

ENFEKSİYON HASTALIKLARI ve EVRİMSEL TIP

O. Şadi YENEN*

Özet: Evrimsel biyoloji konularına yaklaşımda klasik olarak üç düşünce tarzı kullanılmaktadır: tipik olanı önceleyen düşünme tarzı, topluluğu önceleyen düşünme tarzı ve soyağacı öncelleyen düşünme tarzı. Yüksek verimli genom sekanslama benzeri teknolojik gelişmelerdeki ilerlemeyle ağımsız evrimsel süreçlerin kantitatif ve kalitatif öneminin giderek daha iyi anlaşılması kimi araştırmacıların yeni bir düşünme tarzı çağına girdiğini ileri sürmelerine neden oldu: ağları önceleyen düşünce tarzı. Bu yeni düşünce tarzına çok sayıda destek mikrobiyoloji ve enfeksiyon hastalığı alanlarından gelmektedir. Bu yazıda, holobiyont/hologenom bağlamında mikroorganizmalarla ilişkimizi, bir patojenin özelliklerini ve enfeksiyon hastalığına evrimsel biyolojik yaklaşımın zorluklarını tartıştıktan sonra bir örnek olarak antimikrobiyal direnç gözden geçirilmiştir. Evrimsel biyolojinin tıbbi araştırma ve uygulamalara sokulmasının en üretken sonuçları vereceği alanın mikrobiyoloji/enfeksiyon hastalıkları olması olası görülmektedir.

Anahtar sözcükler: enfeksiyon hastalıkları, evrimsel biyoloji, evrimsel tıp, Darwinci tıp, holobiyont, hologenom, mikrobiyom, mikrobiyota, düşünme tarzı, patojen, antimikrobiyal direnç

Infectious Diseases and Evolutionary Medicine

Abstract: Classically, when approaching issues in evolutionary biology three styles of thought are used: typological-thinking, population-thinking and tree-thinking. With the development of new technological achievement like high-throughput genome sequencing, the increasing realization of the quantitative and qualitative importance of reticulate evolutionary processes leads some researchers to argue that evolutionary biology is in a new era, a network-thinking era. Many supports to this new style of thinking come from the microbiology and the infectious disease fields. In this paper, after discussing our relationship with microorganisms in the context of holobiont/hologenome, features of a pathogen, challenges of evolutionary biological approaching to infectious disease, as an example antimicrobial resistance has been reviewed. It seems likely that the integration of evolutionary biology to medical research and application will find the most productive outcomes in the microbiology/infectious disease field.

Key words: infectious disease, evolutionary biology, evolutionary medicine, Darwinian medicine, holobiont, hologenome, microbiome, microbiota, network-thinking, pathogen, antimicrobial resistance

“Yirminci yüzyıl biyolojisinin geleneksel, derinlemesine odaklandığı indirgemeci yaklaşımdan daha bireşimci ve güvenilir bütüncül bir evreye geçişte biyolojik organizasyonların düzeyleri arasındaki ana geçişler ve açıklığa kavuşturulan çok katmanlı evrim süreçleri daha bir önem kazanacaktır.”

Edward O. Wilson (2009)

Giriş

Randolph M. Nesse (2008), George C. Williams ile birlikte yazdıkları makale ve kitapta neden Darwinci Tıp (*Darwinian Medicine*) ifadesini kullandıklarını açıklarken, “evrim” teriminin zaman içerisinde herhangi bir tedrici değişimi ima etmediğini, doğal seçilim ve hatta biyolojiyi de zorunlu olarak çağrıştırmadığını düşündüklerini belirtmektedir. “Darwinci tıp” terimini daha kapsayıcı bulan Nesse, yine de, günlük uygulamada “Darwinizm” ifadesini kullanmanın tartışmalara yol açan sakıncaları nedeniyle alanın “evrim ve tıp” olarak adlandırılmasını yeğlemektedir. Günümüzde de *Evrimsel Tıp* ve *Darwinci Tıp* terimleri farklı kesimler tarafından birbirinin yerine kullanılmaktadır. Peki, bu iki terim arasında içerik olarak bir fark var mıdır? Bu soruya yanıt arayan

Métot (2015), bu iki terimin, kesinlik taşımaları da, evrimsel biyoloji ile tıp arasındaki ilişkilerin çeşitli yönlerini ifade ettiğini, farkın daha çok araştırma geleneklerinden kaynaklandığını ileri sürmektedir. Buzul çağı (*Pleistocene epoch*)’ndan başlayarak “insanlığın evrimsel yolu ışığında hastalık kalıplarını anlamak Darwinci tıbbın ayırt edici özelliği” iken, “evrimsel tıp, evrimsel biyolojinin kavramsal ve metodolojik kaynaklarının belli ölçüde aydınlatıldığı geniş ve çok sayıda hastalıklar üzerine” odaklanmakla farklı bir araştırma geleneğini temsil etmektedir. Burada üzerinde önemle durulması gereken, Darwinci tıbbın insanların, genel olarak, modern çevreye iyi uyum sağlayamadıklarını (uyumsuzluk hipotezi, *mismatch hypothesis*) kabul etmesi,

*Prof. Dr., İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Temel Tıp Bilimleri Bölümü, Tıbbi Mikrobiyoloji AD.

evrimsel tıbbın ise bu konuda agnostik bir tutuma sahip olmasıdır. Farklı bir anlatımla ve kesin olmamakla birlikte, Darwinci tıp "geriye bakışlı", evrimsel tıp ise "ileriye bakışlı" açıklamaları araştıran yöntemlerle çalışmalarını sürdürmektedirler. "Evrimsel tıp çalışmaları hastane koşusu ya da laboratuvar koşulları gibi güncel çevrelerde ortaya çıkan 'gerçek zamanlı' evrimi inceler". Dolayısıyla, evrimsel biyolojinin ilkelerinin uygulanmasıyla enfeksiyon hastalıklarının dinamikleri ve ekolojisi, patojenlerin konak içi evrimleri ve konak-parazit ilişkileri, özgül olarak patojenlerin filogenetik dinamikleri ve antibiyotik direnci evrimsel tıbbın başlıca konuları arasındadır. Öte yandan, enfeksiyon hastalıkları açısından Darwinci tıp yaklaşımıyla çalışmalar da yapılmaktadır, ancak bu yazıda ele alınmayacaktır (Örnek bir derleme olarak bakınız **Thomas, 2012**). Yine, her iki araştırma yönteminin ve sonuçların örtüşebildiğini, bu ayırımın kesin olmadığını hatırlatalım.

Öte yandan, Stearns ve Medzhitov (2016, s: 18), evrimsel biyolojide konulara yaklaşımların genel olarak üç düşünce tarzının biri üzerinde temellendiğine işaret etmektedirler: Biyolojik antiteleri *tipik* olarak ele alma düşünce tarzı (*typological thinking*), *topluluk* olarak ele alma tarzı (*population thinking*) ve *soyağaçları içerisinde ele alma tarzı* (*tree thinking*). Ernst Mayr'ın da belirttiği gibi, Darwin'in evrim düşüncesine en önemli katkılarından biri, Platon'dan beri hüküm süren tipolojik düşünce tarzını topluluk düşüncesiyle değiştirmesidir (**Mayr, 1997**). Topluluk düşüncesinin en önemli desteklerinden biri de mikroorganizmalar dünyasından gelmektedir. Son yıllarda moleküler biyoloji araştırmalarında gözlenen teknolojik ilerlemeler, genel olarak biyolojide uzun süredir bir sorun olarak ele alınan türleşme konusunu daha da karmaşıklaştırmış, herhangi bir mikroorganizmadan (ve özellikle bir virüsten) söz edildiğinde gerçekte bir 'varyasyonlar' topluluğunun anlaşılması gereği ortaya çıkmıştır (**Casiraghi, 2016; Barraclough, 2012; Domingo, 2016**). Koonin ve Wolf (2012), yüksek verimli yeni kuşak dizileme teknikleri ile dizilenen çok sayıda mikroorganizma ve virüs (bundan sonra toplam olarak *mikrop*) tam genomlarının yeni evrimsel fenomenleri (yaygın horizontal gen transferi; prokaryotlarda adaptasyonun bir biçimi olarak neo-Lamarckçı kalıtım; evrimleşebilirliğin evrimi vb.) ortaya çıkardığını saptamaktadırlar; burada bu tartışmaların ayrıntılarına girilmeyecektir (Mikrobiyal genomik çalışmalarının Modern Sentez açısından yorumları ve etkileri Koonin, 2009 ve Booth, 2016'da gözden geçirilmiştir). Yine, bu yeni kuşak dizileme teknikleri, ilişkide

olduğumuz mikrop sayısının klasik yöntemlerle (örneğin, kültür temelli, elektron mikroskopik ve immünolojik tekniklerle) tanımlanmış olanlardan çok daha fazla olduğunu göstermiştir (aşağıya bakınız).

