

Soole mikrofloora osa immuunsuse mõjutamisel ning probiootikumide tähtsus haiguste vältimises ja ravis

Kaja Julge – TÜ Kliinikumi lastekliinik, laste ja noorukite allergiahaiguste keskus

mikroobid, immuunsus, probiootikumid

Sooletrakti mikroflooral on tähtis osa tasakaalustatud immuunreaktsioonide tekkes. See, missuguste mikroobidega laps koloniseerub, sõltub suurem määral sellest, missuguste mikroobidega ta puutub kokku kohe pärast sündi, aga ka dieedist, rakendatud antibakteriaalsest ravist jm. Soolefloora mõjutab nii kaasasündinud kui ka omandatud immuunmehhanisme, nii humoraalset kui ka rakulist immuunsust. Viimastel aastakümnetel on pööratud väga palju tähelepanu probiootikumidele, nende võimele vältida ja ravida mitmeid haigusi. Probiootikumidena kasutatakse väga erinevaid baktereid, kuid kõigil neil ei ole võrdsed raviomadused ja vähetähtis ei ole asjaolu, et ühele sobib üks, teisele teine.

Enam kui sajand tagasi tegid mikrobioloogid kindlaks, et tervete ja haigete inimeste soole mikrofloora on erinev. Praegu teame, et inimese sooletraktis on kümme korda rohkem mikroobe (10^{14}) kui kehas eukarüootseid rakke (10^{13}) ja kindlaks on tehtud ligikaudu 500 eri tüüpi mikroorganismi (1). Sündides toimub esimene kolonisatsioon ja on äärmiselt oluline, missuguste mikroorganismidega puutub laps kokku sünnimomendil, väga varases imikueas, ning seda mõjutab suurel määral toitmisviis ning antibiootikumide kasutamine (2).

Kujunev soolefloora on barjääri funktsioon organismi ja keskkonnas leiduvate patogeensete mikroobide vahel. Samas on soole mikrofloora oluliseks lüliks, mis annab signaale arenevale immuunsüsteemile. Inimese genoomi kindlakstegemisega (3, 4) ja spetsiifiliste mikroobide genoomi järjestuse teadasaamine on tõestanud nende omavahelist mõju limaskestast tasemel. Soole mikroobide genoom kokku ületab inimese genoomi oma suuruselt 50–100 korda (5). Sooles olevad mikroobid on metaboolselt aktiivsed ja püsivas vastastikusel seoses teiste mikroorganismidega, soole epiteeliga, limaskestaga seotud immuunsüsteemiga, kesknärvisüsteemiga, endokriinsüsteemiga, mõjutades olulisel määral kogu organismi arengut ja füsioloogilisi protsesse (6). Mikrofloora meta-

boolset aktiivsust hinnatakse isegi võrdseks maksa metaboolse aktiivsusega (7).

Väga palju on hakatud soole mikrofloorale tähelepanu pöörama seoses sellega, et viimase neljakümne aasta jooksul on allergiahaigused kõrgelt arenenud majandusega tööstusriikides plahvatuslikult sagenenud, kuid kehvema majandusliku arenguga riikides on need muutused tunduvalt tagasihoidlikumad (8). Selle põhjuseks peetakse seda, et enam arenenud riikides väheneb parema hügieeni tingimustes varases lapseas immuunsüsteemile bakteriaalne stimulatsioon ehk nõrgeneb mikrobiaalne press (9). Sobiv mikrobiaalne immuunstimulatsioon esimestel elukuudel kallutab sündides domineeriva Th2 immuunsuse Th1 suunas, mida kutsutakse ka areneva immuunsüsteemi “koolitamiseks”.

Sünnil saab laps esimesed soolt koloniseerivad mikroobid oma emalt, kuid nende mikroobide ülekande ja geneetiline mõju ei ole praeguseks ajaks veel päriselt selge. Teada on, et raseduseaegne toit, keskkonnamõjud ja stress ning lisaks ka sünnistress mõjutavad ema soole mikrobiaalset koostist ja seeläbi lapsele ülekantavate mikroobide koostlust (10, 11). Kõige varem koloniseerub sooletrakt fakultatiivsete anaeroobidega (enterobakterid, koliformsed bakterid, laktobatsillid, streptokokid), seejärel anaeroobidega (bifidobakterid, bakteroidid, klostriidid,

eubakterid). Olulised muutused toimuvad rinnaga toitmise lõpetamisel ja alles teisel eluaastal muutub soole mikrofloora sarnaseks täiskasvanu omaga (12) ning jääb siis suhteliselt muutumatuks kogu elu jooksul.

