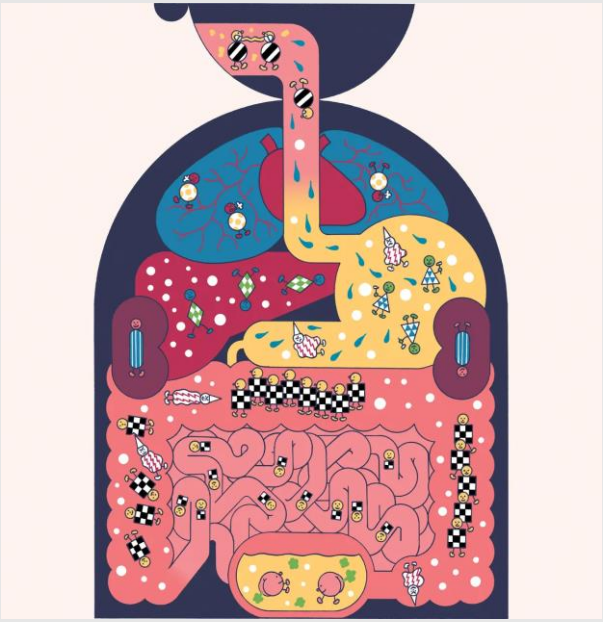
Kes elab meie sees? Maailm nimega mikrobioom

Jelena Štšepetova, PhD

TÜ BSMI Mikrobioloogia osakond,
BIOCC teadur

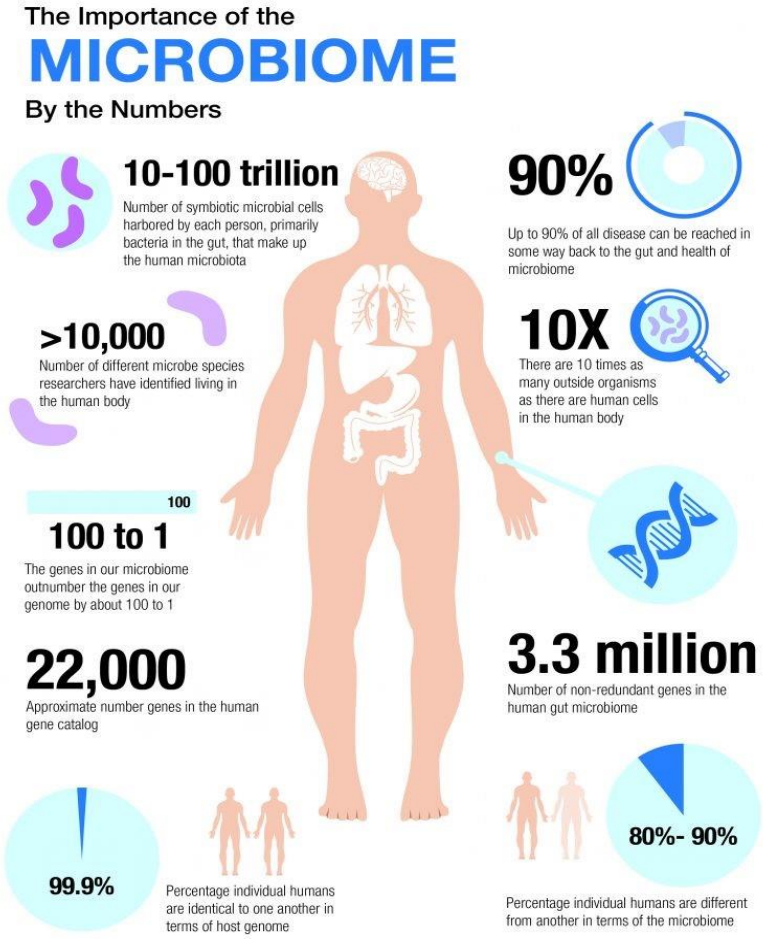


Euroopa Maaelu Arengu Põllumajandusfond: Euroopa investeeringud maapiirkondadesse

Mikrobioota

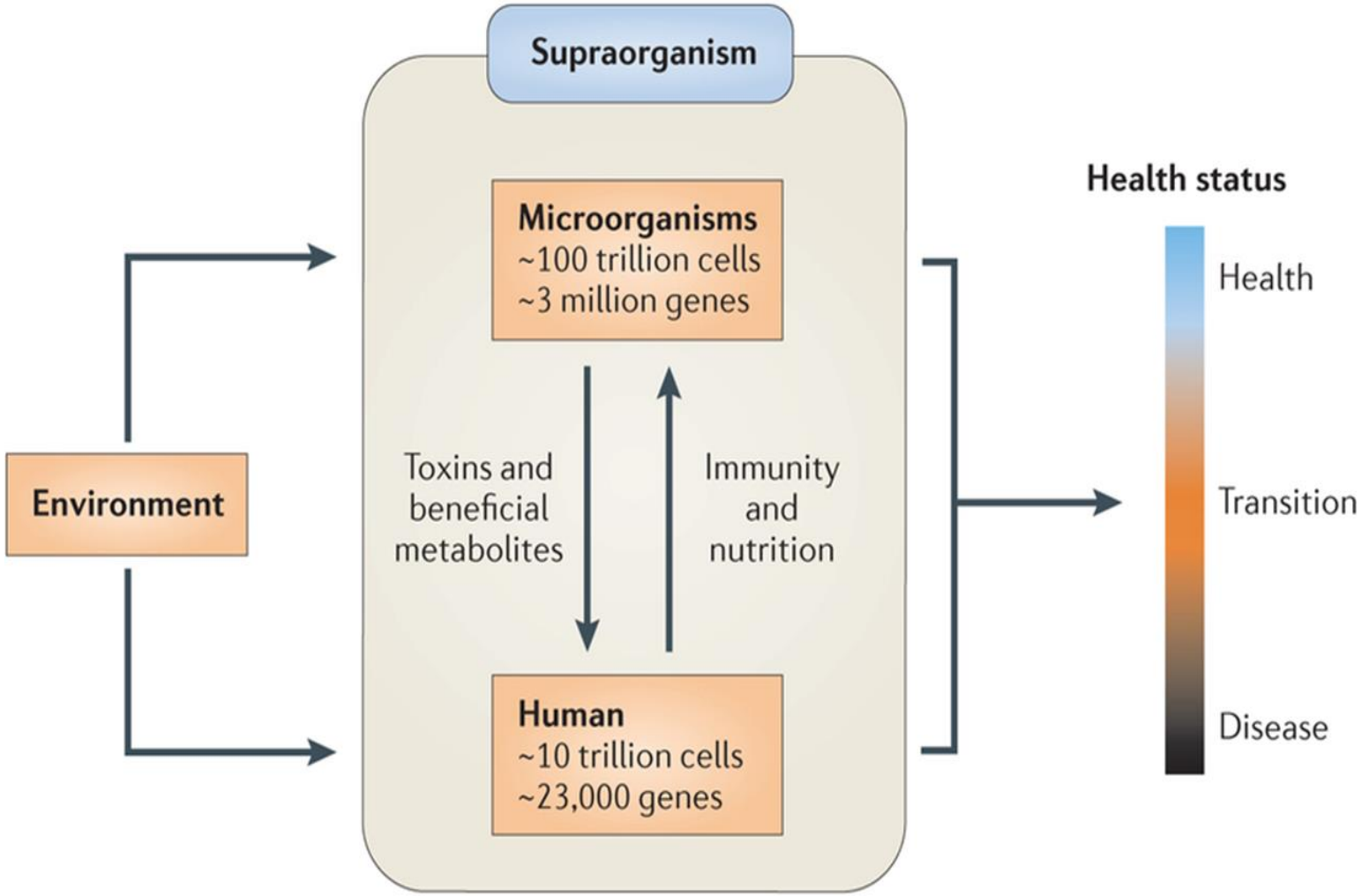
Mikroobide populatsioon, mis elab koos inimesega ja ei põhjusta tavaolukorras tema haigestumist

