette-Guerin and bladder cancer: an immunotherapy success story. *J. Urol*, **2008**; 179(1):53–56.
21. **Apopa PL, Alley L, Penney RB, Arnaoutakis K, Steliga MA, et al.** PARP1 is up-regulated in non-small cell lung cancer tissues in the presence of the cyanobacterial toxin microcystin. *Front. Microbiol*, **2018**; 9:1757.
22. **Sears CL, Geis AL, Housseau F.** Bacteroides fragilis subverts mucosal biology: from symbiont to colon carcinogenesis. *J. Clin. Invest*, **2014**; 124(10):4166–4172.
23. **Routy B, Chatelier E, Derosa L, Duong CP, Alou MT, et al.** Gut microbiome influences efficacy of PD-1- based immunotherapy against epithelial tumors. *Science*, **2018**; 359:91–97.
24. **Sivan A, Corrales L, Hubert N, Williams JB, et al.** Commensal Bifidobacterium promotes antitumor immunity and facilitates anti-PD-L1 efficacy. *Science*, **2015**; 350:1084–1089.
25. **Gopalakrishnan V, Spencer CN, Nezi L, Reuben A, Andrews MC, et al.** Gut microbiome modulates response to anti-PD-1 immunotherapy in melanoma patients. *Science*, **2018**; 359:97–103.
26. **Wu BG, Segal LN.** The Lung Microbiome and Its Role in Pneumonia. *Clin Chest Med*, **2018**; 39:677–689.
27. **Greathouse KL, et al.** Interaction between the microbiome and TP53 in human lung cancer. *Genome Biology*, **2018**; 19:123.
28. **Enaud R, Prevel R, Ciarlo E, Beauvils F, Wieers G, et al.** The Gut-Lung Axis in Health and Respiratory Diseases: A Place for Inter-Organ and Inter-Kingdom Crosstalks. *Front. Cell. Infect. Microbiol*, **2020**; 10:9. doi: 10.3389/fcimb.2020.00009.
29. **De Oliveira GLV, et al.** Microbiota Modulation of the Gut-Lung Axis in COVID-19. *Front. Immunol*, **2021**; 12:635471 doi: 10.3389/fimmu.2021.635471.
30. **Dang AT, Marsland BJ.** Microbes, metabolites, and the gut–lung axis. *Mucosal Immunology*, **2019**; 12:843–850.
31. **Budden KF, Gellatly SL, Wood DLA, Cooper MA, et al.** Emerging pathogenic links between microbiota and the gut–lung axis. *Nat Rev Microbiol*, **2017**; 15:55–63.
32. **Bingula R, Filaire M, Radosevic-Robin N, Bey M, Berthon JY, Bernalier-Donadille A, et al.** Desired turbulence? Gut-lung axis, immunity, and lung cancer. *J. Oncol*, **2017**; 5035371. doi: 10.1155/2017/5035371.
33. **McAleer JP, Kolls JK.** Contributions of the intestinal microbiome in lung immunity. *Eur. J. Immunol*, **2018**; 48(1):39–49. doi: 10.1002/eji.201646721.
34. **Trompette A, Gollwitzer ES, Yadava K, Sichelstiel AK, SprengerN, Ngom-Bru C, et al.** Gut microbiota metabolism of dietary fiber influences allergic airway disease and hematopoiesis. *Nat. Med*, **2014**; 20(2):159–166. doi: 10.1038/nm.3444.
35. **Sender R, Fuchs S, Milo R.** Are we really vastly outnumbered? Revisiting the ratio of bacterial to host cells in humans. *Cell*, **2016**; 164:337–340.
36. **Sender R, Fuchs S, Milo R.** Revised Estimates for the Number of Human and Bacteria Cells in the Body. *PLoS Biol*, **2016**; 14(8):e1002533.

37. **Erb-Downward JR, et al.** Analysis of the lung microbiome in the “healthy” smoker and in COPD. *PLoS One*, **2011**; 6(2):e16384.
38. **Charlson ES, et al.** Lung-enriched organisms and aberrant bacterial and fungal respiratory microbiota after lung transplant. *Am. J. Respir. Crit. Care Med*, **2012**; 186:536–545.
39. **Aydemir Y.** Solunum Sistemi Ve Mikrobiyota. *J Biotechnol and Strategic Health Res*, **2017**; 1(Special issue):104-108.
40. **Liu HX, et al.** Difference of lower airway microbiome in bilateral protected specimen brush between lung cancer patients with unilateral lobar masses and control subjects. *Int. J. Cancer*, **2018**; 142:769–778.