Molekulaarsete meetoditega on näidatud, et rinnapiimatoidul oleva imiku sooletrakti mikroobidest moodustavad bifidobakterid 60–90%. Rinnapiima saavate laste sooles kasvavad enam *Bifidobacterium breve*, *B. infantis* ja *B. longum*’i erinevad tüved. Piimhapet produtseerivate bakterite esinemine sooletraktis (*Lactobacillus acidophilus*, *L. gasseri*, *L. johnsonii*) on viimaste uuringute andmeil üsna sarnane imikutel, kes saavad rinnapiima, ja neil, kes saavad piimasegu. Seda seostatakse piimasegude kvaliteedi paranemisega (13). Rinnapiim sisaldab bifidobakterite kasvuks vajalikke oligosahhariide, mida lisatakse nüüd ka imikute piimasegudele. Tahke toidu andmine, antibakteriaalse ravi kuurid, oligosahhariidide puudulik saamine toiduga soodustab täiskasvanutele iseloomuliku mikroobide koosluse arengut.

Viimase kahekümne aasta jooksul on uuritud probiootikumide toimet mitmete kõhulahtisusega kulgevate haigusseisundite puhul (imikute äge kõhulahtisus, antibakteriaalsest ravist tingitud düsbioos, viiruslik ja bakteriaalne infektsioon), süsteemsete infektsioonide vältimisel, põletikuliste soolehaiguste ravis ja profülaktikas, atoopilise dermatiidi ravis ja vältimises, kolesterooli sisalduse vähendamisel, laktoosi taluvuse parandamisel ning on registreeritud nende positiivne mõju (14).

Sooletrakti mittepatogeensetel mikroobidel on oluline immuunsüsteemi tasakaalustav roll ja sellised toimed on kindlaks tehtud ka probiootikumidel. Sooletrakti epiteelis on tolli funktsioonis olevad retseptorid, mis tunnevad ära bakteriga seotud molekulid. Tolli funktsioonis olevad retseptorid mõjutavad põletikumediaatorite produktsiooni ja tagavad normaalse immuunfüsioloogia (15). Selles osalevad immuunglobuliin A, mis vähendab antigeenide kinnitumist soole limaskestale ning suurendab seeläbi selle kaitsefunktsiooni (16), suurenenud põletikuvastase toimega transfor-

meeriva kasvufaktor-beeta (17) ning interleukiin 10 produktsioon (18). Mittepatogeensed mikroobid kaitsevad patogeensete mikroobide liigse paljunemise eest ja väldivad limaskestast kahjustuse teket vastukaaluks patogeensetele, mis lõhuvad limaskestast terviklikkust.

Probiootikumid ehk eubiootikumid on bioloogiliselt aktiivseid mikroorganisme sisaldavad preparaadid, mis toimivad tervisele kasulikult (19). Probiootikumide kasutamise ajalugu ulatub aastasse 1900, kui Ilja Metšnikov pidas Bulgaaria talupoegade pika eluea põhjuseks hapendatud piimaproduktide kasutamist. Mõni aeg hiljem jõudis ta veendumusele, et jogurtis on bakterid, mis takistavad patogeensete mikroobide arengut ja kaitsevad nende kahjustava toime eest. 1930ndatel tehti esimesed katsed tõestamaks probiootikumide head mõju kõhukinnisuse korral. Ligemale sajandi jooksul on uuritud paljude erinevate bakterite kasulikke omadusi.

Järgnevalt on loetletud probiootikumide koostises enam kasutatavad piimhapet produtseerivate bakterite liigid:

- *Lactobacillus* sp. (*L. acidophilus*, *L. casei*, *L. delbrueckii* ssp. (*bulgaricus*), *L. cellobiosus*, *L. curvatus*, *L. fermentum*, *L. lactis*, *L. plantarum*, *L. reuteri*, *L. brevis*);
- *Bifidobacterium* sp. (*B. bifidum*, *B. adolescentis*, *B. animalis*, *B. infantis*, *B. thermophilus*, *B. longum*);
- *Enterococcus* sp. (*Ent. faecalis*, *Ent. faecium*);
- *Streptococcus* sp. (*S. cremoris*, *S. salivarius*, *S. diacetyllactis*, *S. intermedius*);
- mõned pärmiseened (*Saccharomyces cerevisiae*, *Saccharomyces boulardii*).