Mikrobioom



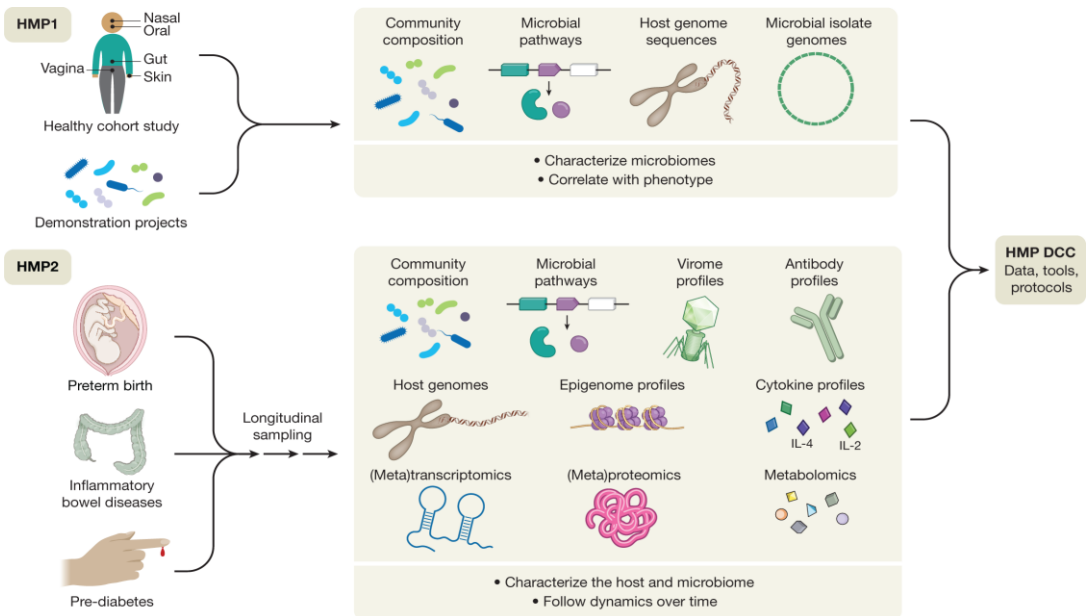
Kõigi inimkehas elavate bakterite, seente viiruste ja teiste mikroobide genoomide kogumi

”Superorganism” (inimene+mikroorgamismid)



- 150 korda rohkem geene kui inimestel
- Inimese genoom on 90 % sarnane
- mikrobioom on ainult 10% sarnane

NIH HUMAN MICROBIOME PROJECT



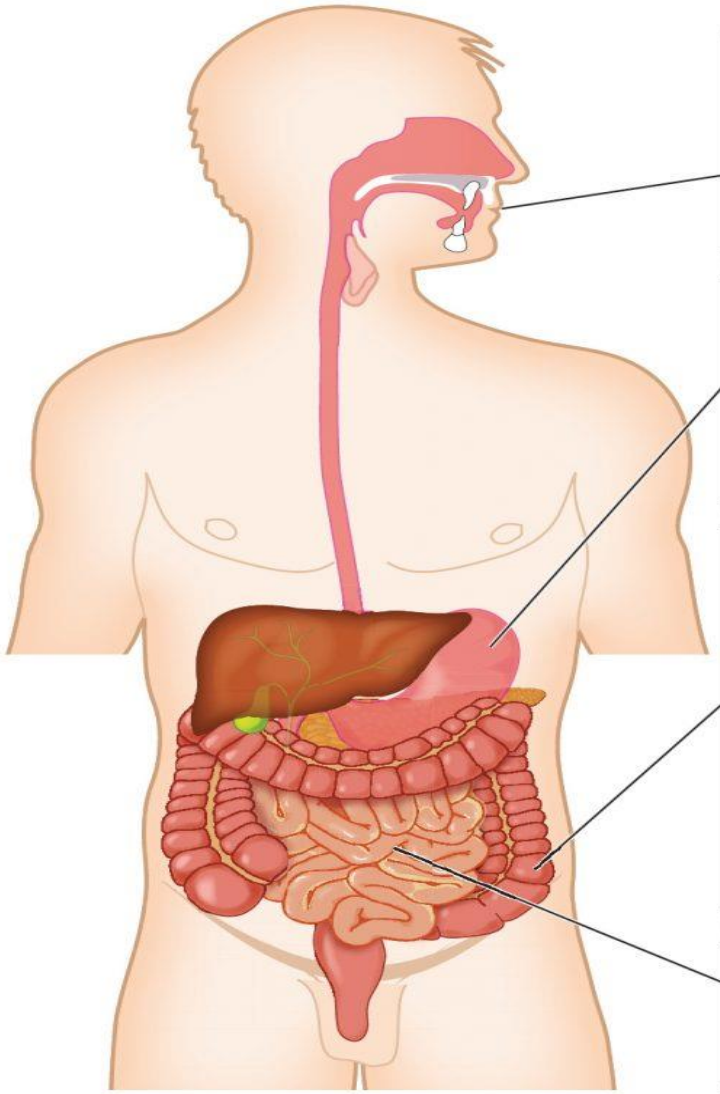
MetaHIT

- Luua võrdlus-geenikomplekt inimese seedetrakti mikroobide metagenoomse sekveneerimise abil.
- Otsida mikrobiaalsete geenide ja krooniliste haiguste seoseid, sh põletikuliste soolehaiguste ja rasvumise korral.
- Teostada funktsioonianalüüs, et liikuda seostelt edasi tekkemehhanismidele.

Leiti 2172 bakterite liiki
Klassifitseeriti 12 erinavad sugukonda
93.5% Firmicutes, Proteobacteria, Bacteroidetes

Inimese soole mikrobiota

Fig 2. **Distribution of major bacterial groups in the GI tract**



Oral cavity
- Corynebacteria
- Lactobacillus
- Streptococcus
- Staphylococcus

Suu

< 600 bakteriliiki

10^3-10^7 CFU/ml

Stomach
- Helicobacter pylori
- Lactobacillus
- Peptostreptococcus
- Streptococcus

Magu

10^3-10^4 CFU/ml

Large intestine
- Bacteroides
- Bifidobacteria
- Clostridium
- Enterobacteria
- Enterococcus
- Escherichia coli
- Faecalis
- Lactobacillus

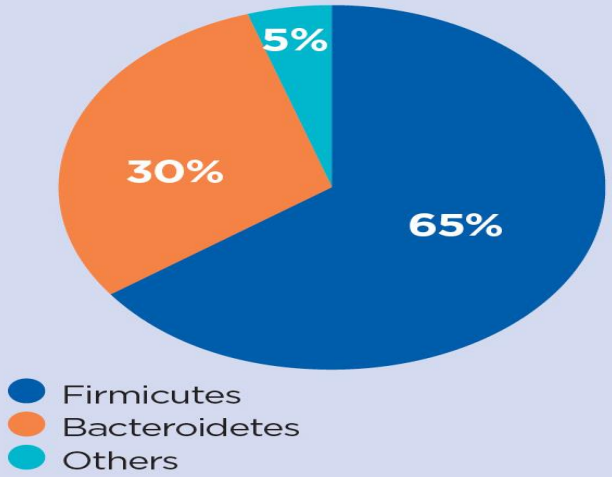
Jämesool

Small intestine
- Lactobacillus
- Streptococcus

Peensool

10^3-10^7 CFU/ml

Fig 1. **Human gut microbiota**



1000-2000 mikroobiliiki

10^{11}-10^{12} CFU/g

Koguhulk ca 2.5-3 kg

1/3 sarnased; 2/3 on erinevad

Enam kui 70% mikrobiootas on jämesooles

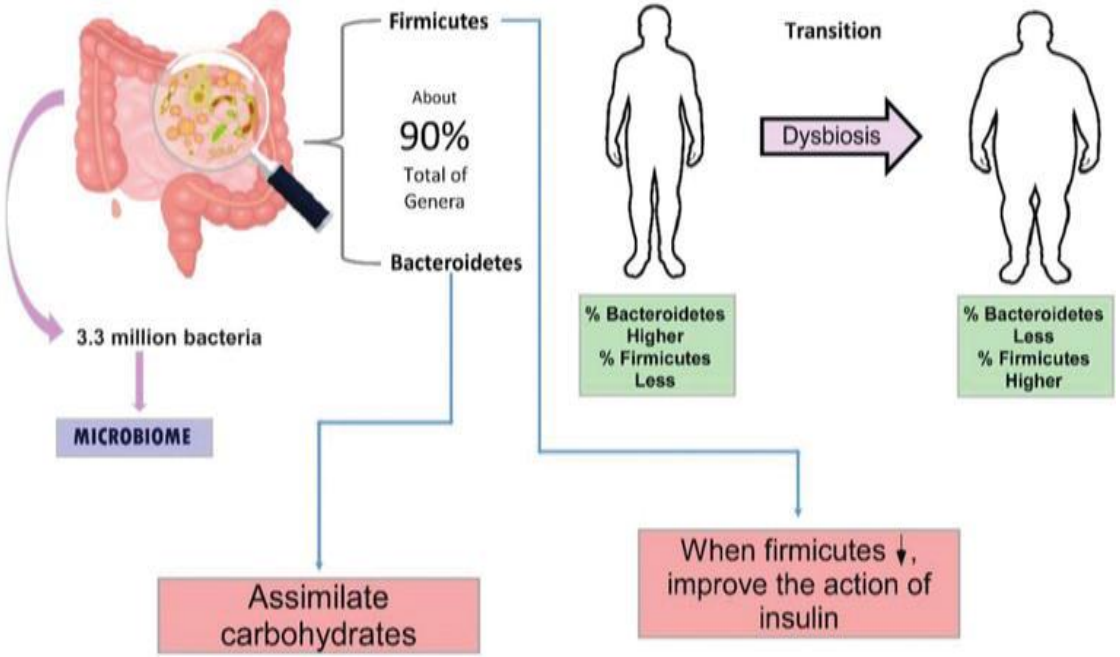
Yang et al., 2009; Peter Lamb

Mikrobioota mitmekesisus

- Liikide nimekiri ja nende proportsioonid
- Tervisliku mikrobioota näitaja

Bacteroidetes/Firmicutes suhe

Rasvunud inimese soolestiku mikrobiootas on normaalkaalulise inimesega võrreldes suurem protsent *Firmicutes* ja väiksem *Bacteroidetes.*