41. **Scheiermann J, Klinman DM.** Three distinct pneumotypes characterize the microbiome of the lung in BALB/cJ mice. *PLoS One*, **2017**; 12(7):e0180561.
42. **Segal LN, Alekseyenko AV, Clemente JC, et al.** Enrichment of lung microbiome with supraglottic taxa is associated with increased pulmonary inflammation. *Microbiome*, **2013**; 1:19.
43. **Ramírez-Labrada AG, Isla D, Artal A, Arias M, et al.** The Influence of Lung Microbiota on Lung Carcinogenesis, Immunity, and Immunotherapy. *Trends in Cancer*, **2020**; 6(2):86-97.
44. **Pezzulo AA, et al.** Abundant DNase I-sensitive bacterial DNA in healthy porcine lungs and its implications for the lung microbiome. *Appl. Environ. Microbiol*, **2013**; 79:5936–5941.
45. **Willis AL, et al.** Dead or alive: deoxyribonuclease I sensitive bacteria and implications for the sinus microbiome. *Am. J. Rhinol. Allergy*, **2016**; 30:94–98.
46. **Kearney SC, et al.** Immunoregulatory and immunostimulatory responses of bacterial lysates in respiratory infections and asthma. *Ann. Allergy Asthma Immunol*, **2015**; 114:364–369.
47. **Chuquimia OD, et al.** Alveolar epithelial cells are critical in protection of the respiratory tract by secretion of factors able to modulate the activity of pulmonary macrophages and directly control bacterial growth. *Infect. Immun*, **2013**; 81:381–389.
48. **Chuquimia OD, Petursdottir DH, Rahman MJ, et al.** The role of alveolar epithelial cells in initiating and shaping pulmonary immune responses: communication between innate and adaptive immune systems. *PLoS One*, **2012**; 7(2):e32125.
49. **Remot A, Descamps D, Noordine ML, et al.** Bacteria isolated from lung modulate asthma susceptibility in mice. *ISME J*, **2017**; 11(5):1061–1074.
50. **Surette MG.** The cystic fibrosis lung microbiome. *Ann. Am. Thorac. Soc*, **2014**; 11:61–65.
51. **Gollwitzer ES, Saglani S, Trompette A, Yadava K, Sherburn R, et al.** Lung microbiota promotes tolerance to allergens in neonates via PD-L1. *Nat. Med*, **2014**; 20:642–647.
52. **Pattaroni C, Watzenboeck ML, et al.** Early-life formation of the microbial and immunological environment of the human airways. *Cell Host Microbe*, **2018**; 24(6):857–865.
53. **Yatsunenko T, Rey FE, Manary MJ, Trehan I, et al.** Human gut microbiome viewed across age and geography. *Nature*, **2012**; 486:222–227.
54. **Biesbroek G, Tsivtsivadze E, Sanders EA, Montijn R, Veenhoven RH, Keijser BJ, Bogaert D.** Early respiratory microbiota composition determines bacterial succession patterns and respiratory health in children. *Am. J. Respir. Crit. Care Med*, **2014**; 190:1283–1292.
55. **Yu G, Gail MH, Consonni D, Carugno M, Humphrys M, et al.** Characterizing human lung tissue microbiota and its relationship to epidemiological and clinical features. *Genome Biol*, **2016**; 17:163.

56. **Futreal PA, Kasprzyk A, Birney E, Mullikin JC, Wooster R, Stratton M.** Cancer and genomics. *Nature*, **2001**; 6822: 850-2.
57. **Fearnhead HO.** Getting back on track, or what to do when apoptosis is de-railed: recoupling oncogenes to the apoptotic machinery. *Cancer Biol Ther*, **2004**; 3(1):21-8.
58. **Williams GM.** Mechanisms of chemical carcinogenesis and application to human cancer risk assessment. *Toxicology*; **2001**; 14:166 (1- 2):3-10.
59. **Williams GM.** Review of in vitro test systems using DNA damage and repair for screening of chemical carcinogens. *J. Assoc. Official Anal. Chemists*, **1979**; 62: 857-63.
60. **Williams GM.** Genotoxic and epigenetic carcinogens. In: Homburger F, ed. Safety Evaluation and Regulation of Chemicals 2. Impact of Regulations-Improvement of Methods. Basel: *Karger*, **1985**; 251-6.
61. **Williams GM.** DNA reactive and epigenetic carcinogens. In: Barrett JC, ed. Mechanisms of Environmental Carcinogenesis, Vol 1: Role of Genetic and Epigenetic Changes. Boca Raton, FL: CRC Press, Inc. **1987**; 113-27.