Evrimsel süreçleri soyağaçları içinde ele alma tarzı Darwin'in *Türlerin Kökeni*'nden bu yana başarıyla kullanılmakta olup, Woese (ve Fox) (1977) ile zirveye ulaşmıştır (Bütün canlılar 16S rRNA dizilemelerine göre Bakteriler, Arkeonlar ve Ökaryotlar olarak gruplanırlar). Ancak, son yıllarda genomik alanındaki ilerlemeler ve yapılan çalışmalar, 16S rRNA ağaçlarının mikrop evrimini açıklamakta yetersiz kaldığını, bir mikrop türünün tüm genomları (pangenom) arasında devamlı gen akışının söz konusu olduğunu göstermiştir (**Koonin, 2015**). Örnekleme gerekirse, ortalama 5000 gen içeren *Escherichia coli* bakterilerinden tam genom dizilemesi yapılan 2085 suşta 3188 gen ailesinden oluşan bir kor genom bulunurken, pangenom yaklaşık 89.000 farklı gen ailesinden oluşmaktadır (**Land, 2015**). Dolayısıyla, "prokaryotların evrimi başlıca gen kazanımı ve gen kaybıyla şekillenmektedir"; ancak, "genlerin evrimi doğası itibarıyla ağaç benzeridir" (**Koonin, 2015**). Nitekim klinik ve epidemiyolojik alanda bu tarz çalışmalarla enfeksiyonların kaynakları, nasıl yayıldıkları ve onlarla nasıl başa çıkılacağına ilişkin birçok bilgiye ulaşmak mümkün olmaktadır (**Hartfield, 2014**). Kolayca anlaşılacağı gibi bu durum ağaç düşüncesinin reddini gerektirmemektedir, ancak gen ağaçlarının prokaryot türünün genom evrimi sırasında anlamlı bir 'ana akımını' temsil ettiğinden (bilgi akışının %60'dan çoğu temsil edilmez) "istatistiksel yaşam ağacı" olarak adlandırılması önerilmiştir (**O'Malley, 2011**). Öte yandan, suşa özgü adaptasyonlarla ilgili birçok geçici gen (antibiyotik direnci, virülans, substrat kullanımı vb.) bu pangenom ağı içerisindeki bağlardır. Kor genom (türün bütün üyelerinde ortak bulunan genom dizileri ki pangenomun sadece bir bölümünü temsil etmektedirler) dışında ama pangenom içerisinde yer alan bu genlere gereksinim duyulduğunda bunlardan yararlanılmaktadır. Yine bu ağ (*network*) içinde horizontal (lateral) gen aktarımı (*horizontal gene transfer*, HGT)'ndan sorumlu çeşitli *bencil* elemanlar da bulunmaktadır (fajlar, plazmidler ve transpozabl elemanlar). HGT bakterilerle arkeonların evriminde önemli bir evrimsel güç olarak uzun zamandır bilinmektedir ve gerçekleşme mekanizmaları (konjugasyon, transdüksiyon, transformasyon) tanımlanmıştır (Soucy, 2015'de gözden geçirilmiştir). HGT dışında da gen aktarım mekanizmaları vardır: hücre füzyonu, gen aktarım ajanlarıyla aktarım, endosimbiyotik gen transferi ve introgresyon.

Bütün bu mekanizmalarla genomlar arasında akan genler, sadece belli gen ailelerinde biriken mutasyonlar ya da gen kayıplarıyla değil, örneğin introgresyon gibi bir mekanizmayla aktarılan genler de dikkate alındığında, genomların evriminin ağımsı süreçlerle açıklanabileceğini, soyağaçlarının yeterli olmayabileceğini göstermektedir (introgresyon: belli bir evrimsel birime ilişkin genetik materyalin farklı konak yapıları içinde yer alıp bu konak yapılarında replike olmalarıyla görülen türeyiş süreci). Bu ağımsı (*reticulate*) evrimsel süreçlerin kalitatif ve kantitatif önemi gittikçe daha iyi anlaşıldığından kimi yazarlar evrimsel biyolojide yeni bir düşünme tarzı çağına girildiğine işaret etmektedirler: Evrimsel süreçleri *ağ oluşturma* şeklinde düşünme tarzı (*Network thinking*) (Corel, 2016). Ağları açıklığa kavuşturma çalışmaları mikroplarla ilişkili birçok evrimsel sürecin anlaşılmasına çok sayıda biyolojik düzeyde önemli katkılar sağlayacağına benzemektedir: biyofilmler, antimikrobiyal direnci, immün yanıtlar, holobiyontlar (aşağıya bakınız) gibi.

Sonuç olarak, mikroplarla ilgili çalışmalar evrimsel süreçlerin anlaşılmasına ve bu süreçlere bakışımıza yeni katkılar sunmuş, Woese'un öngörüsünü doğrular olmuştur: "*Dolayısıyla, ister hoşlanın ister hoşlanmayın, mikrobiyoloji gelecekteki evrimsel çalışmaların merkezinde yer alacaktır – ve bunun tersi de doğrudur*" (Woese, 2006). Pek doğal, bütün bu gelişmeler enfeksiyon hastalıklarının evrimi, epidemiyolojisi, tedavisi ve korunma olanakları, patojen tanımı, konak patojen ilişkileri vb. birçok konuda anlayışımızı değiştirmektedir. Bu yazıda, önce mikroplarla ilişkimiz ele alınacak, enfeksiyon hastalıkları açısından evrimsel süreçler ve çalışmaların yöntemleri ve zorlukları üzerinde kısaca durulacak ve son olarak, klinikte önemli bir sorun olan antibiyotik direnci konusu evrimsel açıdan tartışılacaktır. Yer sınırlaması nedeniyle mikroplarla deneysel evrim çalışmalarına değinilmeyecektir; yeni öğrenciler için Kolter, Maloy: 2012; Barrick, Lenski: 2013; Adams, Rosenzweig: 2014; Domingo: 2016 ve Fisher, Lang: 2016 önerilir. Ancak bu deneylerle, aseksüel topluluklarda Muller mandalı (*Muller's ratchet*), Kızıl Kraliçe (*Red Queen*) hipotezi ya da yarışmacı dışlama (*competitive exclusion*) gibi genel genetik ilkelerin test edildiğini ve doğrulandığını belirtmek gerekir.

Mikroplar ve biz

İnsan üzerinde ve içinde yaşayan mikroorganizmalar ve virüsler bakımından, şimdilerde metagenomik çalışmalar sayesinde, çok daha açıklayıcı kantitatif verilere sahibiz. Yaklaşık 3×10^{13} - 4×10^{13} (30-40 trilyon) hücreye sahip sağlıklı erişkin insan