Davila et al., 2018

Soole mikrobiota mitmekesisus

Bacteroidetes/Firmicutes suhe

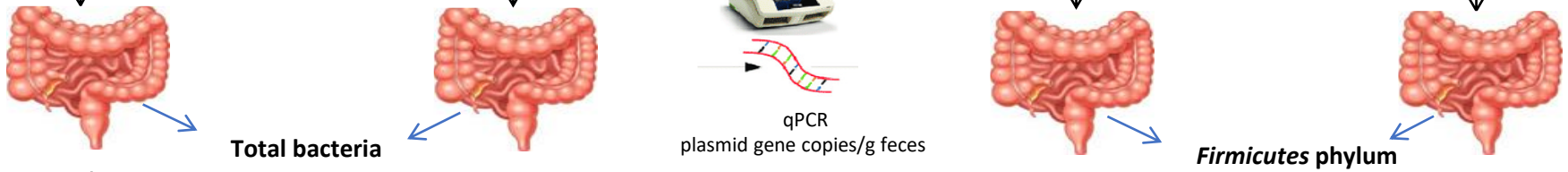
*

♦

♦ Madalam mitmekesisus

*Madalam *Bacteroidetes/ Firmicutes* suhe

Stool samples



qPCR
plasmid gene copies/g feces

Total bacteria

***Firmicutes* phylum**
***Lactobacillus* sp.**

Highest count

Enterococcus sp.
Streptococcus sp.
Enterobacteriaceae
Veillonella sp.
C. perfringens group

F. prausnitzii

Correlation

Adults

	Total bacteria	*Bacteroidetes-Prevotella*	*Firmicutes* phylum	*B.coccoides* group	*C. leptum* group	*C. perfringens* group	*C. difficile*	*F.prausnitzii*	*Veillonella* sp.	*Lactobacillus* sp.	*Enterococcus* s sp.	*Staphylococcus* sp.	*Streptococcus* sp.	*Atopobium* group	*Bifidobacterium* sp.	*Enterobacteriaceae*	*Desulfovibrio* sp.
Total bacteria	1	0,7625	0,0085	0,8692	0,5050	0,0470	ND	0,2647	0,5813	0,0640	-0,2070	-0,0170	0,2570	-0,0190	0,2066	0,0219	0,2124
Bacteroidetes-Prevotella	0,6818	1	-0,0042	0,7268	0,3020	0,2760	ND	0,3131	0,0045	-0,2643	-0,3174	0,0500	0,3387	-0,0373	-0,1219	-0,1508	0,0439
Firmicutes phylum	0,5522	0,2128	1	0,0629	-0,1135	-0,1427	ND	0,4670	-0,1127	-0,0442	-0,3798	-0,0167	-0,0378	0,1988	-0,2212	0,1123	0,2882
B.coccoides group	0,6464	0,4046	0,7708	1	0,3979	0,2798	ND	0,3836	0,5429	0,1031	-0,3104	0,0833	0,1739	0,1124	0,0674	-0,0577	0,1582
C. leptum group	0,5562	0,1604	0,6399	0,5736	1	0,0595	ND	0,1789	0,3362	-0,0254	-0,1380	0,1333	0,1317	0,0419	0,2255	0,1404	-0,1318
C. perfringens group	0,0989	0,2057	0,0569	0,4572	0,0655	1	ND	0,0624	0,0054	0,0406	-0,1849	-0,4854	0,1538	0,0387	-0,0117	-0,2422	-0,3847
C. difficile	-0,1261	0,0000	-0,3929	-0,5000	0,0714	-0,7143	1	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
F.prausnitzii	0,4819	0,1855	0,6128	0,5265	0,7635	-0,1800	0,3929	1	0,4985	-0,1746	-0,2066	0,2333	-0,0009	-0,2559	-0,3147	-0,1238	0,1269
Veillonella sp.	0,2865	0,5452	-0,0006	0,0562	-0,0675	0,1218	0,1982	-0,1704	1	-0,0612	-0,1354	0,3500	0,3493	-0,3528	-0,0923	-0,0669	-0,0096
Lactobacillus sp.	-0,0604	0,1831	-0,2929	-0,2954	-0,2751	0,0535	0,4286	-0,3256	0,2640	1	0,2242	-0,2000	0,2045	-0,0350	0,1689	-0,2250	-0,2024
Enterococcus sp.	0,0644	-0,1864	0,2101	0,2573	0,2468	0,2971	0,0000	-0,0368	0,1171	0,1525	1	0,3333	0,0430	-0,2891	0,1990	0,0169	-0,0935
Staphylococcus sp.	0,4561	-0,0070	0,3088	0,1997	0,1436	-0,3937	-0,9000	-0,0614	0,1404	0,1611	0,3468	1	-0,1255	-0,0167	0,0333	-0,1167	-0,2000
Streptococcus sp.	-0,1376	-0,3366	0,2530	0,0969	0,2099	0,2271	0,2571	0,0185	0,1325	-0,2501	0,4058	-0,3719	1	-0,1172	-0,3159	-0,1843	-0,2018
Atopobium group	0,0635	-0,0292	-0,1366	0,0585	0,1085	0,0932	0,6071	0,1051	-0,1008	0,0315	0,2215	-0,1821	0,0153	1	0,1181	-0,0239	0,4099
Bifidobacterium sp.	-0,2949	-0,5438	-0,0983	-0,0503	-0,1886	-0,1104	-0,3714	-0,0486	-0,5750	-0,2727	0,0917	-0,0420	-0,0011	0,4636	1	-0,1362	0,1589
Enterobacteriaceae	0,1226	0,2474	-0,3251	-0,2100	-0,2875	-0,1734	-0,2571	-0,0757	0,4028	-0,0030	-0,2675	0,1261	0,0405	-0,1740	-0,1853	1	-0,0604
Desulfovibrio sp.	0,05	0,0865	-0,1988	0,0015	-0,0677	0,1169	0,3929	0,0389	-0,0311	-0,1374	-0,0967	-0,5709	0,1287	0,5085	-0,0173	0,1119	1