62. **Williams GM.** Definition of a human cancer hazard. In: Nongenotoxic Mechanisms in Carcinogenesis. New York: Banbury Report 25, Cold Spring Harbor Laboratory. **1987**; 367-80.
63. **Williams GM.** DNA reactive and epigenetic carcinogens. *Experimental and Toxicologic Pathology*, **1992**; 44: 457- 64.
64. **Yokuş B, Çakır DÜ.** İn vivo Oksidatif DNA Hasarı Biyomarkeri; 8- Hydroxy-2'-deoxyguanosine. *Türkiye Klinikleri Tıp Bilimleri Dergisi*. **2002**; 5: 535- 43.
65. **Sahu SC.** Onkogenes, onkogenesis and oxygen radicals. *Biomed Environ Sci*, **1990**; 2:183-201.
66. **Heynick LN, Johnston SA, Mason PA.** Radio Frequency Electromagnetic Fields: Cancer, Mutagenesis, and Genotoxicity. *Bioelectromagnetics*, **2003**; 6:74-100.
67. **Yokuş B, Mete N.** Oksidatif DNA hasarı. *Klinik Laboratuar Araştırma Dergisi*, **2003**; 7(2); 51-64.
68. **Jajte J, Zmyslony M, Palus J, Dziubaltowska E, Rajkowska E.** Protective effect of melatonin against in vitro iron ions and 7 mT 50 Hz magnetic field-induced DNA damage in rat lymphocytes. *Mutat Res*, **2001**; 483(1-2):57-64.
69. **Yokus B, Akdag MZ, Dasdag S, Cakir DU, Kizil M.** Extremely Low Frequency Electromagnetic Fields Cause Oxidative DNA Damage in Rats. *International Journal of Radiation Biology*, **2008**; 8(10):789-795.
70. **Devereux TR, Risinger JI, Barrett JC.** Mutations and altered expression of the human cancer genes: What they tell us about causes. *IARC Scientific Publications*, **1999**; 146:19-42.
71. **Berenblum I.** Frontiers of Biology. In: Carcinogenesis as a Biological Problem. Amsterdam: North-Holland Pub. Co. New York: **1974**; 212-24.
72. **Elenbaas L, Spirio F, Koerner MD, Fleming DB, Zimonjic JL, Donaher NC, Popescu WC.** Human breast cancer cells generated by onkogenic transformation of primary mammary epithelial cells. *Genes Dev*, **2001**; 15: 50-65
73. **Sherr J.** Cancer cell cycle. *Science*, **1996**; 274:1672-7.
74. **Weinstein M, Begemann P, Zhou EK, Han A, Sgambato Y, Doki N, Arber M, Ciaparrone H, Yamamoto H.** Disorders in cell circuitry associated with multistage carcinogenesis: exploitable targets for cancer prevention and therapy. *Clin. Cancer Res*, **1997**; 3:2696-702.

75. **Bos JL, Van Kreijl CF. In: Vainio H, Magee PN, McGregor DB, McMichael AJ.** Eds. Genes and Gene Products that Regulate Proliferation and Differentiation: Critical Targets in Carcinogenesis. Mechanisms of Carcinogenesis in Risk Identification. Lyon: International Agency for Research of Cancer. **1992**; 57–65.
76. **Vogelstein A, Kinzler KW.** The multistep nature of cancer. *Trends Genet*, **1993**; 9:138–41.
77. **Hussein SP, Harris CC.** Molecular epidemiology of human cancer. *Recent Results Cancer Res*, **1998**; 154:22–36.
78. **Nowell P.** The clonal evolution of tümör cell populations. *Science*, **1976**; 194: 23–28.
79. **Butterworth BE, Popp JA, Conolly RB, Goldsworthy TL.** Chemically induced cell proliferation in carcinogenesis. In: Vainio H, Magee PN, McGregor DB, McMichael AJ, eds. Mechanisms of Carcinogenesis in Risk Identification. Lyon: International Agency for Research of Cancer. **1992**; 279–305.
80. **Foulds L.** Neoplastic Development 1. New York: *Academic Pres*, **1969**; 122-34
81. **Corn PG, El-Deiry WS.** Derangement of growth and differentiation control in onkogenesis. *Bioessays*, **2002**; 1:83-90.
82. **Aslan G.** Tümör İmmünolojisi, *Turk. J. Immunol*, **2010**; 15(1):7- 13.
83. **Kim R, Emi M, Tanabe K.** Cancer Immunoediting from Immune surveillance to Immune Escape. *Immunology*, **2007**; 121:1-14.
