

Teadmiste spiraal. Sajand inimese mikroobiökoloogiat Tartu Ülikoolis

MARIKA MIKELSAAR

*Me elame kui kahetise surve all ...
Kui ilmaruumi ammu uurib astronoomi sond
Kildhaaval kogund fakte nende vennaskond,
siis mikromaailm, meile hoopis lähemal,
sai uurimisobjektiks märksa hiljemalt.*

Eugen Tallmeister

Inimkonna igatsus teadmiste järele on sageli seostunud hirmuga tundmatute nähtuste ees. Üks selliseid nähtusi on suured epideemiad, nagu katk, koolera, rõuged või difteeria. Kui 19. sajandil suri kogu maailmas sõdades ligikaudu 19 miljonit inimest, siis tuberkuloos viis endaga kaasa peaaegu kaks korda rohkem – 35 miljonit inimest. Tollaste väljapaistvate teadlaste (Robert Koch, Louis Pasteur, Joseph Lister jt) jõupingutused päädisid mitmete haigusttekitavate bakterite avastamisega ja meetmete väljatöötamisega nende ohjeldamiseks. Kasutusele tulid antiseptika, antimikroobsed ained ja vaktsiinid. Päris uudse lahendusena lähtuti looduskooslustes, sh mikroobimaailmas endas kehtivast vastastikuse kasvu ja leviku kontrollist. Leiti *Penicillium*'i liiki kuuluvate seente antimikroobne

toime erinevate bakterite suhtes – nii leiutati antibiootikum penitsilliin, millele järgnes terve hulk looduslikke ja sünteetilisi antibiootikume. Kahjuks pole inimkond siiski õppinud päriselt taltsutama rikkalikku mikroobimaailma, mille arvukuse ja tiheda seose tõttu inimesega võib nende kahjustav võime osutada mõõtmatuks. USA juhtiva mikrobioloogi Gail H. Casselli 1995. aastal väljendatud mõte „Eksisteerivate probleemide ulatuslikkuse tõttu ja rahaliste vahendite alalise nappuse tõttu pole tervishoiusüsteem korralikult ette valmistunud ei uute ega jälle uuesti esilekerkivate infektsioonide tõrjeks“ sobib kirjeldama ka praegust situatsiooni.¹ Ilmekaks näiteks on viiruslikud nakkushaigused: inimese immuunpuudulikkuse viirusega (HIV) on nakatunud 36,7 miljonit inimest, kellest vaid 18,2 miljonit saavad aidsisurma ärahoidvat antiretroviirusravi. Samal, 1995. aastal Akadeemias avaldatud artiklis „Kas inimkond vabaneb kunagi nakkushaigustest?“² olen kinnitanud vajadust range isikliku hügieeni ja vaksineerimiste järele, seda igas elueas inimestele. Alates koolieast on tsiviliseeritud ühiskondades tiheda kätepesemise või nende desinfitseerimise harjumus üsna hästi juurdunud, samuti kaitseb toiduinfektsioonide eest riiklik järelevalve teenistus. Seevastu vaksineerimiste spektri laiendamine on takerdunud esoteeriliste tõekspidamistega kogukondade väärasse mõjuvõimu. Ka Eestis on ohtlikult palju lapsevanemaid, kes keelduvad oma laste infektsioonikaitsest, ohustades oma lapsi ja ühiskonda seni kontrolli all olnud infektsioonide võimaliku levikuga.

Aidata saab vaid teadmiste levitamine rahva hulgas. Teaduse progressi ei suuda miski peatada, teadis juba kuulus prantsuse teadlane, marutõve vastase vaktsiini leiutaja Louis Pasteur (1822–95).

Üheks edasiseks nakkushaigusi ja inimese tervist kontrollivaks suunaks on saanud inimeselt pärinevate kasulike bakterite rakedamine. Just tervetelt inimestelt leitud kasulike omadustega bakterid on potentsiaalselt võimelised ajutiselt asustama uut peremeest. Nimelt on nende puhul kirjeldatud retseptorite vastavust, mis puudub näiteks hapukapsalt leitud mikroobidel-hapendajatel. Juba 20. sajandi alguses tõi vene teadlane Ilja Metšnikov (1845–1916) mangu inimese mikroflooras leiduvad piimhapet tekitavad bakterid, mis

¹ Gail H. Cassell. The need to provide biomedical research funding for NIH. *ASM News*, 1995, 4, 156–157.

² Marika Mikelsaar. „Kas inimkond vabaneb kunagi nakkushaigustest?“, *Akadeemia* (Tartu, 1995), 1693–1711.

oma metaboliitidega osutusid võimeliseks alla suruma ohtlikke infektsioonitekitajaid.³

Neile antagonistlikele bakteritele (nt *Lactobacillus delbrueckii bulgaricus*) omistas Nobeli auhinna laureaat Ilja Metšnikov veel ühe olulise omaduse: võime pidurdada vananemist. Juba 1905. aastal käsitles ta laktobatsille organismi ainevahetuse ja südame-veresoonkonna ateroskleroosiliste kahjustuste võimalike korrigeerijatena.

Nüüdseks teame palju rohkem mikrobiota ealistest muutustest ja seosest tervisega.⁴ Näiteks on selgunud, et tervisekaebusteta eakatel (üle 65 eluaasta), kes regulaarselt tarvitasid fermenteeritud piimatooteid, oli suurenenud seedekulgla kasulike laktobatsillide hulk. Neil isikutel olid mitmed tervise biomarkerid, nagu vere „halva kolesterooli“, LDL, veresuhkru ja triglütseriidide näitajad, optimaalsed.⁵ Saadud teadmised kinnitavad seoseid dieedi, mikrobiota ja vananemisega seotud tervisenäitajate vahel.