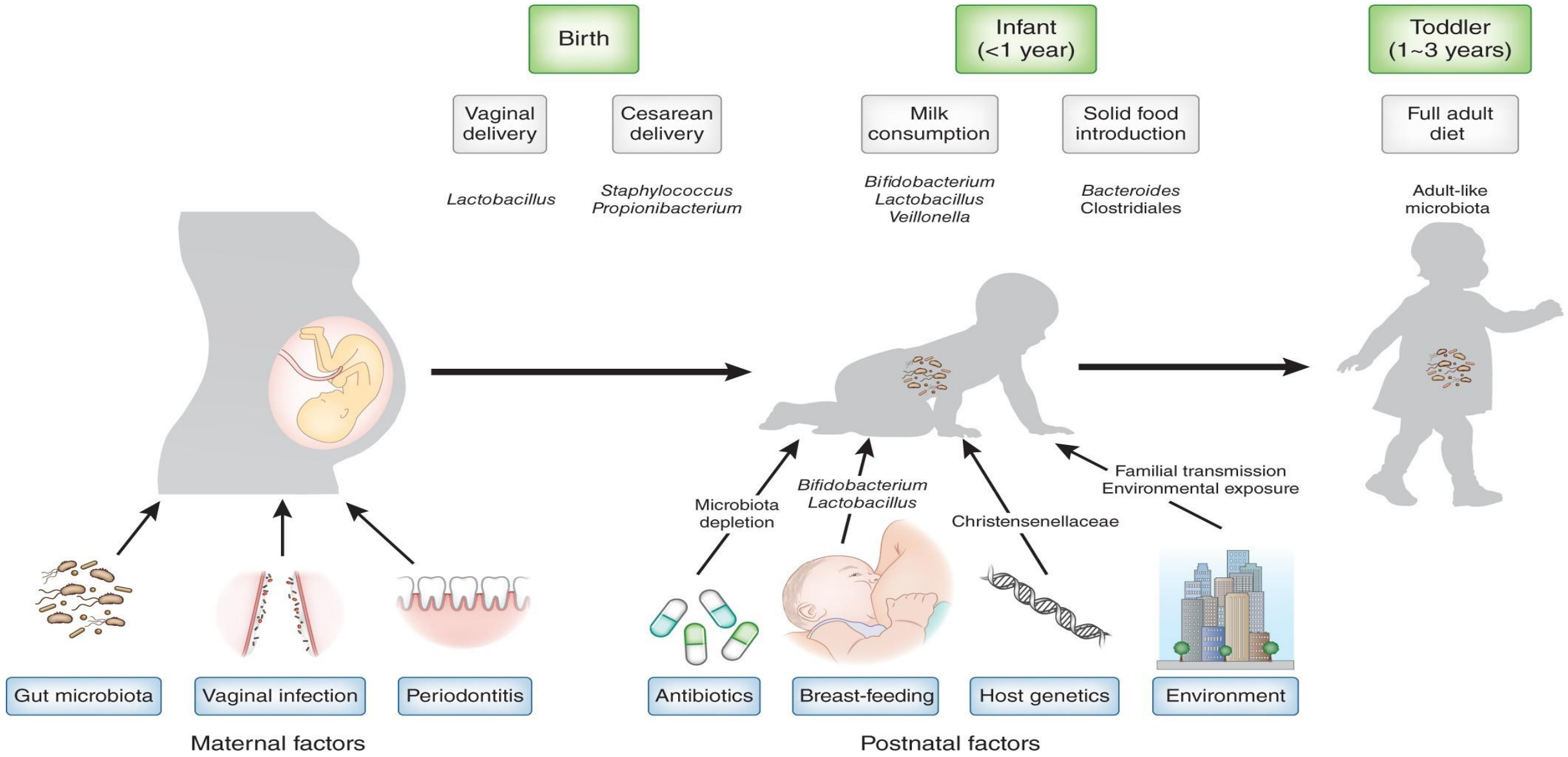
Infants

Elderly

	Total bacteria	*Bacteroidetes-Prevotella*	*Firmicutes* phylum	*B.coccoides* group	*C. leptum* group	*C. perfringens* group	*C. difficile*	*F.prausnitzii*	*Veillonella* sp.	*Lactobacillus* sp.	*Enterococcus* sp.	*Staphylococcus* sp.	*Streptococcus* sp.	*Atopobium* group	*Bifidobacterium* sp.	*Enterobacteriaceae*	*Desulfovibrio* sp.
Total bacteria	1	0,0038	0,1236	0,1957	0,3146	-0,0789	-0,5106	0,3011	0,1796	-0,0198	0,0989	-0,0238	0,3438	0,3385	0,1572	0,2176	0,4959
Bacteroidetes-Prevotella	-0,2178	1	-0,2692	0,5576	0,0940	0,2672	-0,0061	-0,0971	0,4251	-0,0429	0,2332	-0,2143	-0,0412	0,2405	-0,1805	0,3140	-0,0176
Firmicutes phylum	0,5806	-0,0989	1	0,1157	0,2144	-0,3594	-0,4545	0,4973	-0,4492	-0,0950	-0,4818	-0,0714	-0,0485	0,1558	0,4902	-0,2351	0,2384
B.coccoides group	0,3232	-0,5347	0,2612	1	0,2076	0,0351	-0,4863	0,3947	0,3059	-0,0488	0,1560	-0,0901	0,1485	0,3608	-0,0068	0,4644	-0,0208
C. leptum group	0,9051	0,0055	0,0055	0,1992	1	0,3027	0,0833	0,4601	0,2507	0,2979	0,0377	0,5389	0,3421	0,6514	0,0103	-0,5297	0,1876
C. perfringens group	0,0661	-0,2684	-0,2684	0,1167	0,0184	1	0,4634	-0,1456	0,3455	0,1352	0,3674	-0,2857	-0,0872	0,2981	-0,2160	0,2380	0,5120
C. difficile	-0,7000	-0,1000	-0,1000	-0,7000	-0,7000	-0,1000	1	0,0545	0,4303	-0,1515	-0,2918	-0,8000	0,0000	-0,1667	0,1152	-0,4303	0,0667
F.prausnitzii	0,7240	0,1342	0,1342	-0,0113	0,7569	0,1674	-0,7000	1	0,2448	0,4311	-0,3881	0,5357	0,5984	0,2770	0,2709	-0,1413	0,1104
Veillonella sp.	0,8156	-0,0066	-0,0066	-0,0820	0,8677	0,1549	-0,7000	0,8890	1	0,0871	0,2051	-0,0714	0,1348	0,0948	-0,0166	0,0018	0,1496
Lactobacillus sp.	0,4311	0,1385	-0,1385	0,0075	0,6646	0,2279	-0,9000	0,5408	0,6578	1	-0,0866	0,6905	0,3816	-0,1235	-0,2768	-0,1369	0,0610
Enterococcus sp.	0,1742	0,0945	0,0945	-0,4221	0,1398	0,3656	-0,3000	0,3290	0,4022	0,2087	1	0,0000	-0,0510	0,0120	-0,1810	0,3300	-0,3960
Staphylococcus sp.	0,7333	0,9487	0,9487	0,2000	0,7111	0,3769	0,0100	0,5784	0,3424	0,7591	-0,2319	1	0,5476	0,4762	0,0000	0,0000	0,1786
Streptococcus sp.	0,9095	0,1167	0,1167	0,5281	0,6912	0,1119	0,5000	0,4849	0,4464	0,2958	-0,4518	0,8314	1	0,0836	0,2500	-0,3118	-0,1471
Atopobium group	0,6452	-0,0330	-0,0330	0,2985	0,5497	0,0975	-0,4000	0,5062	0,5063	0,3781	-0,1075	-0,0482	0,5666	1	0,1331	-0,2421	-0,1794
Bifidobacterium sp.	0,2422	-0,0637	0,0692	-0,2168	0,0971	0,0692	-0,5000	0,2615	0,2215	0,3121	0,0625	-0,0721	0,2538	0,1204	1	-0,0784	0,4020
Enterobacteriaceae	-0,0105	0,1786	0,1786	0,1436	-0,4328	-0,5053	0,3000	-0,0912	-0,1436	-0,4308	-0,2592	-1,0000	0,2857	0,0070	-0,0729	1	0,3000
Desulfovibrio sp.	0,5953	-0,5055	-0,5055	0,3519	0,5872	0,3838	-0,7000	0,5138	0,5221	0,3998	0,0132	0,0241	-0,0643	0,0162	0,2390	-0,3888	1

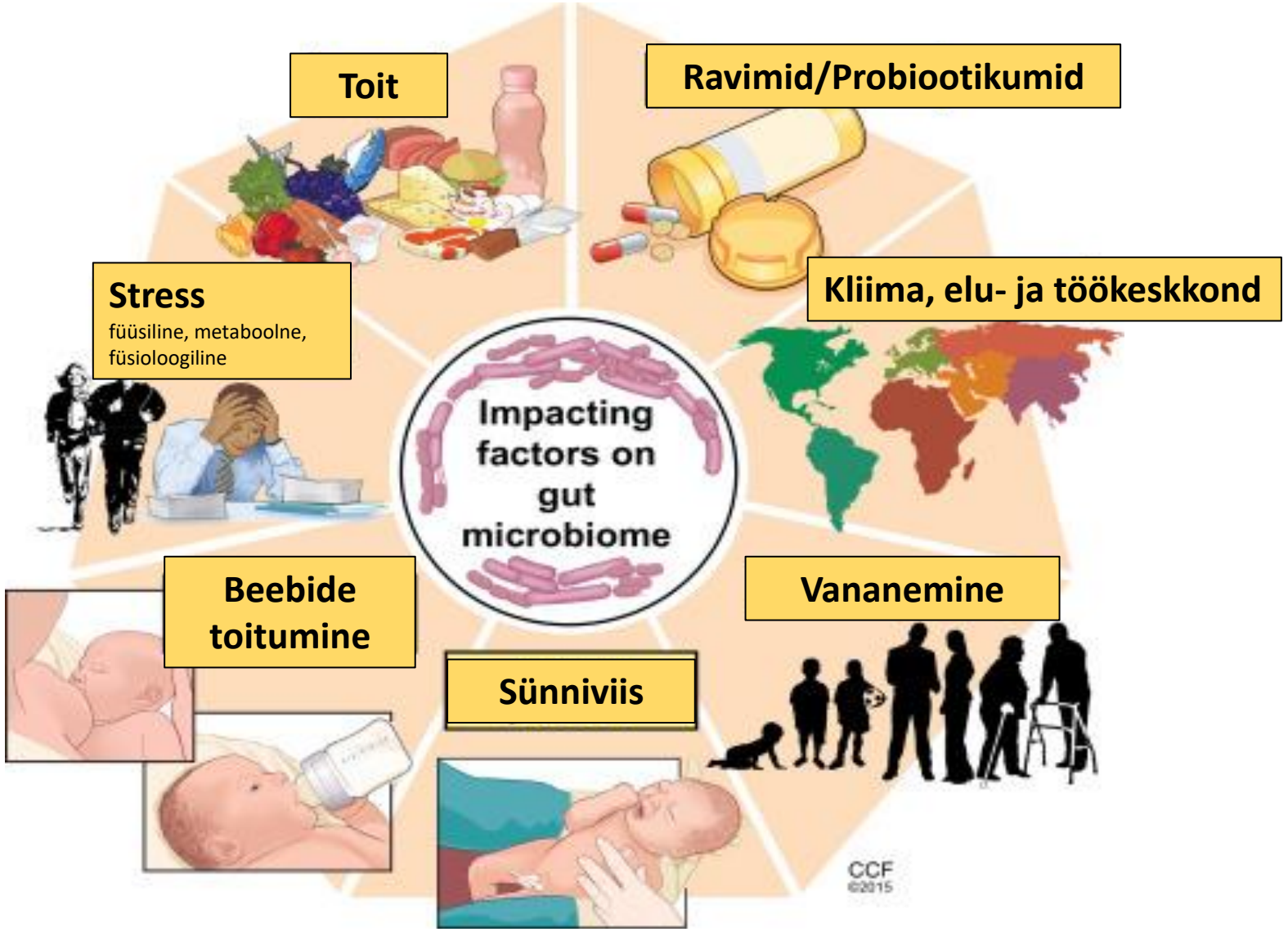
5 years-old children

Stsepetova et al., (sumitted)