84. **Kırmaz C, Özentürk Ö.** Malignitelere Karşı Gelişen İmmün Yanıt. *Astım Allerji İmmünoloji*, **2004**; 2(3):167-174.
85. **Dunn GP, Old LJ., Schreiber RD.** The Immunobiology of Cancer Immunosurveillance and Immunoediting. *Immunity*, **2004**; 21:137-148.
86. **Lederberg J, Mccray AT.** 'Ome Sweet 'Omics--a genealogical treasury of words. *Scientist*, **2001**; 15:1.
87. **Ussar S, Fujisaka S, Kahn CR.** Interactions between host genetics and gut microbiome in diabetes and metabolic syndrome. *Mol. Metab*, **2016**; 5(9):795-803.
88. **Molloy M, Bouladoux N, Belkaid Y.** Intestinal microbiota: shaping local and systemic immune responses. *Semin. Immunol*, **2012**; 24(1):58–66.
89. **Zmora N, Zeevi D, Korem T, Segal E, Elinav E.** Taking it personally: personalized utilization of the human microbiome in health and disease. *Cell Host Microbe*, **2016**; 19(1):12–20.
90. **Donaldson GP, Lee SM, Mazmanian SK.** Gut biogeography of the bacterial microbiota. *Nat. Rev. Microbiol*, **2016**; 14(1):20–32.
91. **Schwabe RF, Jobin C.** The microbiome and cancer. *Nat Rev Cancer*, **2013**; 13:800-12.
92. **Krump NA, You J.** Molecular Mechanisms of viral oncogenesis in humans. *Nat Rev Microbiol*, **2018**; 16(11):648-698.
93. **Locey KJ, Lennon JT.** Scaling laws predict global microbial diversity. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **2016**; 113(21):5970–5975.
94. **IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, Biological agents. A review of human carcinogens. IARC Monogr. Eval. Carcinog. Risks Hum**, **2012**; 100:1–441.

95. **Moore PS, Chang Y.** Why do viruses cause cancer? Highlights of the first century of human tumour virology. *Nat Rev Cancer*, **2010**; 10(12):878-89.
96. **Marshall BJ, Windsor HM.** The relation of *Helicobacter pylori* to gastric adenocarcinoma and lymphoma: pathophysiology, epidemiology, screening, clinical presentation, treatment, and prevention. *Med Clin North Am* **2005**; 89(2):313-44.
97. **Mager DL.** Bacteria and cancer: cause, coincidence or cure? A review. *J Transl Med*, **2006**; 4:14.
98. **Benamrouz S, Conseil V, Creusy C, et al.** Parasites and malignancies, a review, with emphasis on digestive cancer induced by *Cryptosporidium parvum* (Alveolata: Apicomplexa). *Parasite*, **2012**; 19(2):101-15.
99. **Dunn GP, Bruce AT, Ikeda H, Old LJ, Schreiber RD.** Cancer immunoediting: from immunosurveillance to tumor escape. *Nat. Immunol*, **2002**; 3(11):991–998.
100. **Vigneron N, Stroobant V, Van den Eynde BJ, Van der Bruggen P.** Database of T cell-defined human tumor antigens: the 2013 update. *Cancer Immun*, **2013**; 13:15.
101. **Paulos CM, Kaiser A, Wrzesinski C, et al.** Toll-like receptors in tumor immunotherapy. *Clin. Cancer Res*, **2007**; 13(18 Pt 1):5280–5289.
102. **Paulos CM, Wrzesinski C, Kaiser A, et al.** Microbial translocation augments the function of adoptively transferred self/tumor-specific CD8⁺ T cells via TLR4 signaling. *J. Clin. Invest*, **2007**; 117(8):2197–2204.
103. **Hanahan D, Folkman J.** Patterns and emerging mechanisms of the angiogenic switch during tumorigenesis. *Cell*, **1996**; 86(3):353-64.
104. **Girardi M, Oppenheim DE, Steele CR, et al.** Regulation of cutaneous malignancy by gammadelta T cells. *Science*, **2001**; 294(5542):605–609.
105. **Matzinger P.** Tolerance, danger, and the extended family. *Annu. Rev. Immunol*, **1994**; 12:991-1045.
106. **Lida N, Dzutsev A, Stewart CA, et al.** Commensal bacteria control cancer response to therapy by modulating the tumor microenvironment. *Science*, **2013**; 342(6161):967-970.
107. **Park J, Kim M, Kang SG, et al.** Short-chain fatty acids induce both effector and regulatory T cells by suppression of histone deacetylases and regulation of the mTOR-S6K pathway. *Mucosal Immunol*, **2015**; 8(1):80-93.