Oma panuse mikrobiota kaitsefunktsiooni selgitamisse andsid ka Tartu Ülikooli teadlased, neist esimesena 1920. aastatel Tartu Ülikooli mikrobioloogia instituudi rajaja professor Karl Schlossmann (1885–1969), kes uuris Eesti ravimudade mikroobset koostist ja nende kasutamise võimalusi inimese tervise heaks.⁶ Märkimisväärselt trükiti tema uurimus 1939. aastal Inglismaal täies mahus raamatuna. Teise maailmasõja ja Nõukogude okupatsiooni alguses põgenes professor Schlossmann Rootsi. Peale ajutisi kohusetäitjaid jäi mitmeteks aastateks kateedrijuhtajaks pediaater-infektionist Felix Lepp. Tänuväärset juhendas professor Lepp mitmeid arstiteadlasi teadusliku kraadini, pälvides hüüdnime Felix Lepp – Kaadrite Sepp.

³ Elie Metschnikoff, *Prolongation of life. Optimistic Studies* (New-York, London: Putnam's sons, 1908).

⁴ M. J. Claesson, I. B. Jeffery, S. Conde, S. E. Power, E. M. O'Connor, S. Cusack, H. M. Harris, M. Coakley, B. Lakshminarayanan, O. O'Sullivan, G. F. Fitzgerald, J. Deane, M. O'Connor, N. Harnedy, K. O'Connor, D. O'Mahony, D. van Sinderen, M. Wallace, L. Brennan, C. Stanton, J. R. Marchesi, A. P. Fitzgerald, F. Shanahan, C. Hill, R. P. Ross and P. W. O'Toole. „Gut microbiota composition correlates with diet and health in the elderly“, *Nature*, 488 (7410), (2012), 178–184.

⁵ M. Mikelsaar, J. Stsepetova, P. Hütt, H. Kolk, E. Sepp, K. Lõivukene, K. Zilmer, M. Zilmer, „Intestinal *Lactobacillus* sp. is associated with some cellular and metabolic characteristics of blood in elderly people“, *Anaerobe*, 16 (3), (2010), 240–246.

⁶ K. Schlossmann, *Estonian curative-sea-muds and seaside health resorts* (London: Boreas Publishing Co., 1939), 5-42.

Aastatel 1962 kuni 1965 juhtis toleaeagset mikrobioloogia kateedrit professor Lepa õpilane dr Eugen Tallmeister (1916–2006), kes algatas Eestis esimesena kromosomaalse ja plasmiidse enterobakterite geeniinfo uurimise kõhulahtisusega lastel. Oma juhendatava bioloog Ain Heinaru kaudu pani dotsent Tallmeister aluse ka keskkonna bakterite geneetiliste iseärasuste selgitamisele.

1960. aastate keskel algasid Tartus inimese mikrobiökoloogia uuringud professor Akivo Lenzneri (1927–2012) juhtimisel. Mikrobiökoloogia kirjeldab ja selgitab vastavate tervisenäitajate korral teatud kehapiirkonnas mikrobioota koostist, struktuuri ja metabolismi ning seoseid peremeesorganismiga. Iga inimese mikrobioota koosneb 10–100 triljonist sümbiootilisest mikroobist ja selle summaarne geenide arv ületab 100 korda inimese geenide arvu, seetõttu toimuvad sellises superorganismis (inimene + tema mikroobid) keerulised, inimese homöostaasi ja tervist mõjutavad metaboolsed suhted.

Professor Lenzneri juhendamisel kaitsti aastail 1966–96 kokku 14 meditsiinikandidaadi väitekirja, neist Eestis üheksa.⁷ Tolleaegsed aspirandid panid aluse inimese erinevate kehapiirkondade laktobatsillaarse mikrofloora uuringutele Eestis. Uuriti toetavaid ja antagonistlikke suhteid teiste samas kehapiirkonnas elutsevate mikroobidega, töötati välja ja omandati mitmeid innovatiivseid meetodikaid, mida õpetati ka üle kogu Nõukogude Liidu Vanemuise tänav mikrobioloogia laborisse saabunud õppuritele, kellest viis said teaduskraadi Akivo Lenzneri juhendamisel. Tartu koolkonna tuntus kasvas ja 1970. aastate keskepaigast alates kaasati Eesti mikrobioloogid NSVL teadusliku ja poliitilise kuulsuse – kosmonautika tee-

⁷ M. Voronina, *Inimese mao mikrofloora laktobatsillid*. Kandidaadväitekirja (Tartu, 1968); M. Türi, *Merisigade intratestikulaarse nakatamisviisi kasutatavus INH-resistentsete ja katalaasnegatiivsete tuberkuloositekitajate uurimisel*. Kandidaadväitekirja (Tartu, 1969); M. Mikelsaar, *Laktobatsillid inimese rooja mikroflooras mõnede seedetrakti mitteinfektsioosete haiguste puhul*. Kandidaadväitekirja (Tartu, 1969); J. Uibu, *Rooja laktobatsillaarse floora hulgaline koostis tervetel inimestel*. Kandidaadväitekirja (Tartu, 1972); L. Goljanova, *Kooliealiste tervete laste rooja laktobatsillaarne floora*. Kandidaadväitekirja (Tartu, 1973); V. Brilis, *Laktobatsillide adhesiivsed omadused*. Kandidaadväitekirja (Tartu-Moskva, 1983); T. Brilene, *Tupe laktobatsillide adhesioon ja suguhormoonid*. Kandidaadväitekirja (Tartu-Moskva, 1990); T. Brilene, *Tupe laktobatsillide adhesioon ja suguhormoonid*. Kandidaadväitekirja (Tartu-Moskva, 1990); L. Levkov, *Laktobatsillide adhesiivsus segapopulatsiooni tingimustes*. Kandidaadväitekirja (Tartu-Moskva, 1991); T. Karki, *Quantitative composition of the human lactoflora and method for its examination*. Dissertationes Medicinae Universitatis Tartuensis (Tartu, 1996).