Tamburini et al., 2016

Mikrobiootat mõjutavad faktorid



Mikrobiota funktsioonid

Metaboolsed funktsioonid

- Lühikese ahelega rasvhapped (butüraat, propinaat, piimhape, äädikhape…)
- Vitamiinide produktsioon
- (K-vitamiin, biotiin, folaat …)
- Produtseerib anti-mikroobsed ained (bakteriotsiinid)

Soolade ja vee absorptsioon
Energia tootmine

Kaitsefunktsioonid

(kolonisatsiooni resistentsus)

- Blokeerib retseptorid
- Immunsüsteemi aktiveerimine
- Tsütokiinide regulatsioon

Strukturaalsed funktsioonid

- Epiteelirakkude kasvu ja diferentseerumise reguleerimine
- Soolehattude ja krüptide areng
- Tiheliiduste läbilaskvus
- Limakihi omadused

Immuunsüsteemi areng

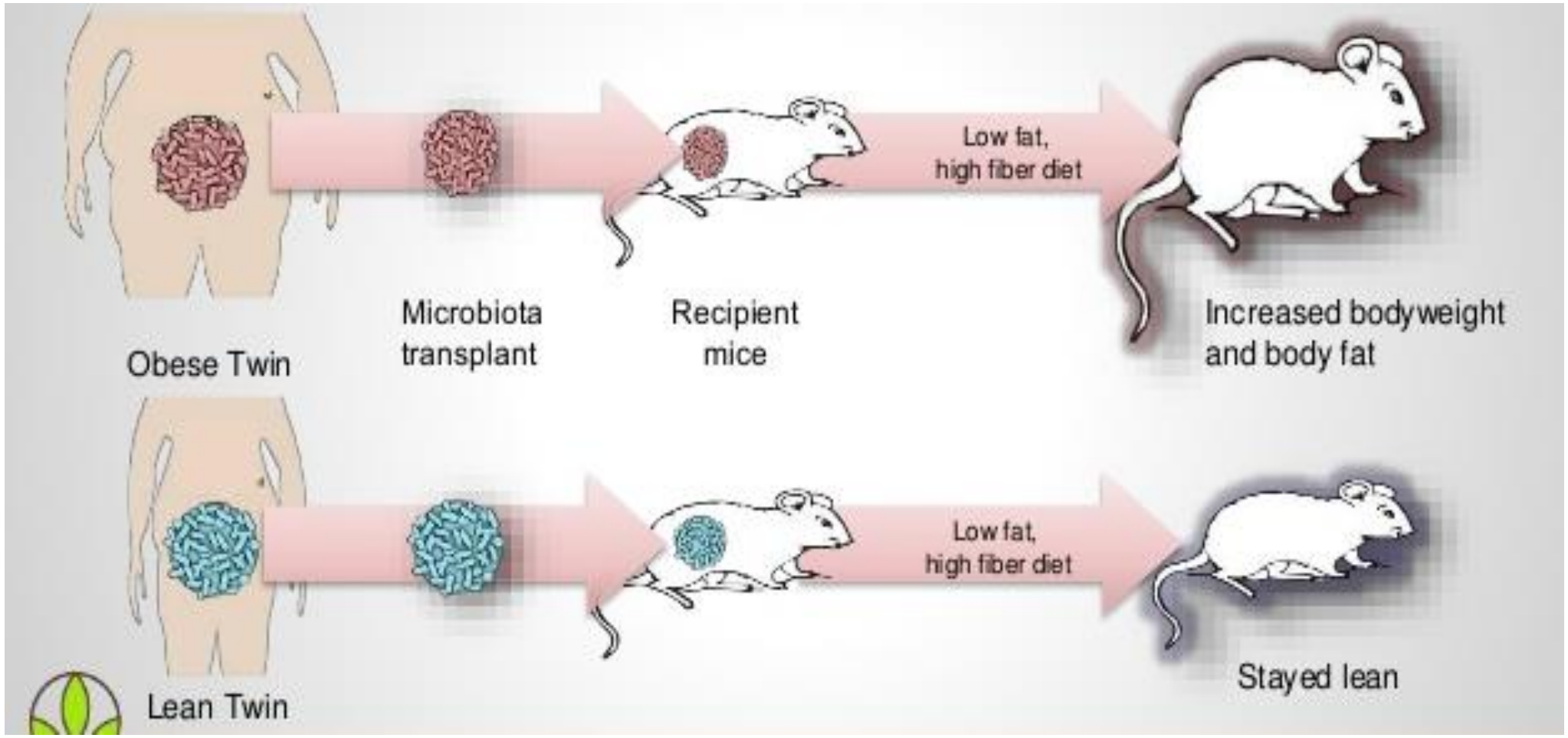
- Lümfisüsteemi areng
- B- ja T-rakkude areng

Prakash et al., 2011; R. Mändar

Tervis	Mikroobide aktiivsus	Haigused
Energia ja toitained	Lüh. ahelaga rasvhapete (SCFA), vitamiinide süntees. Mõju energia tootmisele ja kulutamisele, soole hormoonidele, küllastustundele. Lipopolüsahhariid (endotoksiin), põletik.	Rasvumine, metaboolne sündroom
Kasvajate vältimine	Butüraadi tootmine. Toksiinide, kantserogeenide tootmine, põletik.	Kasvajate soodustamine
Patogeenide pärssimine	SCFA tootmine, soole pH, bakteriotsiinid, konkurents toitainetele ja seostumiskohtadele. Toksiinide tootmine, invasioon kudedesse, põletik.	Patogeenide allikas
Normaalne soole immuunfunksioon	Pro- ja anti-inflammatoorsed signaalid, areng. Põletik, immunoloogilised häired.	Soolepõletik
Normaalne soolemotoorika	Metaboliitide tootmine (SCFA, gaasid) inimese ensüümide poolt mitteseeditavatest süsivesikutest.	Kõhukinnisus, -lahtisus, -puhitus
Kardiovaskulaarne tervis	Rasvade ja kolesterooli metabolism.	Kardiovaskulaarsed haigused