108. **Hubbard AL, Harrison DJ, Moyes C, McOrist S.** Direct detection of eae-positive bacteria in human and veterinary colorectal specimens by PCR. *J. Clin. Microbiol*, **1998**; 36(8):2326-2330.
109. **Silva-Valenzuela CA, Desai PT, Molina-Quiroz RC, et al.** Solid tumors provide niche-specific conditions that lead to preferential growth of *Salmonella*. *Oncotarget*, **2016**; 7(23):35169-35180.
110. **Morrissey D, O’Sullivan GC, Tangney M.** Tumour targeting with systemically administered bacteria. *Curr. Gene Ther*, **2010**; 10(1):3-14.
111. **Balzan S, Quadros CA, Cleva R, Zilberstein B, Cecconello I.** Bacterial translocation: overview of mechanisms and clinical impact. *J. Gastroenterol. Hepatol*, **2007**; 22(4):464-471.
112. **Han YW, Wang X.** Mobile microbiome: oral bacteria in extra-oral infections and inflammation. *J. Dent. Res*, **2013**; 92(6):485-491.

113. **Lagier JC, Armougom F, Million M, et al.** Microbial culturomics: paradigm shift in the human gut microbiome study. *Clin. Microbiol. Infect.*, **2012**; 18(12):1185-1193.
114. **Témoïn S, Chakaki A, Askari A, et al.** Identification of oral bacterial DNA in synovial fluid of patients with arthritis with native and failed prosthetic joints. *J. Clin. Rheumatol.*, **2012**; 18(3):117-121.
115. **Gur C, Ibrahim Y, Isaacson B, et al.** Binding of the Fap2 protein of *Fusobacterium nucleatum* to human inhibitory receptor TIGIT protects tumors from immune cell attack. *Immunity*, **2015**; 42(2):344-355.
116. **Celik MR.** Akciğer kanseri ve KOAH birlikteliği. *Toraks Cerrahisi Bülteni*, **2015**; 9: 62-253
117. **Travis WD, Brambilla E, Noguchi M, et al.** International association for the study of lung cancer/american thoracic society/european respiratory society international multidisciplinary classification of lung adenocarcinoma. *J Thorac Oncol*, **2011**; 6:244-85.
118. **Goldstraw P, Crowley J, Chansky K, et al.** The IASLC Lung Cancer Staging Project: Proposals for the revision of the TNM stage groupings in the forthcoming (seventh) edition of the TNM Classification of malignant tumours. *J Thorac Oncol* **2007**; 2:706-14.
119. **Hosgood HD, Sapkota AR, Rothman N, Rohan T, Hu W, et al.** The potential role of lung microbiota in lung cancer attributed to household coal burning exposures. *Environ. Mol. Mutagen*, **2014**; 55(8):643–651.
120. **Liu Y, O'Brien JL, Ajami NL, Scheurer ME, Asmirian ES, et al.** Lung tissue microbial profile in lung cancer is distinct from emphysema. *Am. J. Cancer Res*, **2018**; 8(9):1775–1787.
121. **Lee SH, Sung JY, Yong D, Chun J, Kim SY, et al.** Characterization of microbiome in bronchoalveolar lavage fluid of patients with lung cancer comparing with benign mass like lesions. *Lung Cancer*, **2016**; 102:89–95.
122. **Cameron SJS, Lewis KE, Huws SA, Hegarty MJ, Lewis PD, et al.** A pilot study using metagenomic sequencing of the sputum microbiome suggests potential bacterial biomarkers for lung cancer. *PLoS One*, **2017**; 12(5):e0177062.
123. **Urbaniaik C, Gloor GB, Brackstone M, Scott L, Tangney M, Reid G.** The microbiota of breast tissue and its association with breast cancer. *Appl. Environ. Microbiol*, **2016**; 82(16):5039-5048.
124. **Vétizou M, Pitt JM, Daillère R, et al.** Anticancer immunotherapy by CTLA-4 blockade relies on the gut microbiota. *Science*, **2015**; 350(6264):1079–1084.
125. **Viaud S, Saccheri F, Mignot G, et al.** The intestinal microbiota modulates the anticancer immune effects of cyclophosphamide. *Science*, **2013**; 342(6161):971–976.
126. **Kelland L.** The resurgence of platinum-based cancer chemotherapy. *Nat. Rev. Cancer*, **2007**; 7(8):573–584.
127. **Alcindor T, Beauger N.** Oxaliplatin: a review in the era of molecularly targeted therapy. *Current oncology*, **2011**; 18(1):18–25.