vücudunda, 3×10^3 - 40×10^{13} arasında bakteri hücresi bulunmaktadır (Bianconi, 2013; Sender, 2016). İnsan bağırsağındaki bakteriyofajların sayısı bakterilerin sayısına yakındır; bakteriler $\sim 10^9$ /gr dışkı yoğunluğunda bulunuyorken virus benzeri partiküller (*virus-like particles*, VLP'ler) $\sim 10^8$ - 10^9 /gr dışkı düzeyinde bulunmaktadırlar. VLP çeşitliliğinin oranı kabaca bakteri çeşitliliği oranına benzemektedir (Ogilvie, 2015). Ek olarak, asemptomatik insan konaklarda ortalama olarak 10 kadar kalıcı sistemik ökaryotik virus enfeksiyonu vardır (Virgin, 2014). Toplam mikrobiyotanın ± 0.1 kadarını oluşturmalarına karşın, mantarlar sağlıklı insanların sindirim sisteminde de yerleşiktirler ve burada 66 mantar cinsi ve 184 mantar türü bulunur (Mukherjee, 2015). Metanojenik arkeonların (*archaeon* tekil; *archaea* çoğul) insan bağırsağındaki varlığı uzun yıllardan bu yana bilinmesine ve toplam 6 takım (*order*) tanımlanmış olmasına karşın bağırsak arkeobiyomu çalışmaları son yıllarda bunlara yeni üyelerin (*Thermoplasmatales* takımı) eklenmesini sağlamıştır ve insanlarda toplam 20 arkeon türü tanımlanmıştır. Yapılan ölçümler, insan dışkısının gramında 107-108 metanojen arkeon bulunduğuna işaret etmektedir (Gaci, 2014). İnsan metagenom çalışmaları insan mikrobiyomunun insanın önemli kimi fizyolojik işlevlerinin kodlayıcısı olduğunu ve disbiyozun (mikrobiyota yapısının bozulması) kimi insan hastalıklarına kaynaklık edebildiğini (ya da açıklamalar getirdiğini) göstermiştir (Bu konuda çok sayıda çalışma, derleme yayın ve kitap yayınlanmıştır; yeni öğrenciler için Sommer, Böckhed: 2013; Hollister ve ark.: 2014; Relman: 2015; Marchesi ve ark.: 2016, Tomkovich, Jobin: 2016 ve Yong: 2016 önerilir).

Burada verdiğimiz insan konak örneğinde olduğu gibi, genel olarak, hayvan ve bitkilerin artık otonom birer birim olmadığı, buna karşılık son birkaç on yılda yapılan araştırmalarla, konağın onun simbiyontlarıyla birlikte ele alınması gerektiği ileri sürülmüştür. Bu durum holobiyont ve hologenom kavramlarının ortaya çıkışına yol açmıştır (Kaynak Bordenstein, Theis: 2015; Theis ve ark.: 2016; Rosenberg, Zilber-Rosenberg: 2016 ve Salvucci: 2016'da gözden geçirilmiştir). *Holobiyont*, kısaca, bir konak ve onun mikrobiyotasından oluşan bir biyolojik organizasyon birimini, *hologenom* terimi ise konak genomu ile onun (hücre) organellerinin genomlarını ve onun mikrobiyomunun toplam genetik içeriğini ifade eder. Mikrobiyal simbiyontlar (zorunlu ya da fakültatif olarak toplam) *sürekli ya da süresiz (geçici) olabilirler, vertikal ya da horizontal* aktarılabilirler ve bağlama göre zararlı, zararsız ya da yararlı olabilirler. Çoğu durumda bu etkileşimlerin

net çıktısı öteki simbiyontların varlığıyla değişim göstermektedir. Bir holobiyont ölçeğindeki çoklu özellikler doğrudan hologenomla ilişkilidir. Mikrobiyal genomlar hologenomun sabit ya da labil bileşenleri olabilirler, vertikal ya da horizontal aktarılabilirler ve kodladıkları özellikler (*traits*) bağlama bağımlıdır, hasar ya da yararlı sonuçlanabilirler veya holobiyont üzerinde bir etki göstermezler. Görüleceği gibi, bu terimler operasyonel değil yapısal tanımları ifade etmektedir; bu nedenle de kimi itirazlar olmuştur (Theis ve ark.: 2016'da özetlenmiştir; ayrıca Douglas, Werren: 2016'ya bakınız). Burada ayrıntılarına girilmeyecektir; ancak holobiyontlar ve onların hologenomlarının evrimsel biyolojinin kurallarını değiştirmedeği belirtilmelidir.

Yine bu bağlamda Ryan (2016), insan genomunun iki ayrı holobiyontik evrimsel değişim çevrimini deneyimlediğine işaret etmektedir. Bunlardan birisi bizim insan mitokondrimizin oluşmasına yol açan bakteriyel simbiyontla ilgilidir ki soluma işlevimizin temelidir. İkincisi ise genomik evrimimize, embriyoloji ve erişkin fizyolojisine katkı veren bir dizi retroviral genomun genomumuza yerleşmesidir.

Bu genel çerçevede ortaya çıkan soru önemlidir: Peki o halde bir patojen nedir? Özellikle primer patojen denen mikroplar dışındaki fırsatçı patojenlerin evrimini belirleyen dinamikler nelerdir? Bunlar ve benzer soruların yanıtları yine evrimsel biyoloji açısından bir sonraki bölümün konusudur.

Patojen nedir?

Falkow 1997'de bakteriyel patojenleri pratik açıdan hastalığa neden olma yeteneğindeki mikroorganizmalar olarak tanımladıktan sonra onları iki temel tipe ayırıyordu: primer patojenler ve fırsatçı patojenler. Primer patojenler normal bireylerin en azından bir bölümünde düzenli olarak hastalığa yol açanlar olarak tanımlanırken, fırsatçı patojenler sadece ya doğal ya da hümmoral immün yanıtları bozulmuş olan bireylerde hastalık yapanlar olarak sınıflandırılmıştı. Falkow, yine de, bir konakta fırsatçı patojen olan mikroorganizmanın bir diğer konakta primer patojen özelliği göstereceğini belirtmiştir. Mikrobiyotanın daha iyi tanımlanması ve gelişen mikrobiyom çalışmaları özellikle simbiyontların ne zaman bir patojen haline geçebildiğine ilişkin soruları ortaya çıkarmıştır.

Blaser ve Falkow (2009), bir patojenle bir simbiyont arasında intrensek bir farkın olmadığına değinerek farkın konak-mikrop ilişkilerinin biyolojik bağlamı içerisinde sembiyotik ya da parazitik olarak ortaya

çıktığını saptamaktadırlar. Bu bağlamda bir simbiyontla bir patojen arasındaki farklara ilişkin özellikleri şöyle sıralamaktadırlar: Patojenler genellikle klonaldır, genellikle konak yanıtlarını uyandırır ve işlerini genellikle bir iz bırakmaksızın gerçekleştirirler. Oluşan enfeksiyon hastalığı patojenle özgül konak arasındaki etkileşimin bir işlevidir ve konak, mikrop ve çevresel koşullardan oluşan bir matriks tarafından belirlenmektedir. Konak gen havuzu, konağın kendisinde yerleşik mikroorganizmaların da genlerini içermektedir ve mikrobiyotanın birçok üyesi patojenlerle kolonizasyonun önlenmesi için seçilmektedirler. Casadevall ve Pirofski (2002) ise bir patojenin konağını tanımlamadan tanımlanamayacağını ve konağında hasara yol açma yeteneğinde olan bir mikrop olarak ele alınmasını gerektiğini ileri sürmüşlerdir. Bu yazarlar (2003), bu temelde mikrobiyal patogeneze için hasar yanıt çerçevesi (*damage-response framework*, DRF) anlayışını geliştirmişler, klasik patojenlik (duyarlı bir konakta bir mikrobun hasar oluşturma kapasitesi) ve virülanslık (bir mikrobun, kendi türü içinde, bir konakta göreceli hasar oluşturma kapasitesi) konseptlerinin patogeneze süreçlerini açıklamada/anlamakta yetersiz kaldıklarını ileri sürmüşlerdir. DRF'ye göre virülans mikroba ya da konağa özgü bir özellik olmaktan çok konak-parazit ilişkisinin bir sonucu olarak tanımlanmaktadır. Dolayısıyla, mikropların patojenler, non-patojenler, fırsatçılar, kommensaller gibi sınıflandırılma girişimleri yanlış yönelimlerdir, çünkü bu gibi tanımlar konak, mikrop ve bunların ilişkilerini göz ardı eden mikroba ilişkin özelliklere vurgu yapmaktadırlar (**Pirofski , 2012**). Bu yazarlar, holobiyont konseptinin gelişmesiyle DRF'yi yeniden ele almışlar ve konağı "sahip olduğu mikrobiyom/mikrobiyotaya ev sahipliği yapan, mikroplarla etkileşime giren ve onlara hasar, yarar ya da duyarsızlıkla sonuçlanan bir şekilde yanıt veren, böylelikle de sembiyoz, kolonizasyon, kommensalizm, latentlik ve hastalık durumunu üreten bir antite" olarak tanımlamışlardır (**Casadevall, 2015**). Ancak, dikkat edilirse DRF'nin çevresel etkileri göz önüne almadığı görülecektir. Oysa son yıllardaki çalışmalar patojen evriminin ekolojik faktörlerle (örneğin, çevre içerisindeki duyarlı konak dağılımı gibi) ve ko-enfeksiyon etkileriyle önemli ölçüde etkilendiğini göstermektedir (Jackson, 2011'de gözden geçirilmiştir). Keen (2012), evrimsel açıdan patojenleri iki geniş kategoride ele almaktadır: zorunlu patojenler (zaman içinde dönüşümsüz olarak uzmanlaşmış parazitler) ve "Jekyll ve Hyde patojenler" (mobil genetik elementlerle hızlıca, ancak geriye dönüşümlü olarak patojen hale geçen serbest yaşayan bakteriler). Öte yandan, ekolojik, immünolojik, karşılaştırmalı