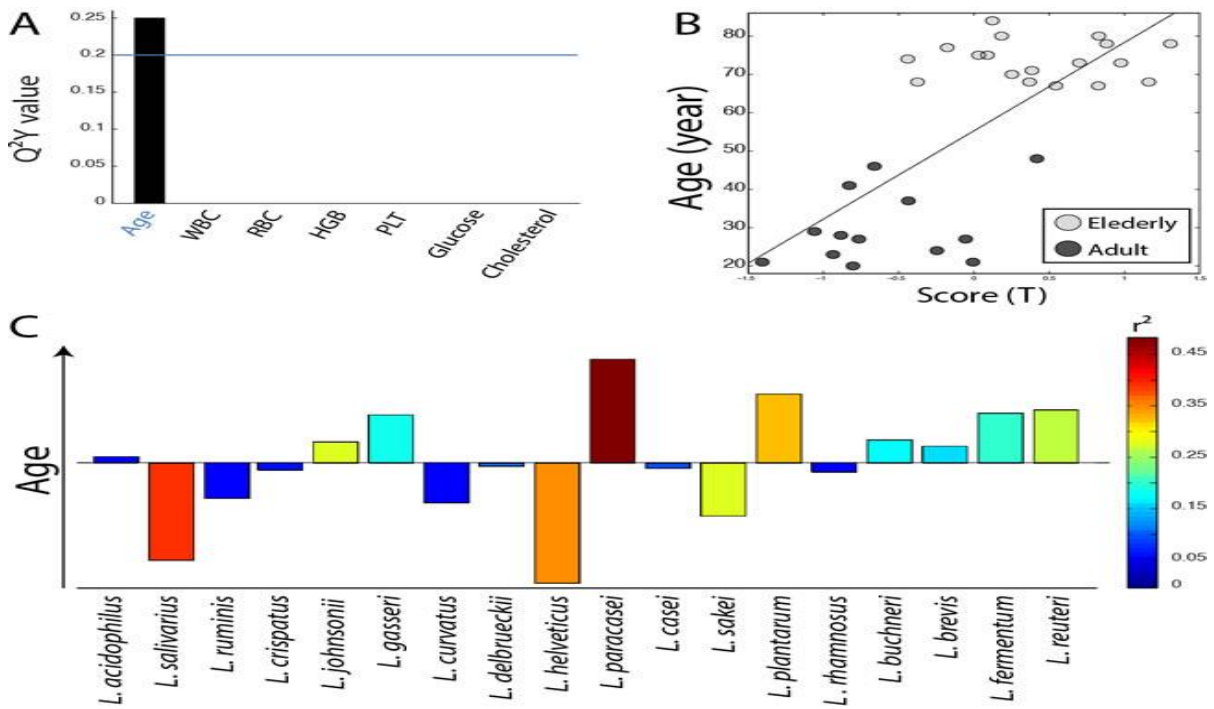
Reet Mändar

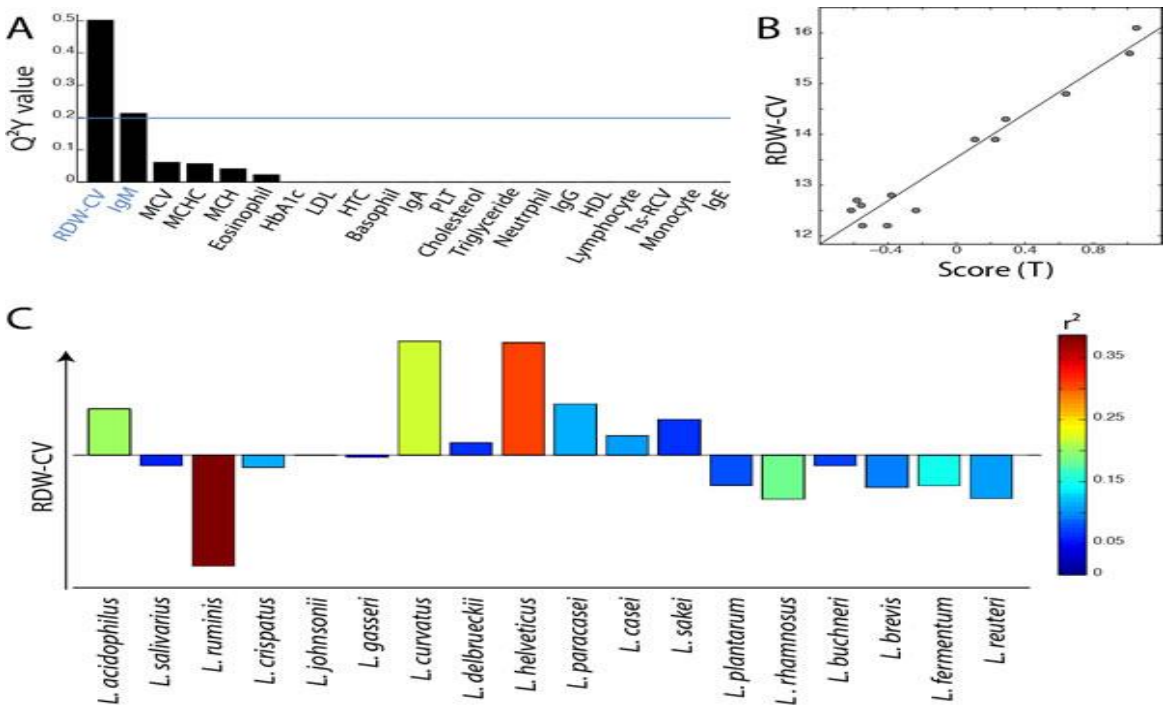
Soole mikrobioota ülekandmisel on võimalik indutseerida ülekaalulist

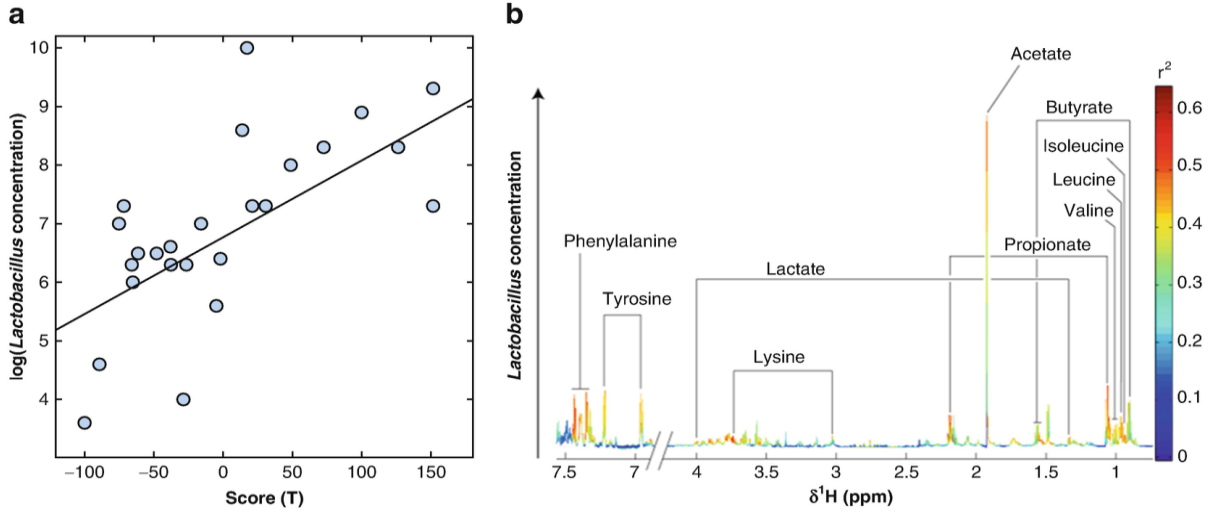


Walker et al., 2013

Lactobacillus sp. ja kliinilised markerid







Le Roy et al., 2015

Seedetrakti mikrobioota muutused

Mikrobioota ülekanne ülekaaluline ja normaalkaaluline

Proteobacteria
Escherichia

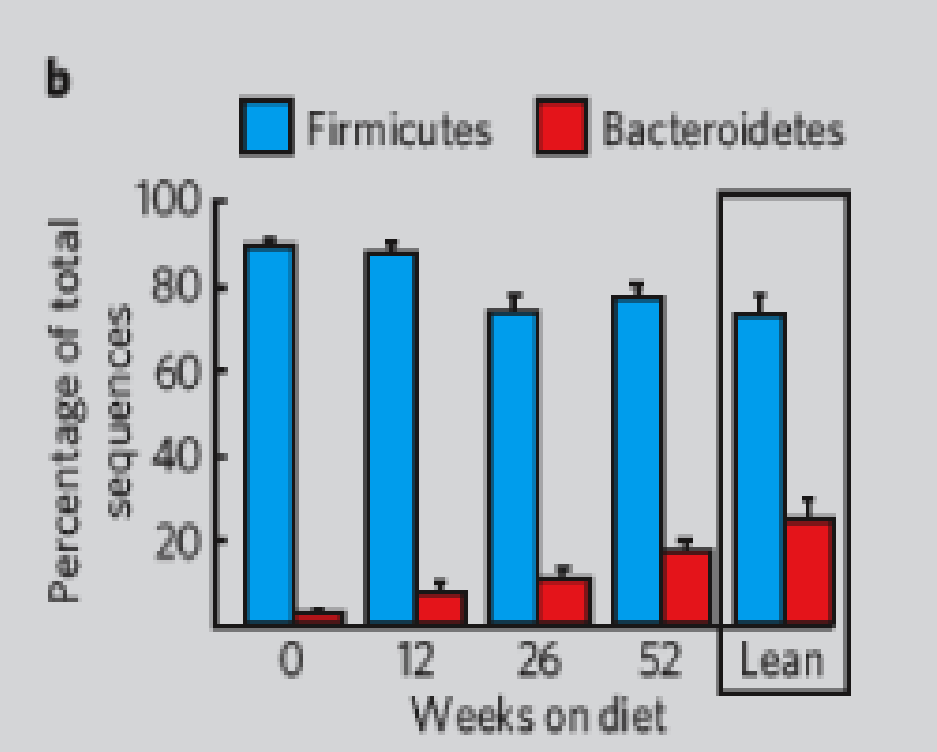
Clostridium
Eubacterium
Faecalibacterium
Roseburia
Lactobacillus
Staphylococcus