128. **Bracci L, Moschella F, Sestili P, et al.** Cyclophosphamide enhances the antitumor efficacy of adoptively transferred immune cells through the induction of cytokine expression, B-cell and T-cell homeostatic proliferation, and specific tumor infiltration. *Clin. Cancer Res*, **2007**; 13(2Pt1):644-653.
129. **Ghiringhelli F, Larmonier N, Schmitt E, et al.** CD4⁺ CD25⁺ regulatory T cells suppress tumor immunity but are sensitive to cyclophosphamide which allows immunotherapy of established tumors to be curative. *Eur. J. Immunol*, **2004**; 34(2):336–344.

130. Schiavoni G, Sistigu A, Valentini M, et al. Cyclophosphamide synergizes with type I interferons through systemic dendritic cell reactivation and induction of immunogenic tumor apoptosis. *Cancer Res*, **2011**; 71(3):768–778.
131. Daillère R, Vétizou M, Waldschmitt N, Yamazaki T, Isnard C, et al. Enterococcus hirae and Barnesiella intestinihominis facilitate cyclophosphamide-induced therapeutic immunomodulatory effects. *Immunity*, **2016**; 45(4):931–943.
132. Peggs KS, Quezada SA, Korman AJ, Allison JP. Principles and use of antiCTLA4 antibody in human cancer immunotherapy. *Curr. Opin. Immunol*, **2006**; 18(2):206–213.
133. Mellman I, Coukos G, Dranoff G. Cancer immunotherapy comes of age. *Nature*, **2011**; 480:480–489.
134. Chang R, Shirai K. Safety and efficacy of pembrolizumab in a patient with advanced melanoma on haemodialysis. *BMJ Case Rep*, **2016**; bcr2016216426.
135. Ku GY, Yuan J, Page DB, et al. Single-institution experience with ipilimumab in advanced melanoma patients in the compassionate use setting: lymphocyte count after 2 doses correlates with survival. *Cancer*, **2010**; 116(7):1767–1775.
136. Rosenberg SA. Progress in human tumour immunology and immunotherapy. *Nature*, **2001**; 411(6835):380–384.
137. Bowers JS, Nelson MH, Kundimi S, et al. Dendritic cells in irradiated mice trigger the functional plasticity and antitumor activity of adoptively transferred Tc17Cells via IL12 signaling. *Clin. Cancer Res*, **2015**; 21(11):2546–2557.
138. Shigematsu A, Adachi Y, Koike-Kiriyama N, et al. Effects of low-dose irradiation on enhancement of immunity by dendritic cells. *J. Radiat. Res*, **2007**; 48(1):51–55.
139. Awedan AA. High intensity regimens with autologous hematopoietic stem cell transplantation as treatment of multiple myeloma. *Ann. Transplant*, **2020**; 7(2):38–43.
140. Ashida H, Ogawa M, Kim M, Mimuro H, Sasakawa C. Bacteria and host interactions in the gut epithelial barrier. *Nat. Chem. Biol*, **2011**; 8(1):36–45.
141. Van Nood E, Vrieze A, Nieuwdorp M, Fuentes S., Zoetendal E.G, et al. Duodenal infusion of donor feces for recurrent clostridium difficile. *N. Engl. J. Med*, **2013**; 368(5):407–415.
142. Belizario JE, Napolitano M. Human microbiomes and their roles in dysbiosis, common diseases, and novel therapeutic approaches. *Front. Microbiol*, **2015**; 6:1050.
143. Petersen C, Round JL. Defining dysbiosis and its influence on host immunity and disease. *Cell. Microbiol*, **2014**; 16(7):1024–1033.
144. Arthur JC, Perez-Chanona E, Mühlbauer M, Tomkovich S, Uronis JM, et al. Intestinal Inflammation targets cancer-inducing activity of the microbiota. *Science*, **2012**; 338(6103):120–3.
145. Eaton K, Yang W. Reproducibility project: cancer, registered report: intestinal inflammation targets cancer-inducing activity of the microbiota. *Elife*, **2015**; 4:e04186.
146. Holmes E, Li JV, Marchesi JR, Nicholson JK. Gut microbiota composition and activity in relation to host metabolic phenotype and disease risk. *Cell Metab*, **2012**; 16(5):559–564.
147. Travaglione S, Fabbri A, Fiorentini C. The Rho-activating CNF1 toxin from pathogenic E. coli: a risk factor for human cancer development? *Infect. Agents Cancer*, **2008**; 3:4.