genomik ve biyokimyasal yaklaşımlar, belli bir sembiyontun mutualist ya da patojen olarak tanımlanmasının, konak-simbiyont ilişkisindeki geniş bir devamlılık spektrumunda birçok istisnayı, reversiyonu ve transizyonu içerdiğinden güç olduğunu göstermektedir (**Pérez-Brocal, 2013**). Méthot ve Alizon (2014) ise, virülansı (konak uyum gücünde enfeksiyona bağlı azalma) daha iyi anlamamız için patojenle kommensalleri ayıran kimi özgül özellikleri aramak yerine bir mikroorganizmanın bir konakta hangi ekolojik koşullar altında hastalık oluşturma kapasitesi kazandığını sormamız gerektiğini ileri sürmektedirler. Topluca ele alındığında, bir mikrobun patojen özelliğini kazanması (ya da öyle tanımlanması) sadece kendisinin ya da sadece konağın özellikleriyle değil bu ilişkide etkili olan birçok dinamiğin bir süreç içinde bu özelliği oluşturmasıyla ilgilidir. Yani, sorunu mikrop merkezli ya da konak merkezli olarak ele almak yanıltıcı olmaktadır. Böyle bir bakış açısı enfeksiyon hastalıklarının önlenmesi (halk sağlığı önlemleri), tedavisi ve hastalıklardan korunma (bağışıklama) ile ilgili stratejileri de etkileyecektir. Bu bağlamda evrimsel tıp açısından enfeksiyon hastalıklarına yaklaşım birçok sorunu ortaya çıkarmaktadır; bundan sonraki bölüm bu zorlukları ele alacaktır.

Evrimsel biyoloji ve enfeksiyon hastalıkları

Little (2012), her yıl kabaca 10 milyon ölüme neden olan enfeksiyon hastalıklarıyla başarılı bir mücadelenin yapılabilmesi için evrimsel biyolojinin konsept ve tekniklerinin geleneksel immünoloji ve patojen biyolojisi yaklaşımlarına entegre edilmesi gerektiğini ileri sürmektedirler. Yazarlara göre, enfeksiyon hastalıklarıyla mücadelede kimi stratejiler kısa dönemde başarılı olurken kimileri de uzun erimli çabalar sonunda başarılı olmaktadır ve bu farklı sonuçların altında yatan en önemli neden evrimdir. Böylelikle evrimin iki ana kategoride tehdit oluşturduğunu, bunlardan birinin girişimler kaynaklı evrim (örneğin antimikrobiyal direnci), diğerinin ise (çağlar boyunca) geçmiş evrimin güncel girişimlerle bir araya gelmesi olduğunu (antijenik dönüşüm vb.) saptamaktadırlar. Böyle bir entegrasyon ancak multidisipliner bir çaba sonunda gerçekleşebilecektir ve şimdilerde bunun başarılı örnekleri verilmektedir. Yine de bu entegrasyon kolay değildir ve birçok sorunla karşılaşmaktadır. Enfeksiyon hastalıkları açısından özellikle çoğul konak, çoğul etken sistemlerinde hastalık ekolojisinin modellenmesi, deterministik epidemik modelleme, ağımsı epidemik modelleme, enfeksiyöz hastalık modellerine davranış dinamiklerinin yerleştirilmesi, yeni patojenlerin ortaya çıkışının modellenmesi, aşıyla

önlenebilir hastalıkların modellenmesi, halk sağlığı politikalarının modellenmesi gibi epidemik modelleme sorunları yanında patojenlerle konaklarının birlikte evriminin biyolojik ve biyomedikal etkilerinin açıklığa kavuşturulması, patojenlerin konakta epigenomik etkilerinin belirlenmesi, enfeksiyon hastalıklarının topluluk (population) dinamiklerinde ölçekler (hücresele düzeyden, konak ve topluluk düzeylerine) düzeyinde ilişkilendirmelerdeki sorunlar, evrimin enfeksiyon hastalıklarının dinamiklerinde oynadığı rollerin açıklığa kavuşturulması gibi birçok sorun ortaya çıkmaktadır (**Roberts, 2015; Buhnerkempe, 2015; Pellis, 2015; Funk, 2015; Lloyd-Smith, 2015; Metcalf, 2015a; Metcalf, 2015b; Woolhouse, 2002; Silmon de Monerri, 2014; Gog, 2015; Metcalf, 2015c**). Yine, hangi mikrop, mantar ya da parazitle olursa olsun enfeksiyona yakalananların sadece bir bölümünde yaşamı tehdit eden hastalık tablosunun görülmesi, ökaryotların evriminin kendileriyle birlikte ama kendilerinden daha hızlı evrimleşen holobiyotlarıyla birlikte gerçekleşmesi ekolojik ve evrimsel bakımdan immünolojik sorunlar ortaya çıkartmaktadır. Bu açıdan, insan genetik varyantlarının da enfeksiyon hastalıkları patogenezi ve evrimsel biyoloji çalışmalarına entegre edilmesi gerekmektedir (Casanova: 2015'de gözden geçirilmiştir). Diğer yandan, ko-enfeksiyonların karşılıklı etkileşim içinde dinamikleri enfeksiyon hastalıkları dinamiklerinin kendi çevrelerindeki uzamsal (*spatial*) ve zamansal (*temporal*) heterojenlikten nasıl etkilendikleri ve enfeksiyon hastalığı bulaşma dinamiklerinin sağlıklı biçimde öngörülebilmesi de önemli araştırma konularındandır (**McCullers JA, 2014; Karst, 2016; Parratt, 2016; Sintchenko, 2015**). Görüleceği gibi evrimin konak ve patojenler üzerindeki etkisi büyüktür, biyolojik kompleksite ile belirsizlikler aşılması gereken önemli sorunlardır, konak ve patojenlerin genetik çeşitliliğini sağlayan evrimsel dinamiklerin anlaşılması bu süreçte merkezi bir konumdadır. Ancak, yukarıda da değinildiği gibi, multidisipliner bir yaklaşımla ve teknolojik gelişmelerin sağladığı olanaklarla, gelecekte, enfeksiyon hastalıklarının birçok gizinin evrimsel biyoloji ilkeleri çerçevesinde açıklığa kavuşturulacağını öngörmek için bilici olmaya gerek yoktur. Bir sonraki bölümde, ilerlemenin en hızla sağlandığı bir örnek olarak antimikrobiyallere direnç konusu ele alınacaktır.