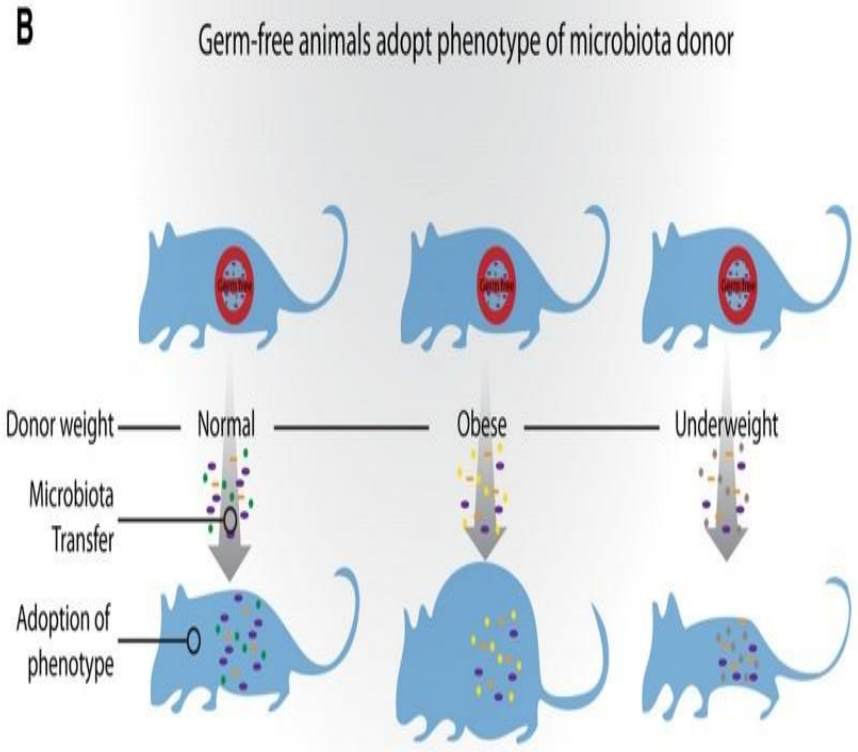
Firmicutes
hõimkond

Bacteroides spp

Bacteroides

Actinobacteria
Bifidobacterium

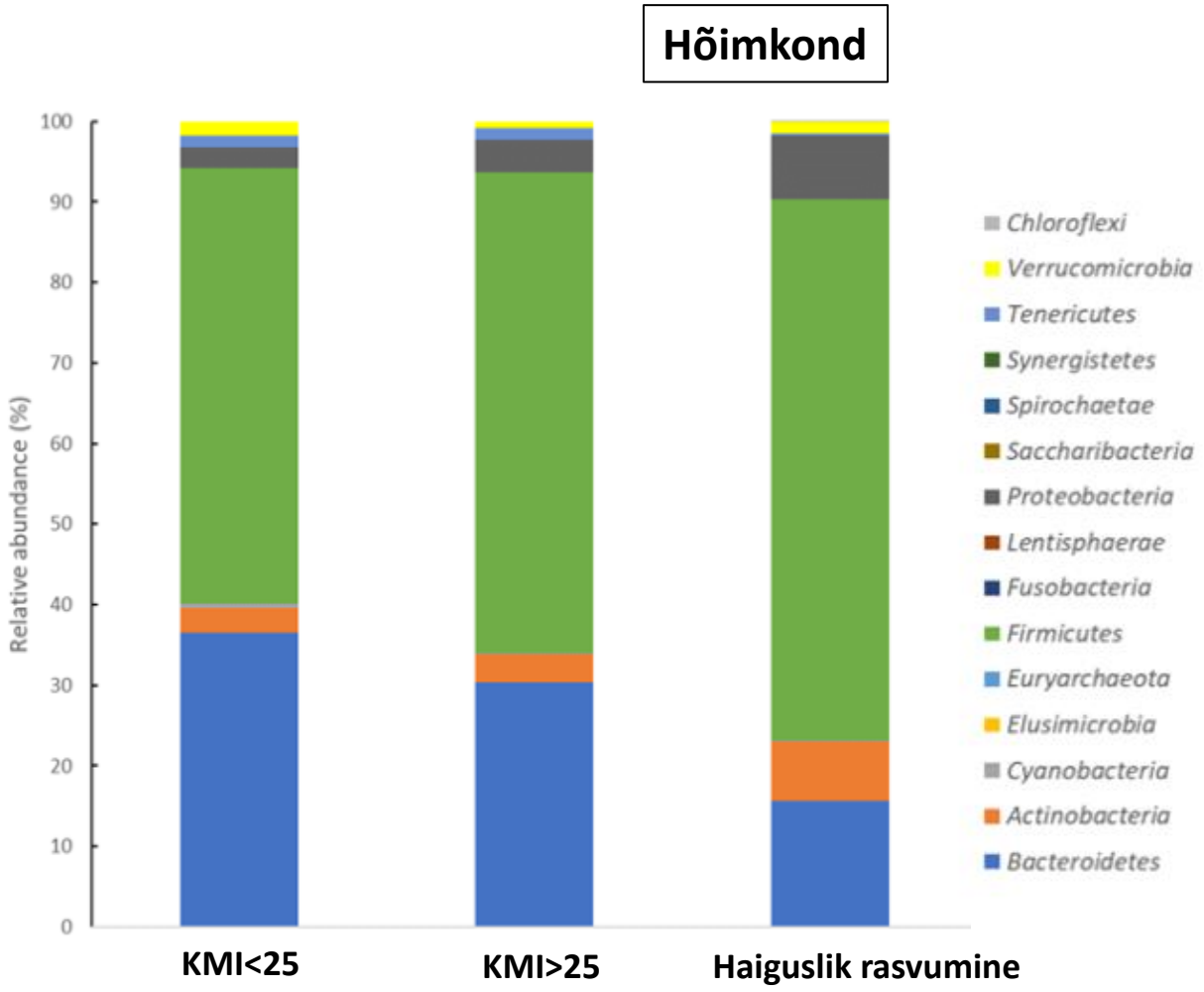


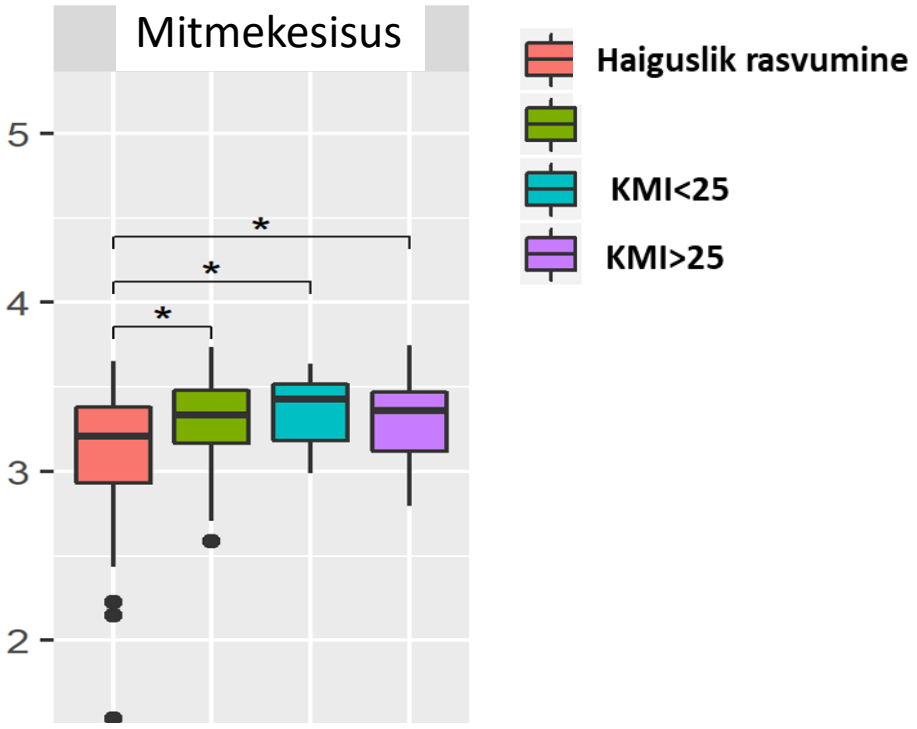


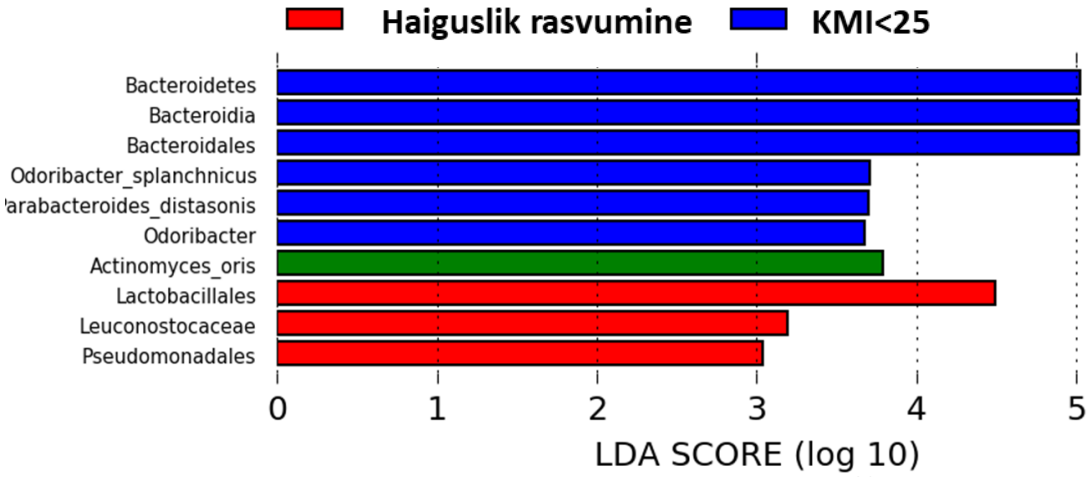
Ülekaaluliste mikrobioota on liigivaesem

Ley jt 2006; Bäckhed jt 2004; Gill jt 2006; Turnbaugh jt 2006; Kalliomäki jt 2008, Duncan jt 2008; Zhang jt 2009;