nistusse. Uurimisteemaks sai bioloogilise isolatsiooni mõju inimese tervisele ja vastupidavusele stressi tingimustes ning mikroobide osatähtsus neis protsessides. Stressi mõju uuriti Moskva N. Gama-leja nimelise epidemioloogia ja mikrobioloogia teadusliku uurimise instituudi gnotobioloogia laboris (prof E. Tshahava) ja Krasnojarski meditsiinilise bioisolatsiooni laborites, Moskva medikobioloogiliste probleemide instituudi ja Baikonuri treeningulaborites, kus katsealused spetsiaalsetes „kosmosekapslites“ kuude kaupa treenisid (dr V. Shilov, dr N. Lizko). Neis kõigis töötasid lühemat aega ka meie kateedri kolleegid ja sealt saabusid kosmonautide soolkanali proovid Tartusse Vanemuise tänavasse. Kujunesid sidemed NSVL teiste teadusasutustega Riias, Kaunases, Tbilisis, Leningradis ja Moskvast. Tolleaegne (1970–89) Tartu mikrobioloogide tähtis teadussaavutus kosmosebioloogias oli tõestus, et erakordses keskkonnas, kus inimest koormavad radiatsioon ja isolatsioonistress, tekib kosmonaudi organismis düsbioos e mikrobioota ja organismi kooslussuhete lagunemine, millega kaasnevad seedehäired ja oluline valgukaotus.⁸ Düsbioosi hindamiseks töötasid Tartu teadlased välja originaalse metodika, mis eristas soolestiku residentsset seinapidist ja valendikus olevat rohkem ajutist mikrofloorat.⁹ Juba lennueelsel ajal tekitab stress mikroflooras muutusi, mis lühiajalisel lennul süvenevad. Seevastu pikemaajalisel lennul on organismil ja tema mikrobiootal oluline adaptiivne võime, aga lennujärgne taastumisperioodi vaevalisus ja aeglus vajas toetust. Esimest korda rakendati kosmoselennul düsbioosi vältimiseks personaalse meditsiini põhimõtteid: kosmonaudile anti reisile kaasa kapsleid tema enda kasulike laktobatsillidega, mis olid isoleeritud Tartus. Mitmete kosmonautide organismist eraldatud laktobatsillitüvedele saadi NSVL autoritunnistusi, mis tänapäevases mõistes võrduvad patentidega. Sellega seoses arendati välja NSVL probiootikumitööstust (Gorki, Perm), kusjuures kaks Eestist

⁸ А. А. Ленцнер, В. М. Шилов, Н. Н. Лизько, М. Э. Микельсаар, „Исследование видового состава лактобацилл кишечника в условиях длительного пребывания человека в замкнутом пространстве“, *Космическая биология и медицина*, 3 (1973), 76–80; А. А. Ленцнер, М. Э. Тюри, Х. П. Ленцнер, М. Э. Микельсаар, В. М. Шилов, Н. Н. Лизько, Г. Д. Сырых, „Исследование чувствительности к антибиотикам лактобацилл из пищеварительного тракта экипажей „Союз-13“ и „Союз-4“, *Космическая биология и медицина*, 4 (1981), 36–39.

⁹ M. E. Mikelsaar, M. E. Väljaots, A. A. Lenzner, „Anaerobe Inhalts- und Wandmikroflora des Magen-Darm-Kanals“, *Die Nahrung*, 23, 6/7 (1984), 727–733.



Foto 1. Marika Mikelsaare teadusrühma tuumik 1999. aastal. 1. rida vasakult: Siiri Kõljalg, Tõnis Karki, Marika Mikelsaar, Paul Naaber, Reet Mändar. 2. rida vasakult: Heidi Annuk, Krista Lõivukene, Epp Sepp, Kai Truusalu.

pärit laktobatsilli on tänini Venemaal miljonites tonnides levinud *otetšestvennõje probiotiki* (kodumaised probiootikumid). Akivo Lenzner valiti Venemaa meditsiinilis-tehniliste teaduste akadeemia tegevliikmeks.

Sidemed Potsdami (Rehbrücke) toitumise ja hügieeni instituudiga (professor Helmut Haenel)¹⁰ võimaldasid mikrobiökoloogia konverentsidel Greifswaldis, Rostockis, Leipzigis ja Dresdenis luua laialdasemaid kontakte Lääne teadlastega ning suunasid tartlasi tundma huvi mikroobide osa vastu toitumises, ka kosmonautide heaks.

1990. aastate algul kujunes mikrobioloogia kateedri (peagi instituudi) ja TÜ meditsiini kesklabori koosseisu kuuluva Maarjamõisa haigla kliinilise mikrobioloogia labori sünergias noorte arstide-mikrobioloogide tuumik, kellest 15 jõudsid Marika Mikelsaare juhendamisel varem või hiljem meditsiinidoktori kraadini. Neist esimene – Reet Mändar – valiti 2015. aastal Tartu Ülikooli meditsiinilise mikrobiökoloogia professoriks.

¹⁰ H. Haenel and J. Bendig, „Intestinal flora in health and disease“, *Progress in Food & Nutrition Science*, 1 (1975), 21.

Tabel 1. Marika Mikelsaare juhendatud meditsiinidoktori väitekirjad

Teema	Dissertant	Kaitsmise aasta	Dissertatsiooni pealkiri
Ema-lapse mikrobioota	Reet Mändar	1996	Vaginal microflora during pregnancy and its transmission to newborn.
	Epp Sepp	1998	Formation of intestinal microbial ecosystem in children
Infektsioonid, patogeenid ja mikroobi-ökoloogia	Paul Naaber	1997	<i>Clostridium difficile</i> infection and intestinal microbial ecology
	Siiri Kõljalg	1999	<i>Acinetobacter</i> - an important nosocomial pathogen
	Annika Krüüner	2001	<i>Mycobacterium tuberculosis</i> – spread and drug resistance in Estonia
	Priit Kasenõmm	2005	Indicators for tonsillectomy in adults with recurrent tonsillitis – clinical, microbiological and pathomorphological investigations
<i>Helicobacter pylori</i> mikroobi-ökoloogia	Krista Lõivukene	2003	<i>Helicobacter pylori</i> in gastric microbial ecology and its antimicrobial susceptibility pattern
	Helena Andreson	2006	Diversity of <i>Helicobacter pylori</i> genotypes in Estonian patients with chronic inflammatory gastric disease
	Toomas Sillakivi	2003	Perforated peptic ulcer in Estonia: epidemiology, risk factors and relations with <i>Helicobacter pylori</i>
Lakto-bat-sillaarsed probiootikud	Heidi Annuk	2002	Selection of medicinal plants and intestinal lactobacilli as antimicrobial components for functional foods
	Epp Songisepp	2005	Evaluation of technological and functional properties of the new probiotic <i>Lactobacillus fermentum</i> ME-3
	Jelena Štšepetova	2011	The characterisation of intestinal lactic acid bacteria using bacteriological, biochemical and molecular approaches
	Pirje Hütt	2012	Functional properties, persistence, safety and efficacy of potential probiotic lactobacilli
	Kai Trusalu	2013	Probiotic lactobacilli in experimental persistent <i>Salmonella</i> infection

1993. aastal kaitses Marika Mikelsaar (1938) doktoriväitekirja,¹¹ mis põhines umbes 25-aastaselt teadustööl mikrobioloogia kateedris.