Antimikrobiyallere direnç

Antimikrobiyal ilaçlara direnç tedavi edilemez enfeksiyonlarla, ölümlerle ve artan halk sağlığı harcamalarıyla sonuçlanan dünya ölçeğinde bir sorundur. Enfeksiyon etkenleri kendilerine etkili

olan antimikrobiyallere direnç geliştirmenin değişik mekanizmalarına sahiptirler ve önemli evrimsel sonuçlara yol açarlar (Kaynak Hughes, Andersson: 2015'de gözden geçirilmiştir). Bakterilerde antibiyotiklere direnç geliştirmenin çeşitli moleküler mekanizmaları tanımlanmıştır (Blair, 2015; Holmes, 2016). Doğal direnç (intrensek direnç) yanında bakteriler antibiyotiklere üç farklı yoldan direnç geliştirmektedirler: (i) antibiyotiğin bakteri içerisindeki yoğunluğunu en aza indirerek; (ii) antibiyotik hedefini değiştirerek ve (iii) antibiyotiği hidroliz ya da modifikasyon yoluyla inaktive ederek (Cox, 2013). Bunlar dışında biyofilm oluşumu da bir bakteriyel direnç mekanizmasıdır, ancak burada ayrıntısına girilmeyecektir (Kaynak Jolivet-Gougeon, Bonnaure-Mallet: 2014'de gözden geçirilmiştir). Bakteriler yaşam döngülerinde düşük spontan mutasyon oranlarına sahiptirler (~10⁻¹⁰/nükleotit/replikasyon döngüsü). Dolayısıyla bu düşük mutasyon oranı, mutasyon yoluyla direnç gelişimini sınırlamaktadır. Bakterilerde dirençle ilişkili mutasyonların önemli bir bölümü genom parçalarının duplikasyonu ya da amplifikasyonu yoluyla gerçekleşir. Bakteriler, mutasyonlar dışında HGT (transdüksiyon, konjügasyon ve transformasyon) yoluyla da direnç kazanmaktadırlar. HGT, bakterilerde tek bir genetik olayla çoklu ilaç direncine neden olabilmektedir. Spontan mutasyonla ortaya çıkan ilaç direncine en önemli örnek *Mycobacterium tuberculosis* iken, gram negatif ve gram pozitif bakterilerdeki β -laktam direnci başlıca HGT yoluyla β -laktamazların edinilmesi sonucunda oluşur. Fluorokinolonlara dirençte ise hem mutasyonlar hem de HGT sorumlu olabilmektedir. Sonuç olarak, çoğu bakterilerde antibiyotik direnci tedaviye bağlı yeni mutasyonlar sonucu değil, ortamda var olan direnç genlerinin HGT yoluyla edinilmesiyle ortaya çıkmaktadır. Antibiyotiklerin direnç genlerine sahip olmayan bakterileri öldürmesiyle de topluluk içerisinde direnç genlerine sahip olanlar egemenlik kazanmakta (ilaç baskısıyla direncin seçilimi) ve sonuçta antibiyotik etkisiz kalmaktadır. Bu direnç genlerinin kaynağı nedir? Kullanımdaki antibiyotiklerin çoğu toprakta yerleşik mantar ve (saprofit) bakterilerin türevi ya da onların ürünleridir (sadece sulfonamidler ve fluorokinolonlar tümüyle sentetik ilaçlardır, ancak direnç gelişiminden muaf değildirler). Öte yandan, bakterilerle mantarlar arasında birlikte evrimleşme sırasındaki evrimsel rekabet sonucunda ortaya çıkan antibakteriyel ürünler de savunma aracı (direnç elemanı) olarak kullanılmaktadır. Sonuç olarak, bakteriler hem kendi ürettikleri antibiyotiklere hem de mantarların ürünü olan antibakteriyellere karşı direnç geliştirmişlerdir (bu

durumun iki istisnası vardır; kendileri antibiyotik üreticisi olmayan *Shewanella algae*'de *qnrA* ve *Kluyvera*'da *blaCTX-M* direnç genleri). Yine, şimdilerde, çevrenin direnç genlerinin (eski/yeni) önemli bir kaynağı olduğu iyi anlaşılmıştır. Günümüzde klinikte, insan ve hayvanların mikrobiyomunda ve çevrede bulunan bakterilerdeki tüm direnç genlerinin (protorezistans elemanlar da dâhil olmak üzere) toplamına "rezistom" adı verilmektedir (Wright, 2010). Yapılan çalışmalarda, (binlerce, milyonlarca yıl eskiye dayanan) direnç genlerinin permafrost (donmuş toprak) ve izole mağaralardan alınan örneklerde mevcut olduğu, ancak insan örneklerinde (mikrobiyom) antibiyotiklerin kullanıma girmesinden önceki dönemlerde çok nadir bulunduğu saptanmıştır (Kaynak Perry ve ark. 2016'da gözden geçirilmiştir). Bu çalışmalar antibiyotik direncinin eskiye dayandığını, ancak doğal ortamlarında antimikrobiyallere dirençli mikroorganizmaların seçiliminin etkili olmadığını, buna karşılık bu direnç genleri kaynağının mobilize olarak insan patojenlerine geçebildiğini, insanlarda ve tarımda antibiyotik kullanımıyla böylesi bakterilerin seçim baskısına uğrayarak klinikte sorun oluşturduğunu göstermektedir. Dolayısıyla, dirençli patojen bakterilerin evriminde seçici güçler ilaç tedavisi altındaki hastalarda böylesi bakterilerin yaşamda kalım ile ilaç temasının çok az olduğu çevrelerdeki yaşamda kalımdır. Bakteriyel patojenlerin ve antibiyotiklere direnç gelişiminin konak içi evrimsel dinamikleri tam genom ölçeğinde dizilemelerle (genomik) gösterilmektedir (Didelot ve ark.: 2016'da gözden geçirilmiştir).

Antibiyotik baskısının olmadığı durumlarda direncin sürdürülmesinin fizyolojik bedelinin dirençli allelin yitimine neden olacak denli güçlü olabileceği, böylelikle de patojenin yeniden ilgili antibiyotiğe duyarlılaşabileceği düşünülse de gerçekte bu böyle olmamaktadır. Bunun temelde dört nedeni vardır: (i) direncin uyum bedeli seçilmeye yetecek denli büyük değildir ve bu nedenle direnç genleri, ilaç ortamdan çekildikten sonra da yıllarca bakteri topluluğunda kalmaktadırlar; (ii) direncin bedeli büyük olduğunda bile bu durum kompensatuvar mutasyonlarla ya da direnci sadece ilaç varlığında aktive eden genetik düzenleyici mekanizmalarla etkisizleştirilebilmektedir; (iii) bir direnç geninin varlığının bir antibiyotikle devamlı seçilimi, direnç geninin bedelini kompanse etmekle kalmayan, aynı zamanda da antibiyotiğin yokluğunda bile onun varlığını bakterinin üremesi için gerekli kılan mutasyonların birikimine yol açabilmektedir ve (iv) antibiyotik direnci mutasyonları, kimi durumlarda, antibiyotikle

seçilim baskısı olmadığına da dirençli mutanta bir uyum avantajı sağlayarak virülansta artışa yol açar (Baym, 2016). Günümüzde bir yandan antibiyotik direncinin seçilim avantajının geriye döndürülmesi ya da en azından minimize edilmesi için çeşitli stratejilerin geçerliliği araştırılmaktadır (Baym ve ark. 2016; Holmes ve ark. 2016 ve Marston ve ark. 2016'da gözden geçirilmiştir).

Virüslere karşı tedavi için birçok strateji geliştirilmiş, bu stratejilerin kimileri virüs hastalıklarının tedavisinde kullanılan ilaçlarla günlük uygulamalara girmiştir, burada ayrıntılarına girilmeyecektir (Lou, 2014). İnsanlarda enfeksiyon hastalığına yol açan 9 virüs için 2016 yılı Nisan ayı itibarıyla 90 antiviral ruhsatlandırılmıştır ve bunların çoğu HIV (human immunodeficiency virus) ve HCV (hepatitis C virus) tedavisinde kullanılmaktadır (De Clercq, 2016). Virüslerde yüksek mutasyon hızları saptanmaktadır: RNA virüsleri için 10^{-5} - 10^{-3} , DNA virüsleri için 10^{-8} - 10^{-3} , retrovirüsler için 10^{-6} - 10^{-4} (Domingo, 2016). Bu farklılığın kimi nedenleri vardır. RNA virüslerinin büyük çoğunluğunun polimerazı 3' ekzonükleaz hata okuma yeteneğinden yoksundur ve bu nedenle DNA virüslerine göre replikasyonda sadakat hatası yapmaya DNA virüslerinden çok daha fazla eğilimlidir. Revers transkriptazlar da aynı yetenekten yoksundurlar ve bu nedenle retrovirüsler de benzer mutasyon oranlarına sahiptirler (virüslerde mutasyon mekanizmaları Sanjuán, Domingo-Calap: 2016'da gözden geçirilmiştir). Bilindiği gibi özellikle RNA virüsleri yüksek mutasyon hızları nedeniyle bir anlamda devamlı evrimleşen türümsü toplulukları oluşturmaktadırlar (Domingo, 2012). Türümsüler, aynı diziye sahip genomlar yerine, mutant spektrumlarından ibaret viral topluluklardır. Türümsü evrimi replikasyon sırasındaki yüksek mutasyon hızlarıyla ve kimi durumlarda da moleküler rekombinasyon ve segment yeniden karılmalarıyla (*reassortment*) etkilenir. Viral genom dizileri dizilim uzayında hızla genişlerler, uygunsuz (*unfit*) genomlar elimine edilirler. Mutant spektrumları dinamik (durmaksızın değişen) bir genotipik ve fenotipik viral varyantlar deposu oluşturduklarından virusun adapte olma yeteneklerinin kaynağını oluştururlar. Virüs hastalıklarının korunma ve tedavisindeki başlıca zorluk türümsü dinamiklerinden kaynaklanmaktadır. Günümüzdeki ruhsatlı antivirallerin çoğunun HIV (41 antiviral) ve HCV (18 antiviral) için bulunması rastlantı değildir, çünkü her iki virüs de türümsüler oluşturmaktadırlar ve tedavilerde direnç en önemli sorunlardan biridir.