148. Nesic D, Hsu Y, Stebbins CE. Assembly and function of a bacterial genotoxin. *Nature*, **2004**; 429(6990):429-33.
149. Cuevas-Ramos G, Petit CR, Marcq I, Boury M, Oswald E, Nougayrede JP. *Escherichia coli* induces DNA damage in vivo and triggers genomic instability in mammalian cells. *Proc. Natl. Acad. Sci*, **2010**; 107(25):11537-11542.
150. Nougayrede JP, Homburg S, Taieb F, Boury M, Brzuszkiewicz E, Gottschalk G, et al. *Escherichia coli* induces DNA double-strand breaks in eukaryotic cells. *Science*, **2006**; 313(5788):848-51.
151. Yaghoobi H, Kazemi B, Bandehpour M. Sensitization of radio-resistant lung cancer cells with a B subunit of bacterial cytolethal distending toxin from *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*. *Iran. J. Cancer Prev*, **2017**; 10(2):e5792.
152. Carbonero F, Benefiel A, Alizadeh-Ghamsari A, Gaskins HR. Microbial pathways in colonic sulfur metabolism and links with health and disease. *Front. Physiol*, **2012**; 3:448.
153. Rubinstein MR, Wang X, Liu W, Hao Y, Cai G, Han YW. *Fusobacterium nucleatum* promotes colorectal carcinogenesis by modulating E-cadherin/ β -catenin signaling via its FadA adhesin. *Cell Host Microbe*, **2013**; 14(2):195-206.
154. Burns MB, Lynch J, Starr TK, Knights D, Blehman R. Virulence genes are a signature of the microbiome in the colorectal tumor microenvironment. *Genome Med*, **2015**; 7(1):55.
155. O'Keefe SJD. Diet, microorganisms and their metabolites, and colon cancer. *Nat. Rev. Gastroenterol. Amp. Hepatol*, **2016**; 13(12):691-706.
156. Hirayama K., Baranczewski P., Akerlund JE, Midtved T, Moller L, Rafter J. Effects of human intestinal flora on mutagenicity of and DNA adduct formation from food and environmental mutagens. *Carcinogenesis*, **2000**; 21(11):2105-2111.
157. Vanhaecke L, Knize MG, Noppe H, De Brabander H, Verstraete W, Van de Wiele T. Intestinal bacteria metabolize the dietary carcinogen 2-amino-1- methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine following consumption of a single cooked chicken meal in humans. *Food Chem. Toxicol*, **2008**; 46(1):140-148.
158. Yoshimoto S, Loo TM, Atarashi K, Kanda H, Sato S, Oyadomari S, et al. Obesity-induced gut microbial metabolite promotes liver cancer through senescence secretome. *Nature*, **2013**; 499(7456) 97-101.
159. Keren N, Konikoff FM, Paitan Y, Gabay G, Reshef L, Naftali T, Gophna U. Interactions between the intestinal microbiota and bile acids in gallstones patients. *Environ. Microbiol. Rep*, **2015**; 7(6):874-880.
160. Adolph TE, et al. Paneth cells as a site of origin for intestinal inflammation. *Nature*, **2013**; 503(7475):272-6.
161. Greten FT, et al. IKKb links inflammation and tumorigenesis in a mouse model of colitis-associated cancer. *Cell*, **2004**; 118(3):285-296.
162. Wang K, Wang J, Wei F, Zhao N, Yang F, Ren X. Expression of TLR4 in nonsmall cell lung cancer is associated with PD-L1 and poor prognosis in patients receiving pneumonectomy. *Front. Immunol*, **2017**; 8:456.
163. Jungnickel C, et al. IL-17C mediates the recruitment of tumor-associated neutrophils and lung tumor growth. *Oncogene*, **2017**; 36(29):4182-4190.

164. **Chen GY, Shaw MH, G Redondo, Núñez G.** The innate immune receptor Nod1 protects the intestine from inflammation-induced tumorigenesis, *Cancer Res*, **2008**; 68(24):10060-7.
165. **Ali T, Kaitha S, Mahmood S, Ftesi A, Stone J, Bronze MS.** Clinical use of anti-TNF therapy and increased risk of infections. *Drug, Healthc. Patient Saf*, **2013**; 5:79-99.
166. **Couturier-Maillard A, et al.** NOD2-mediated dysbiosis predisposes mice to transmissible colitis and colorectal cancer. *J. Clin. Invest*, **2013**; 123(2):700-711.
167. **Levy M, et al.** Microbiota-modulated metabolites shape the intestinal microenvironment by regulating NLRP6 inflammasome signaling. *Cell*, **2015**; 163(6):1428-1443.