¹¹ Marika Mikelsaar, *Evaluation of the gastrointestinal microbial ecosystem in health and disease*. Dissertationes Medicinae Universitatis Tartuensis (Tartu, 1993).

Doktoritöös oli nii *in vitro*, eksperimentaalsete katseloomade kui ka gastriidi, mao kaksteistsõrmiksoole haavandi ja mao resektsiooni järgsete muutustega haigete soolkanali mikrofloora uurimisega arendatud edasi mikrobiökoloogilisi põhimõtteid haigustekitajate ja kasulike bakterite suhetest.

Palju uusi teadmisi hakkas kujunema antibiootikumresistentsuse päritolu kohta mitmetes infektsioonides (tuberkuloos, haigla sisesed infektsioonid) ja inimese mikrobiökosüsteemi mõju sellele. Samuti selgitasime raskete kliiniliste infektsioonide tekitajate (helikobakterid mao haavandtõvel, streptokokid tonsilliidil, anaeroobsed klostriidid soolepõletikel) seoseid haigusprotsessi kujunemise ja seedekanali mikrobiota toimega.¹² Alustati kliinilisi uuringuid düsbioosis tekkinud muutuste korrigeerimise võimaluste leidmiseks. 1993. aastal valiti MARIKA MIKELSAAR TÜ mikrobioloogia instituudi juhiks, milliselt kohalt ta emeriteerus 2003. aastal, jätkates tööd erinevate uurimisprojektidega.

Mikrobiökoloogia kliinilise tööühma paiknemine Maarjamõisa haigla laboris alates 1991. aastast tõi kaasa vajaduse täiustada ja juhtida infektsioonide diagnostikat suurkliiniku arvukates osakondades. Selleks töötati välja mitmeid kiiremaid tulemusi võimaldavaid metoodikaid, parandati antibiootikumtundlikkuse määramise meetodeid ja juurutati naaberriikide eeskujul kliinilisse praktikasse uusi antibiootikumravi põhimõtteid. Koos klinitsistidega päästeti ilmselt palju elusid. Suur proovilepanek oli 1991.–95. aasta difteeriapuhang Eestis, mis nõudis Tartu laborilt sadade proovide uurimist ja uudseid diagnostikameetodeid. Puhangu põhjuseks oli tervishoiusüsteemi kokkuvõtteks putšijärgsel Venemaal, vaktsineerimiste äralangemine ja suur rahvaste rändamine. Haigestumised algasid Peterburis, edasi Lätis ja jõudsid Eestisse. Esimene haige (ema-laps), kes Tartusse rongiga saabus, oli väga raskes seisus. Kahjuks läks aega, kuni kogenud arst dr Astrid Kokk diagnoosis difteeria. Sõjaajast peale polnud selliseid juhte nähtud. See nõudis ka kliiniliselt mikrobioloogia laborilt sanitaar-epidemioloogilist tööd ja varustust. Üle-eestiliste pingutustega (dr Ants Jõgiste ja dr Unna Jõks) õnnestus epideemia ära hoida.

¹² M. E. Mikelsaar, M. E. Türi, A. A. Lencner, „Possibilities of intestinal colonization with lactobacilli of white mice during several generations“, *Abstracts of Estonian III Congress of Epidemiologists, Microbiologists, Infectionists and Hygienists* (in Russian) (Tallinn, 1977), 62–63.

Haiglas leviva ohtliku patogeeni *Clostridium difficile* puhul tõestati infektsiooni tekkimist võimaldav mikroobiökoloogiline seos. Nimelt soodustab *C. difficile* paljunemist laktobatsillide puudumine soolkanalis antibiootikumravi järel. Paul Naaberi vastavaid eksperimentaalseid teadusartikleid tsiteeritakse tänini arvukalt.¹³ Ette rutates võib öelda, et viimaste uuringutega on Tartu Ülikooli mikrobioloogid tõestanud, et laktobatsillid on mitme funktsionaalse omaduse tõttu võimelised seda rasket verise kõhulahtisusega kulgevat infektsiooni otseselt pärssima.¹⁴ Probiootik *Lactobacillus plantarum* Inducia ja prebiootik ksüliitool pidurdavad klostriidide eoste väljakasvu sooles (Eesti patent saadi oktoobris 2017). Kombineerides probiootilisi baktereid neile toitaineid kindlustavate prebiootikutega, saadakse sümbiootikumid. Rakendades nimetatud sümbiootikumi, võiks see olulisel määral vähendada haiglasisesse raske kuluga soolepõletiku (pseudomebranoosne koliit) levikut. Pikk on tee ideest ja isegi tõestusest selle rakenduseni: kliinilised katsetused algavad alles 2017. aastal.

Märkimisväärseks erialaseks murranguks oli TÜ mikrobioloogidele sidemete teke Soome ja Rootsi teadlastega kohe iseseisvumise algaastail. Maarjamõisa kliinilises mikrobioloogia laboris saadi nõu ja abi kliinilise mikrobioloogia edendamiseks ja ettepanekud ühiseks teadustööks. Nüüdseks on kolm tollaegset koostööpartnerit – Torkel Wadström, Bengt Björkstén ja Seppo Salminen – tunnustatud Tartu Ülikooli audoktoriteks. Koostöös TÜ lastekliinikuga uuriti vastsündinute ja imikute mikrofloora kujunemist erineva toitmise, sh rinnapiima ja Valio OÜ imikute toidusegude mõjul. Selgusid mitmed olulised mikroobiökoloogilised seaduspärasused. Tampere ülikooli kliinikumis manustati Soome vastsündinutele probiootilist bakterit *Lactobacillus rhamnosus* GG. Samas arvas mitu USA teadlast, et see võib muuta mikroobiökoloogilisi suhteid niivõrd, et lastele vajalikud bifidobakterid ei leia enam sooles arenemisvõimalust. Epp Sepa uuringutest selgus, et see arvamus polnud õige, kusjuures leitud sea-

¹³ P. Naaber, M. Mikelsaar, „Antibiotic-compromised murine model of *Clostridium difficile* infection“, *Microecology and Therapy*, 25 (1995), 201.