Bir ya da daha fazla inhibitöre karşı antiviral dirence neden olan mutasyonlar iki parametreye bağımlıdır: dirence genotipik engel ve dirence fenotipik engel (Perales, 2016). Genetik engel ilaca duyarlı bir virüsün dirençli bir virüse dönüşmesi için gerekli mutasyonların tipi ve sayısıyla belirlenir. Direnge fenotipik engeli moleküler terimlerle tanımlamak güçtür çünkü virüsün direnç için gerekli mutasyonları kazandıktan sonra onun sağlamlığını sağlayacak uyum gücü (fitness) bedeliyle belirlenir. Uyum bedeli RNA veya protein düzeylerinde ya da her iki düzeydeki etkilere bağımlıdır. Sonuç olarak antiviral tedavide dirence genotipik engeli arttırmak için kombinasyon tedavilerinin uygulanması sıklıkla yer almaktadır (ancak kimi kez ilaçlara bağlı yan etki artışı nedeniyle sürdürülememektedir). Bunun dışında split tedaviler (bir indüksiyon ve bir sürdürüm aşamaları), virüsün enfekte ettiği hücre işlevlerinin hedef alınması (hedef alınan proteinlere bağlı toksik etkiler ve inhibitör varlığına duyarsız viral mutantların seçilimi), konak doğal immün sisteminin uyarılması, immünoterapi ile kemoterapinin birlikte uygulanması gibi stratejiler de denenmektedir. Son olarak, viral genomdaki mutasyonların fazlalığına bağlı bir viral imha süreci olarak tanımlanan letal mutagenез önerilmektedir.

Ökaryot mikroorganizmalarla (mantarlar ve protozoonlar) oluşan enfeksiyon hastalıklarında kullanılan antimikrobiyallere karşı da direnç gelişmektedir (Fairlamb, 2016). Bakteriyel ve ökaryotik mikroorganizmalar ilaca yanıtta benzerlikler (konaklarından daha hızlı replike olurlar ve dirençli suşlar kısa sürede seçilime uğrarlar, *persister* topluluklar oluşturma fenomeni sergilerler) göstermelerine karşın, ökaryot doğaları nedeniyle, bakterilerin aksine, konaklarına benzerler. Dolayısıyla, kontrol altına alınmalarında ökaryot normlar dışında her bir patojene özgü ilaç geliştirimi önemli bir sorun kaynağı olmaktadır. Mantar enfeksiyonlarında kullanılan antifungal ilaçlara direnç göreceli olarak az olsa da kimi klinik olgularda ciddi dirençlere rastlanılmaktadır. Mantarlar da bakterilere benzer mutasyon oranlarına sahiptirler ve direnç geliştirme mekanizmaları büyük oranda açıklığa kavuşturulmuştur (Srinivasan ve ark. 2014 ile Perlin ve ark. 2015'de gözden geçirilmiştir). Antifungallere direnç ya kalıtsal olarak az duyarlı suşların seçilimiyle (başlıca azol antifungallerde) ya da tedavi sırasında kazanılmış direncin ortaya çıkışıyla görülmektedir. Tedavi sırasında kazanılan direnç mekanizmaları olarak ilaç alımının azaltılması, ilaç hedefinin değiştirilmesi ve/veya ilacın hücresel düzeyinin, dışa atım pompalarının sergilenmelerinin (expression)

artırılmasıyla, azaltılması olarak sayılabilir. Yine, biyofilm oluşumu da ekinokandin ilaçların mantar hücrelerine erişimini engeller ve biyofilmler kalıtsal olarak azollere dirençlidirler. Sıtma açısından klo-rokine dirençte PfCRT (*P. falciparum* chloroquine resistance transporter) işlevlerinde bozulmaya yol açan mutasyonlarla artemisin ve artemisin kombi-nasyonlarında parazitin *Kelch propeller protein 13* proteinini kodlayan gendeki bağımsız mutasyon-larla (ve parazitin diğer genlerindeki mutasyon-ların katkısı) (Tilley ve ark.: 2016'da gözden geçiril-miştir), Afrika tripanozomiyazında ise melarsoprol direncinin seçim sırasında sabitlenen birkaç mu-tasyonla (aminopurine transporter *AT1*, aquaporin *AQP2* ve RNA-binding protein *UBP1*) ilişkili olduğu gösterilmiştir (Pulcini, 2015; Graf, 2016).

Topluca ele alındığında yukarıda değinilen antibak-teriyel, antiviral, antifungal ve antiparaziter ilaçlara direnç gelişimi belli benzerlikler ve belli farklılıklar sergilemektedir. Mutasyonlarla ilaç hedefinin de-ğiştirilmesi yoluyla direnç gelişimi bütün mikroor-ganizmalarda görülüyorken, ilaç dışı atım sistemle-rinin artırılması virüsler dışında yaygın bir olgudur. Direnç evrimi dinamikleri açısından mutasyon des-tek hızları ve direnç mekanizmalarının faktörlerin etkileri de benzerdir. Bakteri, virüs ve parazitlerin uzun erimli evrimsel başarıları sadece enfekte ko-nakta yaşamda kalmaları ve çoğalmalarına da değil aynı zamanda başka konaklara bulaşma yetenekle-rine de bağımlıdır. Yine birçok bakteri ve parazit ko-nak dışında da varlıklarını sürdürmek zorundadırlar ve bu nedenle çeşitli seçim baskılarıyla baş etmek durumundadırlar. Öte yandan, bakterilere benze-meksizin, direnç genlerinin HGT ile kazanılması pro-tozoon parazitler ve mantarlarda gözlenmemekte-dir. Bütün bu süreçler direnç sorununda evrimsel dinamiklerin belirlenmesiyle tanımlanabilecektir. Dolayısıyla, antimikrobiallere direnç sorununa bi-limsel yaklaşım, konunun incelenmesinde burada ele aldığımız ya da almadığımız evrimsel biyoloji ilkelerinin katılımı ve dikkate alınmasıyla giderile-bilecektir.

Sonuç

Evrimsel tıp bakış açısından, belki de, en fazla araştırma ve uygulama alanı bulabilecek uzmanlık dalları Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyoloji'dir. Gluckman ve Bergstrom'un (2011) da değindikleri gibi, evrimsel tıp, kimi tedavi seçimlerinin yapıldığı klinik uygulamalar dışında (antimikrobiyal tedavi gibi), ayrı bir klinik disiplin olmayacaktır (olmama-lıdır da) ama evrimsel bakış açısı/dünya görüşü

araştırma gündemlerini değiştirecek güçtedir. Bu da son erimde kaçınılmaz olarak tıp uygulamalarını etkileyecek önemli bir olgudur.