Probiootikumid võivad mõjutada soolefloora kujunemist, selle koostist ja aktiivsust. Samas võivad nad otsese kontakti kaudu limaskestast rakkudega mõjutada immuunreaktsioone. Probiootikumid kinnituvad inimese sooletrakti limaskestale, kuid ei jää sinna pikaks ajaks püsima. Kõige paremini uuritud piimhapet produtseeriv bakter *Lactobacillus GG* on pärast sissevõtmist roojast isoleeritav veel 2–12 nädala jooksul ning ta toimib ja paljuneb seal nii normaalse sooletrakti seisundi puhul kui

ka näiteks rotaviirusest põhjustatud infektsiooni korral (20). Probiotikumide tervist parandav mõju on seotud tema elujõulisusega ja piisava hulgaga. Soomes tehtud uuringud näitasid, et ainult elujõulised probiotikumid parandasid ägeda atoopilise dermatiidi nähte (21).

Probiotikumide haigustevastast toimet seostatakse nende võimega produtseerida antimikroobseid aineid, stimuleerida lima sekretsiooni, tugevdada soole barjäärfunktsiooni, "võistelda" patogeensete mikroobidega soolele kinnitumise kohtade pärast (22).

Probiotikumide teatud tüvedel on võime parandada nii loomulikku kui ka omandatud immuunsust. On näidatud perifeerse vere leukotsüütide (polümorfonukleaaride ja monotsüütide) fagotsütootilise aktiivsuse kasvu (23), mis on enam väljendunud vanemaealistel inimestel (24); loomulike tappurrakkude arvu suurenemist ja aktiivsuse paranemist (25). Väga palju ei ole teada mehhanismidest, kuidas probiotikumid mõjutavad humoraalset immuunsust, kuid seda seostatakse antigeene esitleva funktsiooni paranemisega ja B-lümfotsüütide arvu suurenemisega.

Katseklaasiuuringutes on näidatud probiotikumide mõjul tsütokiinide (IL-1, IL-2, IL-6, IL-10, IL-12, IL-18, TNF- α , IFN- γ) produktsiooni suurenemist. Nende tsütokiinide immuunmoduleeriv toime on seotud näiteks sellega, et IL-12 ja IL-18 indutseerivad gamma-interferooni teket, mis omakorda soodustab fagotsütoosi protsesse, suurendab T-lümfotsüütide ja loomulike tappurrakkude tsütotoksilist võimet, suurendab vaktsiinide immunogeensust. Tuumorinekroositegur-alfa suurendab makrofaagide funktsioone ning tuumoritevastast tsütotoksilist mõju. Interferoon-alfa kaitseb nii viiruslike kui ka bakteriaalsete nakkuste eest ning omab ka kasvajatevastast toimet, samas stimuleerib IL-1 T- ja B-rakkude proliferatsiooni ning IL-6 mõjutab antikehi sekreteerivate plasmarakkude diferentseerumist. Transformeeriv kasvufaktor-beeta ja IL-10 omavad tugevat põletikuvastast toimet ja vastutavad seeläbi immuunsüsteemi homeostaasi püsimise eest. IL-2 mõjutab kõige enam T-rakuga seotud immuunmehhanisme (26).

Unikaalsed on Ladinova-Zadnikova jt uuringud, mis võimaldavad hinnata sünnil manustatud

probiotikumide mõju 10–20 aastat hiljem (27). Uuriti nii ajalisi ($n = 150$) kui ka enneaegseid ($n = 77$) lapsi. Kohe sünnil mitte-enteropatoogeensete *E. coli* tüvedega koloniseeritud lastel oli nii kümne kui ka kahekümne aasta pärast tunduvalt vähem allergiaprobleeme kui kontrollrühma kuulunud.

Allergia ja põletikuliste seisundite raviefekti seletatakse teatud probiotikumide immuunmoduleeriva toimega. Arvatakse, et probiotilised bakterid suurendavad soole immunoloogilist barjäärfunktsiooni, kontrollivad põletikku tekitavate ja seda mahasuruvate tsütokiinide vahekorda.

Olulise tõuke sellesuunalisteks rohkearvulisteks uuringuteks andsid Eesti ja Rootsi laste soole mikrofloora võrdlevad uuringud allergiaga ja allergiata lastel (28). Soomes korraldatud uuringud on näidanud atoopilise dermatiidi vähenemist probiotikumide kasutamise tulemusena. Rasedusaegses probiotikumide kasutamises (2–4 nädalat enne sünnitust) ja nende kasutamise jätkamises rinnaga toitmise perioodis kuue kuu vältel on nähtud abi atoopilise dermatiidi vähendamises, kuid sensibiliseerumist, s.t IgE antikehade olemasolu ja nahatestide positiivsust see siiski ei vähendanud (29). Mitmed hilisemad uuringud ei ole probiotikumide dermatiiti vähendavat toimet kinnitanud ja põhjuseks võib olla asjaolu, et probiotikumide kasutamisest on abi vaid nendel atoopilise dermatiidiga patsientidel, kellel esineb toiduallergia (30).