168. **Wu S, et al.** A human colonic commensal promotes colon tumorigenesis via activation of T helper type 17 T cell responses. *Nat. Med*, **2009**; 15(9):1016-1022
169. **Peucker K, et al.** Epithelial calcineurin controls microbiota-dependent intestinal tumor development. *Nat. Med*, **2016**; 22(5):506-515.
170. **García-Castillo V, Sanhueza E, McNerney E, Onate SA, García A.** Microbiota dysbiosis: a new piece in the understanding of the carcinogenesis puzzle. *J. Med. Microbiol*, **2016**; 65(12):1347-1362.
171. **Ursell LK, Metcalf JL, Parfrey LW, Knight R.** Defining the human microbiome. *Nutr Rev*, **2012**; 70(1):38-44.
172. **Grada A., Weinbrecht K.** Next-generation sequencing: methodology and application. *J. Invest. Dermatol*, **2013**; 133(8):e11.
173. **Hugenholtz P.** Exploring prokaryotic diversity in the genomic era. *Genome Biol*, **2002**; 3(2):Reviews0003.
174. **McPherson JD.** Next-generation gap. *Nature methods*, **2009**; 6(11):2-5.
175. **Fraher MH, O'Toole PW, Quigley EM.** Techniques used to characterize the gut microbiota: a guide for the clinician. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, **2012**; 9(6):312–22.
176. **Darcan C, Türkyılmaz O.** Yeni Nesil Dizileme Teknolojisine Genel Bakış. *Bilecik Şeyh Edebali Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, **2018**; 5(1):41-49.
177. **Singleton DR, Furlong MA, Rathbun SL, Whitman WB.** Quantitative comparisons of 16S rRNA gene sequence libraries from environmental samples. *Applied and environmental microbiology*, **2001**; 67(9):4374-4376.
178. **Case RJ, et al.** Use of 16S rRNA and rpoB genes as molecular markers for microbial ecology studies. *Applied and environmental microbiology*, **2007**; 73(1):278-288.
179. **Wang K, Huang Y, Zhang Z, et al.** A Preliminary Study of Microbiota Diversity in Saliva and Bronchoalveolar Lavage Fluid from Patients with Primary Bronchogenic Carcinoma. *Med Sci Monit*, **2019**; 25:2819-2834.
180. **Druzhinin VG, Matskova LV, Demenkov PS, Baranova ED, et al.** Taxonomic diversity of sputum microbiome in lung cancer patients and its relationship with chromosomal aberrations in blood lymphocytes. *Sci Rep*, **2020**; 10:9681.
181. **Adams RI, et al.** Ten questions concerning the microbiomes of buildings. *Building and Environment*, **2016**; 109:224-234.

182. **Hewitt KM, Mannino FL, Gonzalez A, Chase JH, Caporaso JG, et al.** Bacterial diversity in two Neonatal Intensive Care Units (NICUs). *PLoS One*, **2013**; 8(1):e54703.
183. **Rybojad R, Los R, Sawicki M, Tabarkiewicz J, Malm A.** Aerobic bacteria colonizing the lower airways in lung cancer patients. *Folia Histochemica et Cytobiologica*, **2011**; 49(2):263–266.
184. **Zhang M, Zhou H, Xu S , Liu D , Cheng Y , Gao B, Li X , Chen J.** The gut microbiome can be used to predict the gastrointestinal response and efficacy of lung cancer patients undergoing chemotherapy. *Ann Palliat Med*, **2020**; 9(6):4211-4227.
185. **Katayama Y, Yamada T, Shimamoto T, Iwasaku M, Kaneko Y, et al.** The role of the gut microbiome on the efficacy of immune checkpoint inhibitors in Japanese responder patients with advanced non-small cell lung cancer. *Transl Lung Cancer Res*, **2019**; 8(6):847-853.



ÖZGEÇMİŞ

07.04.1992 tarihinde Adana’da doğdu. İlk ve orta öğrenimini 2006 yılında Adanada Ramazanoğlu İlköğretim Okulunda tamamladıktan sonra Şehit Temel Cingöz Lisesinde başladığı lise eğitimini 2010 yılında bitirdi. 2010 yılında lisans eğitimine başladığı Çukurova Üniversitesi Biyoloji Bölümü’nden 2014 yılında başarı ile mezun oldu. 2015–2017 yılları arasında Çukurova Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı’nda ‘Çukurova Bölgesinde Keratitli Olgularda Mikobakteriyel İnfeksiyonları Rolü’ isimli tez çalışması ile yüksek lisansını tamamladı. 2017 yılında Çukurova Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı’nda doktora programına başladı. İyi düzeyde ingilizce bilmektedir.