¹⁴ K. Krogh Andersen, N. M. Strokappe, A. Hultberg, K. Truusalu, I. Smidt, R.-H. Mikelsaar, M. Mikelsaar, T. Verrips, L. Hammarström, Harold Marcotte, „Neutralization of *Clostridium difficile* toxin B mediated by engineered lactobacilli producing single domain antibodies“, *Infection and Immunity*, 84 (2016), 335–406.

duspärasust arvestatakse tänini kehtivaks: nimelt koos laktobatsillide hulga suurendamisega kasvavad ka teiste kasulike mikroobide populatsioonid.¹⁵ Mikroobide ökosüsteemis on ju erinevate bakterite metaboliidid üksteisele toiduks ja toetuseks.¹⁶ Konsortsium koosseisus Anne Ormisson, Heili Varendi, Urmas Siigur, Irja Lutsar, Reet Mändar, Epp Sepp, Marika Mikelsaar pälvis selle töö eest 1994. aastal Eesti riigi teaduspreemia meditsiini valdkonnas.

Üks professor Marika Mikelsaare teoreetilisel olulisimaid saavutusi mikrobiökoloogias on hüpotees mikrofloora kujunemisest juba sünnieelsel perioodil.¹⁷ Nimelt tekitas ta 1977. aastal emakaudse nakatamisega ühe põlvkonna hiirtelt viie põlvkonna vältel püsiva laktofloora. Selline valikuline vastuvõtlikkus on ilmselt igale indiviidile iseloomuliku mikroobide komplekti aluseks. Mikrofloora individuaalsus oli 1980. aastatel juba ligi kümme aastat teada, kuid selle tekkemehhanismid mitte. Hüpoteesi sünnieelsest mikroobide ülekandest emalt lootele tõestati kaksikute, rasedate ja vastsündinute uurimisega.¹⁸ Praeguseks on näidatud, et saadud tulemused on ka molekulaarsete tehnikate ajastul igati usaldusväärsed, kuna nii loo-

¹⁵ E. Sepp, M. Mikelsaar, S. Salminen, „Effect of Administration of *Lactobacillus casei* Strain GG on the Gastrointestinal Microbiota of Newborns“, *Microbial Ecology in Health and Disease*, 6 (6) (1993), 309–314.

¹⁶ M. Mikelsaar, E. Sepp, J. Štšepetova, E. Songisepp, R. Mändar, „Biodiversity of Intestinal Lactic Acid Bacteria in the Healthy Population“, *Advances in experimental medicine and biology*, 932 (2016), 1–64.

¹⁷ M. E. Mikelsaar, M. E. Türi, A. A. Lencner, „Possibilities of intestinal colonization with lactobacilli of white mice during several generations“, *Abstracts of Estonian III Congress of Epidemiologists, Microbiologists, Infectionists and Hygienists* (in Russian) (Tallinn, 1977), 62–63; M. Mikelsaar, „The possibilities of balanced coexistence in the system: organism and its microflora“, *Endocytobiosis and cell research*, 3 (1986), 150; М. Э., Микельсаар, У. Х. Сийгур, А. А. Ленцнер, „Оценка количественного состава микрофлоры фекалий“, *Лабораторное дело*, 3 (1990), 62–66.

¹⁸ Mikelsaar, Türi, Lencner, „Possibilities of intestinal colonization“; Sepp, Mikelsaar, Salminen, „Effect of Administration of *Lactobacillus casei* Strain GG“; R. Mändar, *Vaginal microflora during pregnancy and its transmission to newborn*. Dissertation (Tartu, 1996); R. Mändar and M. Mikelsaar, „Transmission of mother’s microflora to the newborn at birth“, *Biology of the neonate*, 30 (1996); M. Mikelsaar, E. Sepp, R. Kasesalu, K. Kolts, „Some considerations on the formation of normal human microflora during the first year of life“, *Wissenschaftliche Zeitschrift Ernst-Moritz-Arndt-Universität Greifswald, Medizinische Reihe*, 38 (1989), 1–2, 27–30; R. Mändar, M. Mikelsaar, „Transmission of mother’s microflora to the newborn at birth“, *Biology of the Neonate*, 69 (1996), 30; M. Mikelsaar, E. Sepp, R. Kasesalu, K. Kolts, „Some considerations on the formation of normal human microflora during the first year of life“, *Wissenschaftliche Zeitschrift der Ernst-Moritz-Arndt-Universität, Greifswald. Medizinische Reihe*, 38 (1989), 1–2, 27–30.

tevedelikus, platsentas kui ka vastsündinul esinevad individuaalsed emalt pärit mikroobitüved (süsteematiseeritud ülevaade¹⁹). Muidugi lisanduvad neile keskkonna mikroobid.

Seega on tookordne idee loote rasedusaegsest selektiivsest koloniseerimisest leidnud 21. sajandil tõestamist. Juba 1986. aastal eksperimentaalse uurimuse põhjal püstitatud tees individuaalselt spetsiifilise laktofloora kujunemisest antenataalselt ootab siiski tänini praktilist rakendust – tervise seisukohalt kasulikku (metaboolse sündroomi, allergia, vananemise vastu), näiteks mõne kasuliku mikroobitüvega emakaudset koloniseerimist looteas.