Palju on tehtud uuringuid probiotikumide raviva toime hindamiseks ägeda infektsioosse kõhulahtisuse puhul. On tõestatud, et rotaviirusest tingitud haiguse kulg lüheneb, sest tekivad rotaviiruse vastased IgA antikehad. Lühenevad nii viirusest vabanemise aeg kui ka soole suurenenud permeaabluse kestus ning kiiremini taastub soole normaalne seisund (31).

Probiotikumide kasvajakavastast, esmaajoones kolorektaalvähi vastast toimet seletatakse mitme mehhanismiga: toiduga saadud kartsinogeenide detoksikatsioon, soole metaboolse aktiivsuse kasv, butüraatide produktsioon (soodustab rakkude apoptoosi), tuumorirakkude kasvu pidurdumine, immuunsüsteemi tuumorivastase kaitse tugevnemine.

Kokkuvõtteks on loetletud probiootikumidel tõestatud järgmised omadused:

- taastavad antibiootikumravi järel normaalse soolefloora;
- osalevad laktoosi ehk piimasuhkru lõhustamisel ja seega paraneb piimasuhkru omastamine ja taluvus;
- soodustavad kaseiini lammutamist ja seega vähendavad piimaallergia nähtusid;
- parandavad B-grupi vitamiinide ja raua imendumist;

- soodustavad luude ainevahetuseks väga vajaliku kaltsiumi ja fosfori omastamist;
- aitavad vältida kõhulahtisuse teket ja lühendavad selle kestust;
- soodustavad sooleinfektsioonide paranemist;
- aitavad elimineerida organismile kahjulikke ühendeid, võivad vähendada kasvaja tekke riski;
- vähendavad vere kolesteroolisisaldust;
- on nähtud head mõju atoopilise nahapõletiku ravis;
- parandavad üldiselt immuunreaktsioone.

Kirjandus

1. Holzapfel WH, Haberer P, Snel J, et al. Overview of gut flora and probiotic. *Int J Food Microbiol* 1998;41:85–101.
2. Benno Y, Mitsuoka T. Development of intestinal microflora in humans and animals. *Bifidobacteria microflora* 1986;5:13–25.
3. Venter JC, Adams MD, Myers EW, et al. The sequence of the human genome. *Science* 2001;291:1304–51.
4. International Human Genome Sequencing Consortium. Initial sequencing and analysis of the human genome. *Nature* 2001;409:860–921.
5. Hooper LV, Gordon JI. Commensal host-bacterial relationship in the gut. *Science* 2001;292:1115–18.
6. Gruaner F, Malagelada J-R. Gut flora in health and disease. *Lancet* 2002;360:512–19.
7. Hart AL, Stagg AJ, Frame M, et al. Review article: the role of the gut flora in health and disease, and its modification as therapy. *Aliment Pharmacol Ther* 2002;16:1383–93.
8. The International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC) Steering Committee. Worldwide variation in prevalence of symptoms of asthma, allergic rhinoconjunctivitis and atopic eczema: the International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC). *Lancet* 1998;351:1225–32.
9. Matricardi PM, Rosmini F, Rapicetta, et al. Atopy, hygiene, and antroposopic lifestyle. *Lancet* 1999;354:430.
10. Mikelsaar M, Mändar R, Sepp E, Annuk H. Human lactic acid bacteria microflora and its role in the welfare of the host. In: Salminen S, von Wright A, Ouwehand A, eds. *Lactic acid bacteria: microbiological and functional aspects*. New York: Marcel Dekker; 2004.p. 453–506.
11. Bailey MT, Lubach GR, Coe CL. Prenatal stress alters bacterial colonization of the gut in infant monkeys. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2004;38:414–21.
12. Bullen CL, Tearle PV, Stewart MG. The effect of "humanised" milks and supplemented breastfeeding on the faecal flor of infants. *Int J Med Microbiol* 1977;10:403–13.
13. Rinne MM, Gueimonde M, Kalliomäki M, et al. Similar bifidogenic effects of prebiotic-supplemented partially hydrolyzed infant formula and breastfeeding on infant gut microbiota. *FEMS Immunol Med Microbiol* 2005;43:59–65.
14. Parvez S, Malik KA, Kang Sah, et al. Probiotics and their fermented food products are beneficial for health. *J Appl Immunol* 2006;100:1171–85.
15. Von der Weid, Bulliard C, Schiffrin E. Induction by a lactic acid bacterium of a population of CD4 T cells with low proliferative capacity that produce transforming growth factor and IL-10. *Clin Diagnost Lab Immunol* 2001;8:695–701.
16. Kirjavainen PV, Salminen SJ, Isolauri E. Probiotic bacteria in the management of atopic disease: underscoring the importance of viability. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2003;36:223–7.
17. Rautava S, Kalliomäki M, Isolauri E. Probiotics during pregnancy and breast-feeding might confer immunomodulatory protection against atopic disease in the infant. *J Allergy Clin Immunol* 2002;109:119–21.
18. Pessi T, Sütas Y, Hurme M, et al. Interleukin-10 generation in atopic children following oral *Lactobacillus rhamnosus* GG. *Clin Exp Allergy* 2000;30:1804–8.
19. Food and Agriculture Organization of the United Nations and World Health Organization. Guidelines for the evaluation of probiotics in food 2002. (http://www.who.int/foodsafety/fs_management/en/probiotic_guidelines.pdf)
20. Szajewska H, Mrukowicz JZ. Use of probiotics in children with acute diarrhea. *Paediatr Drugs* 2005;7:111–22.
21. Isolauri E, Arvola T, Sütas Y, et al. Probiotics in the management of atopic eczema. *Clin Exp Allergy* 2000;30:1604–10.
22. Gill HS. Probiotics to enhance anti-infective defences in the gastrointestinal tract. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2003;17:755–73.
23. Schiffrin EJ, Rochat F, Link-Amster H, et al. Immunomodulation of human blood cells following the ingestion of lactic acid bacteria. *J Dairy Sci* 1995;78:491–7.
24. Gill HS, Cross ML, Rutherford KJ et al. Dietary probiotic supplementation to enhance cellular immunity in the elderly. *Br J Biomed Sci* 2001;58:94–6.