Kaynaklar

- Adams, J., Rosenzweig, F. (2014) *Experimental microbial evolution: history and conceptual underpinnings*. *Genomics*, 104: 393-398.
- Barraclough, T.G., Balbi, K.J., Ellis, R.J. (2012) *Evolving concepts of bacterial species*. *Evol Biol*, 39: 148-157.
- Barrick, J.E., Lenski, R.E. (2013) *Genome dynamics during experimental evolution*. *Nat Rev Genet*, 14: 827-39.
- Baym, M., Stone, L.K., Kishony, R. (2016) *Multidrug evolutionary strategies to reverse antibiotic resistance*. *Science*, 351: aad3292.
- Bianconi, E., Piovesan, A., Facchin, F., Beraudi, A., Casadei, R., Frabetti, F. ve ark.. (2013) *An estimation of the number of cells in the human body*. *Ann Hum Biol*, 40: 463-71.
- Blair, J.M.A., Webber, M.A., Baylay, A.J., Ogbolu, D.O., Piddock, L.J.V. (2015) *Molecular mechanisms of antibiotic resistance*. *Nat Rev Microbiol*, 13: 42-51.
- Blaser, M.J., Falkow, S. (2009) *What are the consequences of the disappearing human microbiota?* *Nat Rev Microbiol*, 7: 887-894.
- Booth, A., Mariscal, C., Doolittle, W.F. (2016) *The modern synthesis in the light of microbial genomics*. *Ann Rev Microbiol*, 70: 279-297.
- Bordenstein, S.R., Theis, K.R. (2015) *Host biology in light of the microbiome - Ten principles of holobionts and hologenomes*. *PLoS Biol*, 13: e1002226.
- Buhnerkempe, M.G., Roberts, M.G., Dobson, A.P., Heesterbeek, H., Hudson, P.J., Lloyd-Smith, J.O. (2015) *Eight challenges in modelling disease ecology in multi-host, multi-agent systems*. *Epidemics*, 10: 28-30.
- Casadevall, A., Pirofski, L. (2002) *What is a pathogen?* *Ann Med*, 34: 2-4.
- Casadevall, A., Pirofski, L. (2003) *The damage-response framework of microbial pathogenesis*. *Nat Rev Microbiol*, 1: 17-24.
- Casadevall, A., Pirofski, L. (2015) *What is a host? Incorporating the microbiota into the damage-response framework*. *Infect Immun*, 83: 2-7.
- Casanova, J-L. (2015) *Human genetic basis of interindividual variability in the course of infection*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 112: E7118-E7127.
- Casiraghi, M., Galimberti, A., Sandionigi, A., Bruno, A., Labra, M. (2016) *Life with or without names*. *Evol Biol (in press)*.
- Corel, E., Lopez, P., Méheust, R., Baptiste, E. (2016) *Network-thinking: Graphs to analyze microbial complexity and evolution*. *Trends Microbiol*, 24: 224-237.
- Cox, G., Wright, G.D. (2013) *Intrinsic antibiotic resistance: mechanisms, origins, challenges and solutions*. *Int J Med Microbiol*, 303: 287-292.
- De Clercq, E., Li, G. (2016) *Approved antiviral drugs over the past 50 years*. *Clin Microbiol Rev*, 29: 695-747.
- Didelot, X., Walker, A.S., Peto, T.E., Crook, D.W., Wilson, D.J. (2016) *Within-host evolution of bacterial pathogens*. *Nat Rev Microbiol*, 14: 150-162.

- Domingo, E.** (2016) *Virus as Population. Composition, Complexity, Dynamics, and Biological Implication.* Elsevier Amsterdam, pp: 1-412.
- Domingo, E., Sheldon, J., Perales, C.** (2012) *Viral Quasispecies Evolution.* *Microbiol Mol Biol Rev*, 76: 159-216.
- Douglas, A.E., Werren, J.H.** (2016) Holes in hologenome: Why host-microbe symbioses are not holobionts. *mBio*, 7: e02099-15.
- Fairlamb, A.H., Gov, N.A.R., Matthews, K.R., Waters, A.P.** (2016) Drug resistance in eukaryotic microorganisms. *NMicrobiol*, 92.
- Falkow, S.** (1997) What is a pathogen? *ASM News*, 7: 359-365.
- Fisher, K.J., Lang, G.I.** (2016) Experimental evolution in fungi: an untapped resource. *Fungal Genet Biol*, 94: 88-94.
- Funk, S., Bansal, S., Bauch, C.T., Eames, K.T.D., Edmunds, W.J.** (2015) Galvani AP ve ark.. Nine challenges in incorporating the dynamics of behaviour in infectious diseases models. *Epidemics*, 10: 21-25.
- Gaci, N., Borrel, G., Tottey, W, O'Toole, P.W., Brugère, J.F.** (2014) Archaea and the human gut: New beginning of an old story. *World J Gastroenterol*, 20: 16062-16078.
- Gluckman, P.D., Bergstrom, C.T.** (2011) Evolutionary biology within medicine: a perspective of growing value. *BMJ*, 343: d7671.
- Gog, J.R, Pellis, L., Wood, J.L.N., McLean, A.R., Arinaminpathy, N.** (2015) Lloyd-Smith JO. Seven challenges in modeling pathogen dynamics within-host and across scales. *Epidemics*, 10: 45-48.
- Graf, F.E., Ludin, P., Arquint, C., Schmidt, R.S., Schaub, N., Renggli, C.K. ve ark.** (2016) Comparative genomics of drug resistance in *Trypanosoma brucei rhodesiense*. *Cell Mol Life Sci*, 73: 3387-3400.
- Hartfield, M., Murall, C.L., Alizon, S.** (2014) Clinical applications of pathogen phylogenies. *Trends Mol Med*, 20: 394-404.
- Hollister, E.B., Gao, C., Versalovic, J.** (2014) Compositional and functional features of the gastrointestinal microbiome and their effects on human health. *Gastroenterology*, 146: 1449-1458.
- Holmes, A.H. ve ark.** (2016) Understanding the mechanisms and drivers of antimicrobial resistance. *Lancet* 387: 176-187.
- Hughes, D., Andersson, D.I.** (2015) Evolutionary consequences of drug resistance: shared principles across diverse targets and organisms. *Nat Rev Genet*, 16: 459-471.
- Jackson, R.W., Johnson, L.J., Clarke, S.R., Arnold, D.L.** (2011) Bacterial pathogen evolution: breaking news. *Trends Genet*, 27: 32-40.
- Jolivet-Gougeon, A., Bonnaure-Mallet, M.** (2014) Biofilms as a mechanism of bacterial resistance. *Drug Discov Today Technol*, 11: 49-56.
- Karst, S.M.** (2016) The influence of commensal bacteria on infection with enteric viruses. *Nat Rev microbiol*, 14: 197-204.
- Keen, E.C.** (2012) Paradigms of pathogenesis: targeting the mobile genetic elements of disease. *Front Cell Inf Microbio*, 2: 161.
- Kolter, R., Maloy, S.** (Eds). (2012) *Microbes and Evolution. The World That Darwin Never Saw.* ASM Press, Washington, pp: 1-299.
- Koonin, E.V.** (2009) Darwinian evolution in the light of genomics. *Nucleic Acids Res*, 37: 1011-1034.
- Koonin E.V.** (2015) The turbulent network dynamics of microbial evolution and the statistical tree of life. *J Mol Evol*, 80: 244-250.
- Koonin E.V., Wolf, Y.I.** (2012), Evolution of microbes and viruses: a paradigm shift in evolutionary biology? *Front Cell Inf Microbiol*, 2: 119.
- Land, M., Hauser, L., Jun, S.R., Nookaew, I., Leuze, M.R., Ahn, T.H. ve ark..** (2015) Insights from 20 years of bacterial genome sequencing. *Funct Integr Genomics*, 15: 141- 61.
- Little, T.J., Allen, J.E., Babayan, S.A., Matthews, K.R., Colegrave, N.** (2012) Harnessing evolutionary biology to combat infectious disease. *Nature Med*, 18: 217-220.
- Lloyd-Smith, J.O., Funk, S., McLean, A.R., Riley, S., Wood, J.L.N.** (2015) Nine challenges in modelling the emergence of novel pathogens. *Epidemics*, 10: 35-39.
- Lou, Z., Sun, Y., Rao, Z.** (2014) Current progress in antiviral strategies. *Trends Pharm Sci*, 35: 86-102.
- Marchesi, J.R., Adams, D.H., Fava, F., Hermes, G.D.A., Hirschfield, G.M., Hold, G. ve ark..** (2016) The gut microbiota and host health: a new clinical frontier *Gut*, 65: 330-339.
- Marston, H.D., Dixon, D.M., Knisely, J.M., Palmore, T.N., Fauci, A.S.** (2016) Antimicrobial resistance. *JAMA*, 316: 1193-1204.
- Mayr, E.** (1997) *Evolution and the Diversity of Life.* (Fifth Printing) Harvard University Press; Cambridge.
- McCullers, J.A.** (2014) The co-pathogenesis of influenza viruses with bacteria in the lung. *Nat Rev Microbiol*, 12: 252-262.
- Metcalf, C.J.E., Andreasen, V., Bjørnstad, O.N., Eames, K., Edmunds, W.J., Funk, S. ve ark.** (2015a) Seven challenges in modeling vaccine preventable diseases. *Epidemics*, 10: 11-15.
- Metcalf, C.J.E., Edmunds, W.J., Lessler, J.** (2015b) Six challenges in modelling for public health policy. *Epidemics*, 10: 93-96.
- Metcalf, C.J.E., Birger, R.B., Funk, S., Kouyos, R.D., Lloyd-Smith, J.O., Jansen, V.A.A.** (2015c) Five challenges in evolution and infectious diseases. *Epidemics*, 10: 40-44.
- Méthot, P-O.** Darwin, Evolution, and Medicine: (2015) Historical and Contemporary Perspectives. "Heams T, Huneman P, Lecointre G. Silberstein M (Eds) *Handbook of Evolutionary Thinking in the Sciences*" içinde. Springer Dordrecht, pp: 587-617.
- Méthot, P-O., Alizon, S.** (2014) What is a pathogen? Toward a process view of host-parasite interactions. *Virulence*, 5: 775-785.
- Mukherjee, P.K., Sendid, B., Hoarau, G., Colombel, J-F, Poulain, D., Ghannoum, M.A.** (2015) Mycobiota in gastrointestinal diseases. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 12: 77-87.
- Nesse, R.M.** (2008) The importance of evolution for medicine. "Trevathan WR, Smith EO, McKenna JJ (Eds). *Evolutionary Medicine and Health. New Perspectives*" içinde. Oxford University Press, Oxford, pp: 416-433.
- Ogilvie, L.A., Jones, B.V.** (2015) The human gut virome: a multifaceted majority. *Front Microbiol*, 6: 918.
- O'Malley M.A., Koonin, E.V.** (2011) How stands the Tree of Life a century and a half after *The Origin*? *Biol Direct*, 6: 32.
- Parratt, S.R., Numminen, E., Laine, A-L.** (2016) Infectious disease dynamics in heterogeneous landscapes. *Annu Rev Ecol Evol Syst*, 47: 283-306.