Maailmateaduses osutus läbimurdvaks Tartu Ülikooli teadlaste hüpotees allergia tekkest soole mikroobide hulga ja variatsioonide (*deprivation of biodiversity*) vähenemise tõttu mikrofloora kujunemise ajal.²⁰ Uuringuid alustati professor Bengt Björksteni projekti järgi, milles A. Strahani liigse hügieeni hüpotees transformeeriti soole mikrofloora võrdlevateks prospektiivseteks uuringuteks erineva sotsiaalse ja majandusliku keskkonnaga lastel arengu- ja arenenud maades. Selgusid erinevused allergia suurema ja väiksema esinemissagedusega maades (vastavalt Rootsis ja Eestis), kus 1990. aastate alguses nii toitumis- kui ka hügieenitingimused drastiliselt erinesid. Väga varases lapseas on avatud „immunoloogiline aken“ tolerantsuse tekkeks. Kui industriaalühiskonna liigse hügieeni tingimustes puutub laps kokku väheste mikroobidega, sh piimhappebakteritega, siis ei kujunda tema organism edaspidiseks eluks välja mittereageerimist näiteks õietolmus või maapähklites leiduvatele kahjututele ühenditele. Mitte et imik peaks tolerantsuse tekkeks just nende ainetega kokku puutuma – nendega sarnaste reaktsioonide ja metaboliitide tekkes osalevad erinevad soolkanali mikroobid. Kui bakterite mitmekesisus on piiratud, jääb kujuneva immuunsüsteemi loomulik stimulatsioon puudulikuks ja edaspidi võivad geneetiliselt soodustatud isikutel tekkida atoopilised/allergilised reaktsioonid. TÜ mikrobioloogide rühma vastavateemaliste publikatsioonide tsiteeritavus kogu maail-

¹⁹ Mikelsaar, Sepp, Štšepetova, Songisepp, Mändar, „Biodiversity of Intestinal Lactic Acid Bacteria“.

²⁰ B. Björkstén, E. Sepp, K. Julge, T. Voor, and M. Mikelsaar, „The intestinal microflora during the first year of life and the development of allergy“, *The Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 108 (2001), 516–520; M. Mikelsaar, R. Mändar, „Development of individual lactic acid microflora in the human microbial ecosystem“, *Lactic acid bacteria*, ed. by S. Salminen, A. von Wright (New York: Marcel Dekker, 1993), 237–293.

mas on endiselt väga suur.²¹ Nende uuringute käigus pandi alus ka inimeselt pärinevate kasulike mikroobide kollektsoonile, millest nüüdseks on kujunenud rahvusvaheliselt tunnustatud ja uute uurimuste aluseks olev inimese mikrobiota biopank.²²

Oluliseks teadussuunaks kujunes 2000. aastail uurimissuund inimese mikroobide mõjust tema ainevahetusele ja sellega seostatud tervisenäitajatele. Uurides laktobatsillide metaboolset potentsiaali, leiti, et eakatel inimestel on regulaarse probiootiliste fermenteeritud piimatoodete (jogurt, keefir, juust) tarvitamisel võimalik langetada ateroskleroosi riski. Nimelt suureneb sel juhul Iija Metšnikovi 1907. aastal formuleeritud idee järgi laktobatsillide üldhulk soolkanalis. Selle hulga kasv on aga negatiivses korrelatsioonis ateroskleroosi tekke ühe olulisema markeriga, oksüdeeritud madala tihedusega lipoproteiinide (ox-LDL) sisaldusega vereseerumis.

Suure töö ja õnneliku juhuse tulemusena õnnestus Eesti-Rootsi laste allergiauuringute käigus leida 1995. aastal üheaastase terve Eesti lapse soolestikust metaboolset aktiivne laktobatsillitüvi *Lactobacillus fermentum* ME-3. Ulatuslike *in vitro*, eksperimentaalsetel katseloomadel ja vabatahtlikel tehtud uuringute põhjal leiti sel tüvel soole- ja kuseteede infektsioonide vastane ja organismi antioksidantsust tõstev kaksiktoime, mida on kirjeldatud paljudes artiklites ja rahvusvahelistel konverentsidel.²³

²¹ E. Sepp, K. Julge, M. Mikelsaar, B. Björkstén, „Intestinal microbiota and immunoglobulin E response in 5-year-old Estonian children“, *Clinical and Experimental Allergy*, 35 (2005), 1141–1146; J. Stšepetova, E. Sepp, K. Julge, E. Vaughan, M. Mikelsaar, W. M. de Vos, „Molecularly assessed shifts of Bifidobacterium ssp. and less diverse microbial communities are characteristic of 5-year-old allergic children“, *FEMS Immunology and Medical Microbiology*, 51 (2007), 260–269.

²² <http://eemb.ut.ee> (30.10.2017).

²³ T. Kullisaar, M. Zilmer, M. Mikelsaar *et al.*, „Two antioxidative lactobacilli strains as promising probiotics“, *International Journal of Food Microbiology*, 72 (2002), 215–224; T. Kullisaar, E. Songisepp, M. Mikelsaar, K. Zilmer, T. Vihalemm, M. Zilmer, „Antioxidative probiotic fermented goats' milk decreases oxidative stress-mediated atherogenicity in human subjects“, *The British Journal of Nutrition*, 90 (2003), 449–456; M. Mikelsaar, M. Zilmer, „*Lactobacillus fermentum* ME-3 – an antimicrobial and antioxidative probiotic“, *Microbial Ecology in Health and Disease*, 21 (1) (2009), 1–27; M. Mikelsaar, E. Sepp, J. Štšepetova, P. Hütt, K. Zilmer, K. Kullisaar, M. Zilmer, „Regulation of plasma lipid profile by *Lactobacillus fermentum* (probiotic strain ME-3 DSM14241) in a randomised controlled trial of clinically healthy adults“, *BMC Nutrition*, 1 (27), (2015), 1–13; M. Mikelsaar, H. Annuk, J. Šhepetova, R. Mändar, E. Sepp, B. Björkstén, „Intestinal lactobacilli of Estonian and Swedish children“, *Microbial Ecology in Health and Disease*, 14 (2002), 75–80.