25. Spanhaak S, Havenaar R, Schaafsma G. The effect of consumption of milk fermented by *Lactobacillus casei* strain Shirota on the intestinal microflora and immune parameters in humans. *Eur J Clin Nutr* 1998;52:899-907.
26. Flinterman AE, Knol EF, van Ieperen-van Dijk AG, et al. Probiotics have a different immunomodulatory potential in vitro versus ex vivo upon oral administration in children with food allergy. *Int Arch Allergy Immunol* 2007;143:237-44.
27. Lodinova-Zadnikova R, Cukrowska B, Tlaskalova-Hogenova H. Oral administration of probiotic *Escherichia coli* after birth reduces frequency of allergies and repeated infections later in life (after 10 and 20 years). *Int Arch Allergy Immunol* 2003;13:209-11.
28. Björkstén B, Naaber P, Sepp E, Mikelsaar M. The intestinal microflora in allergic Estonian and Swedish 2-year-old children. *Clin Exp Allergy* 1999;29:342-6.
29. Kalliomäki M, Salminen S, Poussa T, et al. Probiotics and prevention of atopic disease: 4-year follow-up of a randomised placebo-controlled trial. *Lancet* 2003;361:1869-71.
30. Sistik D, Kelly R, Wickens K, et al. Is the effect of probiotics on atopic dermatitis confined to food sensitised children? *Clin Exp Allergy* 2006;36:629-33.
31. O'Sullivan MG, Thornton G, O'Sullivan GC, et al. Probiotic bacteria: myth or reality. *Trends Food Sci Technol* 1992;3:309-14.

Summary

The role of probiotics in prevention and treatment of various disorders

The human gastrointestinal tract is home for diverse and vast communities of micro-organisms representing about 500 cultivable species. Colonisation of the gastrointestinal tract begins immediately after birth. The mode of delivery, use of antibiotics, and the level of hygiene are known to exert a significant influence on the number and species of micro-organisms that colonise the gut. Transition to the adult flora occurs after weaning, and by the second year of life the intestinal flora becomes similar to that of an adult and remains relatively stable throughout life. Research over the past decades has provided evi-

dence that administration of probiotics could be used to optimise the gut flora and to prevent and treat a range of diseases. Health benefits supported by adequate clinical data or promising animal data include prevention and treatment of diarrhoeal diseases (acute infantile diarrhoea, antibiotic associated diarrhoea). They are effective in prevention of systemic infections, inflammatory bowel disease, allergies, malignancies, hypercholesteronaemia, and in alleviation of lactose intolerance.