- Pellis, L., Ball, F., Bansal, S., Eames, K., House, T., Isham, V. ve ark.** (2015) Eight challenges for network epidemic models. *Epidemics*, 10: 58-62.
- Perales, C., Domingo, E.** (2016) Antiviral strategies based on lethal mutagenesis and error threshold. *Curr Top Microbiol Immunol*, 392: 323-339.
- Pérez-Brocal, V., Latorre, A., Moya, A.** (2013) Symbionts and pathogens: what is difference? *Curr Top Microbiol Immunol*, 358: 215-243.
- Perlin, D.S., Shor, E., Zhao, Y.** (2016) Update on antifungal drug resistance. *Curr Clin Micro Rpt*, 2: 84-95.
- Perry, J., Waglechner, N., Wright, G.** (2016) The prehistory of antibiotic resistance. *Cold Spring Harb Perspect Med*, 6: a025197.
- Pirofski, L., Casadevall, A. Q&A:** (2012) What is a pathogen? A question that begs the point. *BMC Biol*, 10: 6.
- Pulcini, S., Staines, H.M., Lee, A.H., Shafik, S.H., Bouyer, G., Moore, C.M. ve ark..** (2015) Mutations in the *Plasmodium falciparum* chloroquine resistance transporter, *PfCRT*, enlarge the parasite's food vacuole and alter drug sensitivities. *Sci Rep*, 5: 14552.
- Relman, D.A.** (2015) The human microbiome and the future practice of medicine. *JAMA*, 314: 1127-1128.
- Roberts, M., Andreasen, V., Lloyd, A., Pellis, L.** (2015) Nine challenges for deterministic epidemic models. *Epidemics*, 10: 49-53.
- Rosenberg, E., Zilber-Rosenberg, I.** (2016) Microbes drive evolution of animals and plants: the hologenome concept. *mBio*, 7: e01395-15
- Ryan, F.P.** (2016) Viral symbiosis and the holobiontic nature of the human genome. *APMIS*, 124: 11-19.
- Salvucci, E.** (2016) Microbiome, holobiont and the net of life. *Crit Rev Microbiol*, 42: 485-494.
- Sanjuán, R., Domingo-Calap, P.** (2016) Mechanisms of viral mutation. *Cell Mol Life Sci*, 73: 4433-4448.
- Sender, R., Fuchs, S., Milo, R.** (2016) Are we really vastly outnumbered? Revisiting the ratio of bacterial to host cells in humans. *Cell*, 164: 337-340.
- Silmon, de., Monerri, Kim. K.** (2014) Pathogens hijack the epi-genome. A new twist on host-pathogen interactions. *Am J Pathol*, 184: 897-911.
- Sintchenko, V., Holmes, E.C.** (2015) The role of pathogen genomics in assessing disease transmission. *BMJ*, 350: h1314.
- Sommer, F., Böckhed, F.** (2013) The gut microbiota – masters of host development and physiology. *Nature Rev Microbiol*, 11: 227-238.
- Soucy, S.M., Huang, J., Gogarten, J.P.** (2015) Horizontal gene transfer: building the web of life. *Nat Rev Genet*, 16: 472-482.
- Srinivasan, A., Lopez-Ribot, J.L.** (2014) Ramasubramanian AK. Overcoming antifungal resistance. *Drug Discov Today Technol*, 11: 65-71.
- Theis, K.R., Dheilly, N.M., Klassen, J.L., Brucker, R.M., Baines, J.F., Bosch, T.C.G., ve ark.** (2016) Getting the hologenome concept right: an ecoevolutionary framework for hosts and their microbiomes. *mSystems*, 1: e00028-16.
- Thomas, F., Daoust, S.P., Raymond, M.** (2012) Can we understand modern humans without considering pathogens? *Evol Appl*, 5: 368-379.
- Tilley, L., Straimer, J., Gnädig, N.F., Ralph, S.A., Fidock, D.A.** (2016) Artemisinin Action and Resistance in *Plasmodium falciparum*. *Trends Parasitol*, 32: 682-696.
- Tomkovich, S., Jobin, C.** (2016) Microbiota and host immune responses: a love-hate relationship. *Immunology*, 147: 1-10.
- Wilson, E.O.** (2009) On the future of biology. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol*, 74: 9-10.
- Virgin, H.W.** (2014) The virome in mammalian physiology and disease. *Cell*, 157: 142-150.
- Woese, C.R.** (2006) How We Do, Don't and Should Look at Bacteria and Bacteriology. "Dworkin M, Falkow S, Rosenberg E, Schleifer K-H, Stackebrandt E (Eds). *The Prokaryotes: A Handbook on the Biology of Bacteria (Volume 1)*" içinde. (Third Edition) Springer, New York.
- Woese, C.R., Fox, G.E.** (1977) Phylogenetic structure of the prokaryotic domain: The primary kingdoms. *Proc Natl Acad Sci USA*, 74: 5088-5090.
- Woolhouse, M.E.J., Webster, J.P., Domingo, E., Charlesworth, B., Levin, B.R.** (2002) Biological and biomedical implications of the co-evolution of pathogens and their hosts. *Nature Genet*, 32: 569-577.
- Wright GD.** (2010) The antibiotic resistome. *Expert Opin Drug Discov*, 5: 779-788.
- Yong E. I** (2016) *Contain Multitudes. The Microbes Within Us and A Grand View of Life.* ECCO HarperCollins, New York, pp: 1-355.