Tartu Ülikoolil on mikroobitüve patenteerimine nõudnud aega ja vaeva (Eesti patent ME-3 kohta saadi 2006. aastal, alles viis aastat peale taotluse sisseandmist, samal aastal saadi ka Venemaa patent, USA patent 2007 ja Euroopa patent 2010). Eesti Tehnoloogiaagentuuri (ES-TAG) grandi tõhusal toel aga arendati juba 2005. aastal välja esimene Eesti funktsionaalne toode. AS Tere on *Lactobacillus fermentum* ME-3 abil rikastanud Helluse sarja piimatooteid ja tarbijad on need tooted hästi vastu võtnud. 2014. aastal õnnestus koostöös Prantsusmaa-Belgia firmaga VT Bioscience OY viia ME-3 toidulisandisse RegActiv, mille eesmärk on kolesteroolitaseme vähendamine tänu bakteri antioksidatiivsele potentsiaalile.²⁴ Nimetatud firma toel turustatakse ME-3 baktereit nüüdseks kaheksas Euroopa Liidu riigis, USA-s ja Austraalias.

Tehnoloogia arenduskeskuste programmi raames alustati koostöös Tervisliku Piima Biotehnoloogiate Arenduskeskusega (TPTAK) uuringuid laktobatsillide omadustest ja nende võimest mõjutada inimese erinevate earühmade biomarkereid – tervise kindlustamiseks. Valmis järgmine funktsionaalne toit Südamejuust, mis sisaldab probiootilist *Lactobacillus plantarum* Tensia tüve (patenteeritud Eestis, Venemaal, Euroopas). Toote funktsionaalsus seisneb vererõhu regulatsioonis, veesisalduse langetamises ja südame-veresoonkonna töö parandamises.²⁵ Tensia toodab lämmastikmonooksiidi (NO), mis lõõgastab veresoonte silelihaseid, samuti tekitab ta veresoonte silelihaseid mõjustava ensüümi (ACE I) pärssijaid ja polüamiin putrestsiini. E-Piimas valmistatud Tensia tüvega funktsionaalse juustu vererõhku langetavat toimet on tõestatud sadadel tervisekaebusteta vabatahtlikel, kelle vererõhku loetakse piiripealselt kõrgeks.

²⁴ T. Kullisaar, K. Zilmer, T. Salum, A. Rehema, M. Zilmer, „The use of probiotic *L. fermentum* ME-3 containing RegActiv Cholesterol supplement“, *Nutrition Journal*, 15 (2016), 93.

²⁵ Hütt et al., „Impact of probiotic *L. plantarum* TENSIA in different dairy products on anthropometric and blood biochemical indices of healthy adults“, *Beneficial Microbes*, 6 (3) (2015), 233–243; E. Songisepp, P. Hutt, M. Ratsep, E. Shkut, S. Koljalg, K. Trusalu, J. Stsepetova, I. Smidt, H. Kolk, M. Zagura, M. Mikelsaar, „Safety of a probiotic cheese containing *Lactobacillus plantarum* Tensia according to a variety of health indices in different age groups“, *Journal of Dairy Science*, 95 (10) (2012), 5495–5509; K. K. Sharafedtinov, O. A. Plotnikova, R. I. Alexeeva, T. B. Sentsova, E. Songisepp, J. Stsepetova, I. Smidt, M. Mikelsaar, „Hypocaloric diet supplemented with probiotic cheese improves body mass index and blood pressure indices of obese hypertensive patients – a randomized double-blind placebo-controlled pilot study“, *Nutrition Journal*, 12 (2013), 138.

Mikroöbioloogiliste uuringute kõrval ei ole unustatud ka Eestis sagedamate infektsioonide uurimist (*Helicobacter pylori* infektsioonid, tuberkuloosi ravimresistentsus, antibiootikumresistentsuse probleemid kuseteede ja suukoopa infektsioonide korral). Selle töö eest pälvis Marika Mikelsaar teist korda Eesti Vabariigi meditsiini teaduspreemia 2002. aastal ja edaspidi 2010. aastal ka Eesti Vabariigi teaduse elutööpreemia teemal „Inimese mikroöbiökoloogia, kroonilised põletikulised protsessid, profülaktika ja ravi toetamine probiootikutega“.

1993. aastal emeriteerunud Marika Mikelsaare mikroöbioloogilisi uuringuid jätkab edukalt professor Reet Mändar, kelle teadustöö peamised suunad on reproduktiivtrakti ja suuõõne mikroöbioloogilised uuringud. Suguteede düsbiootilistest seisunditest naistel on tuntumad bakteriaalne vaginosis ja vaginaalne kandidiaas, mis tingivad ligi kolmandiku günekoloogi visiitidest. Kuna paljudel naistel alluvad need haigused ravile halvasti või kipuvad korduma, alustati koostöös Tervisetehnoloogiarenduskeskusega uudsete kodumaiste probiootikumide arendamist, mida saaks nende seisundite korrigeerimisel kasutada.²⁶

Praegu on käimas *Lactobacillus crispatus*'e tüvesid sisaldavate preparaate kliinilised katsed. Ka meeste eesnäärmepõletik ehk prostatiit on seotud olulise düsbioosiga – sel puhul on meessuguteede mikroöbiotas suurtes hulkades oportunistlikke baktereid, kuid vähem kaitsvate omadustega laktobatsille kui tervetel meestel.²⁷ Sel-

²⁶ P. Hütt, E. Lapp, J. Štšepetova, I. Smidt, H. Taelma, N. Borovkova, H. Oopkaup, A. Ahelik, T. Rööp, D. Hoidmets, K. Samuel, A. Salumets, R. Mändar, „Characterisation of probiotic properties in human vaginal lactobacilli strains“, *Microbial Ecology in Health and Disease*, 12; 27 (2016), 30484; I. Smidt, R. Kiiker, H. Oopkaup, E. Lapp, T. Rööp, K. Truusalu, J. Štšepetova, J. Truu, R. Mändar, „Comparison of detection methods for vaginal lactobacilli“, *Beneficial Microbes*, 6 (5) (2015), 747–751.

²⁷ P. Korrovits, M. Punab, S. Türk, R. Mändar, „Seminal microflora in asymptomatic inflammatory (NIH IV category) prostatitis“, *European Urology*, 50 (2006), 1338–1346; K. Kermes, M. Punab, K. Lõivukene, R. Mändar, „Anaerobic seminal fluid microflora in chronic prostatitis/chronic pelvic pain syndrome patients“, *Anaerobe*, 9 (2003), 117–123; S. Türk, P. Korrovits, M. Punab, R. Mändar, „Coryneform bacteria in semen of chronic prostatitis patients“, *International Journal of Andrology*, 30 (2007), 123–128; R. Mändar, M. Punab, P. Korrovits, S. Türk, K. Ausmees, E. Lapp, J. K. Preem, K. Oopkaup, A. Salumets, J. Truu, „Seminal microbiome in men with and without prostatitis“, *International Journal of Urology*, 24 (3) (2017), 211–216.

line seisund seostub ka halvenenud viljakusnäitajatega.²⁸ Selgunud on ka, et paaridel on suguteede mikroobikooslused komplementaarsed – mõlemad mõjutavad teineteist.²⁹

Suu mikroobikoosluste uuringud on näidanud, et sellise periodontiidi korral, kui terved hambad kipuvad logisema ja välja kukkuma, on suuõõnes mikroobiökoloogiline tasakaal oluliselt nihkes – vähem on piimhappebaktereid, kuid rohkem on proteolüütilisi anaeroobe, mis kahjustavad hamba tugikudesid.³⁰ Häirunud mikroobikooslused võivad tungida juurekanalisse ja hambajuure tipu piirkonda,³¹ kutsudes esile juuretipu periodontiiti. Selgitasime, et suhkruasendajatenäiteks erütritrooli prebiootiline toime muudab suu mikroobide kooslusi vähem kariogeenseteks.³²

Kokkuvõtteks: „Alusteaduses kindlaks tehtud tõed kandku meid innovaatilistesse tervistavatesse toodetesse“ – see on olnud eelmise sajandi jooksul Tartu Ülikooli mikroobiökoloogide tegutsemismotiiv ja on seda ka edaspidi.

Tänuavaldus: Tartu Ülikooli mikroobiökoloogid on tänulikud Euroopa Liidu teaduskomisjoni ja Eesti Vabariigi poolsete (sh Eesti Teadusagentuur, Ettevõtluse Arendamise Sihtasutus, Archimedes, Haridus- ja Teadusministeerium) teadustoetuste eest. Samuti täname ülikooli arengufondi, oma teaduskoostöö partnereid, vabatahtlike katsealuseid ning riskivalmeid ja uuendusmeelseid Eesti ettevõt-

²⁸ K. Ausmees, P. Korrovits, G. Timberg, M. Punab, R. Mändar, „Semen quality and associated reproductive indicators in middle-aged males: the role of non-malignant prostate conditions and genital tract inflammation“, *World Journal of Urology*, 31 (6) (2013), 1411–1425.

²⁹ R. Mändar, M. Punab, N. Borovkova, E. Lapp, R. Kiiker, P. Korrovits, A. Metspalu, K. Krjutškov, H. Nõlvak, J. K. Preem, K. Oopkaup, A. Salumets, J. Truu, „Complementary seminovaginal microbiome in couples“, *Research in Microbiology*, 166 (2015), 440–447.

³⁰ P. Kõll-Klais, R. Mändar, E. Leibur, M. Mikelsaar, „Oral microbial ecology in chronic periodontitis and periodontal health“, *Microbial Ecology in Health and Disease*, 17 (2005), 146–155.

³¹ V. Vengerfeldt, K. Špilka, M. Saag, J.-K. Preem, K. Oopkaup, J. Truu, R. Mändar, „Highly diverse microbiota in dental root canals in cases of apical periodontitis (data of Illumina sequencing)“, *Journal of Endodontics*, 40 (11) (2014), 1778–1783.

³² J. Štšepetova, J. Truu, R. Runnel, R. Nõmmela, M. Saag, J. Olak, H. Nõlvak, J. Preem, K. Oopkaup, K. Krjutškov, H. Honkala, S. Honkala, K. Mäkinen, J. Vermeiren, D. Bosscher, P. Decock, R. Mändar, „The impact of polyols on oral microbiome of Estonian schoolchildren“, *The Fifth Beneficial Microbes Conference*, 10–12 October 2016, Amsterdam.

teid, kelle toetusel on olnud võimalik mikrobiökoloogia uuringuid teha ning luua tervistavaid biotehnoloogilisi tooteid.

◆ ◆ ◆

Marika Mikelsaar on emeriitprofessor Tartu ülikooli bio- ja siirde-
meditsiini instituudis

A Spiral of Knowledge. A Century of Human Microbial Ecology at the University of Tartu

MARIKA MIKELSAAR
University of Tartu Medical Faculty

The possibility of controlling devastating infectious diseases through the application of beneficial bacteria has been an important challenge throughout centuries. Lactobacilli of human origin serve as the first candidates that could help in achieving this goal according to the ideas of the 20th century Russian scientist I. I. Metschnikov. The researchers of the University of Tartu (UT) have elaborated upon several theoretical approaches and studied probiotic preparations of beneficial bacteria to control the pathogenesis of gastrointestinal infections but also human metabolism and health markers to prevent the development of atherosclerotic lesions. In the 1960s the first three personalized and patented *Lactobacillus* sp. probiotic strains were administered to Russian astronauts to alleviate dysbacteriosis during long stressful space flights. As of 1992, approximately 15 members of the group of microbial ecology achieved PhD degrees owing to investigating healthy and diseased microbiota. Worldwide recognition has been obtained by deciphering some problems connected to gastrointestinal infections, allergies and lipid metabolism. In 2001 the group succeeded in creating the antimicrobial and antioxidative strain of *Lactobacillus fermentum* ME-3 DSM14241. With systemic studies, the strain was elaborated into a probiotic and patented in Estonia, Russia, the US and EU. The double-antioxidative and antimicrobial effects of the *L. fermentum* ME-3 strain have been shown by more than 40 publications. Besides Estonia, it has been licenced for dairy enterprises and food supplement companies in Latvia, Lithuania, Poland, Finland, Belgium, France, the US and Australia. The UT collection of human lactobacilli (HUMB.ee) has been used in research for the development of novel functional food and feed preservatives together with two research and development centres in the framework of the Estonian Biotechnology program.

The principles discovered with basic microbial ecology will hopefully help us create innovative healthy products!