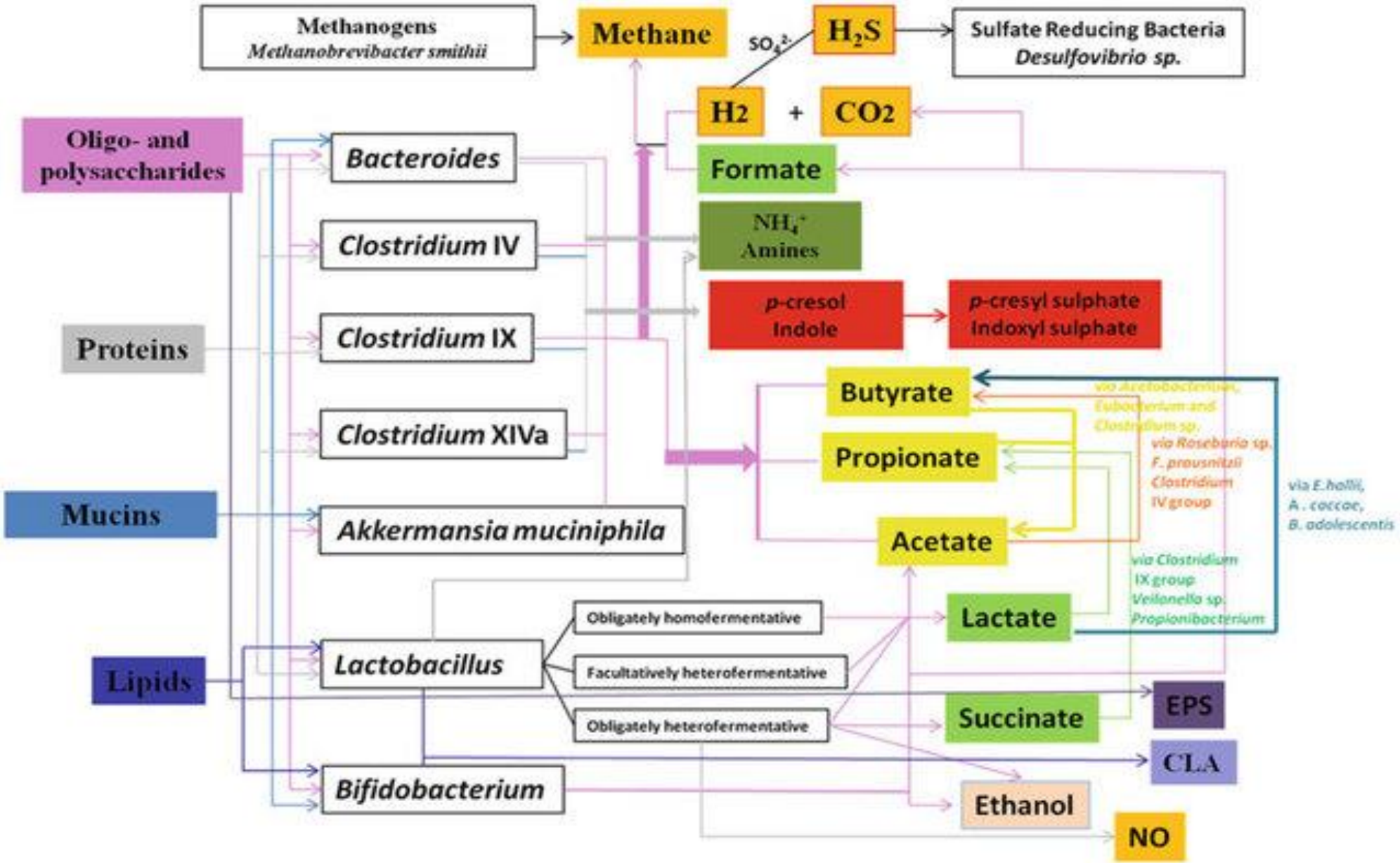
Normaalkaaluline vs. ülekaaluline/haiguslik rasvumine







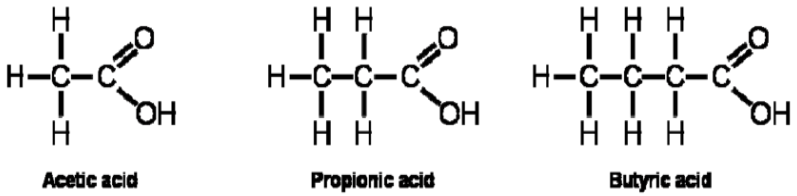
Šebunova, 2021



Mikelsaar et al., 2016

Butüraat:

- Kasutusel sooleepteeli energiaallikana
- Osaleb vitaniin K, biotiini ja folaadi sünteesis
- Põletikuvastase toime tugevdaja



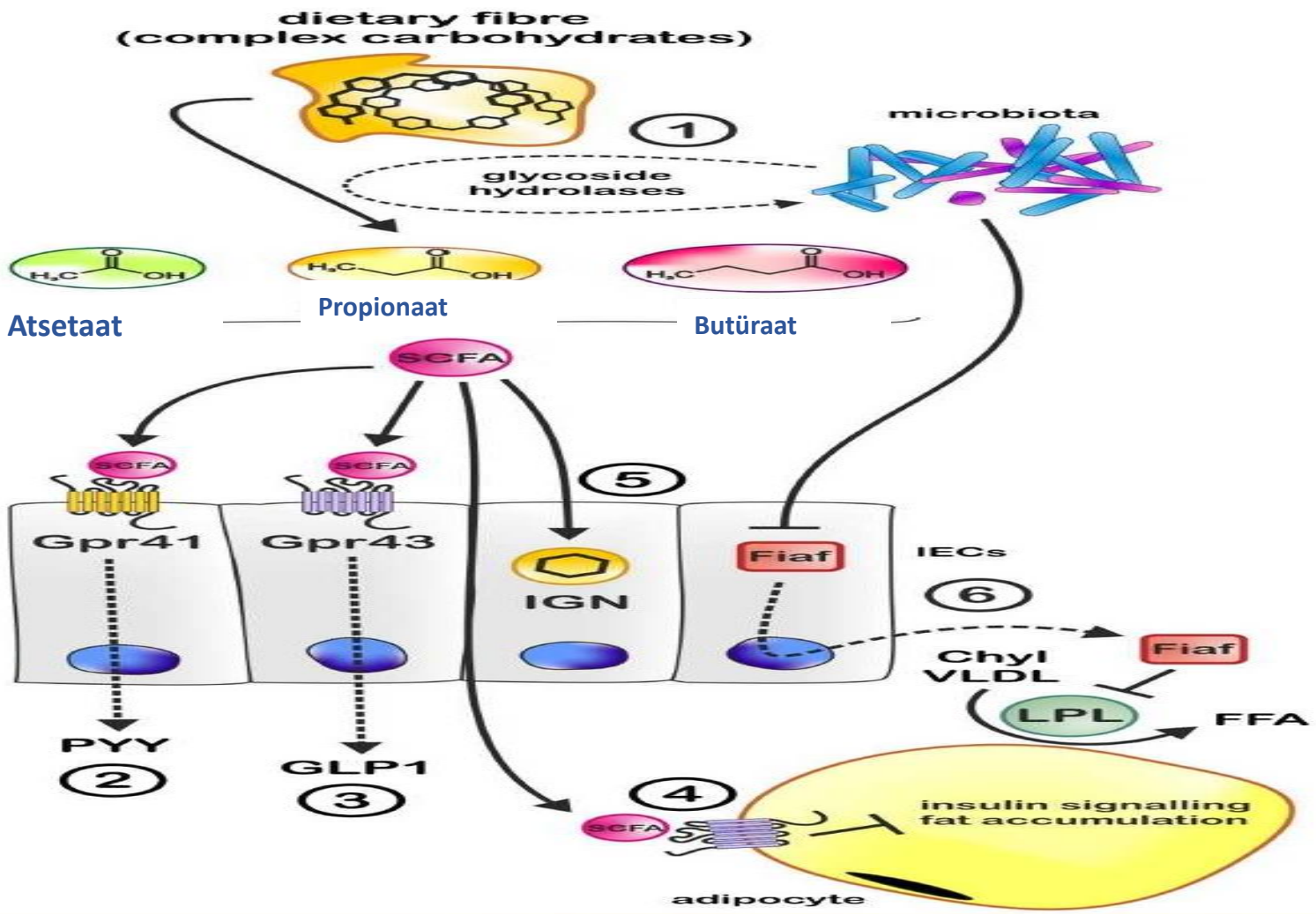
Atsetaat:

- Soodustab rasvhapete oksüdatsiooni, glükoosi homöostaasi ja vähendab põletikuseisundit.
- Kolestrooli substraat
- Maksas lipogeneesi ja glükoneogüneesi substraat

Propionaat :

- Maksas lipogeneesi ja glükoneogüneesi substraat
- Koos butüraatiga suurendavad soolestiku hormooni produktsiooni, mis vähendab söögiisu

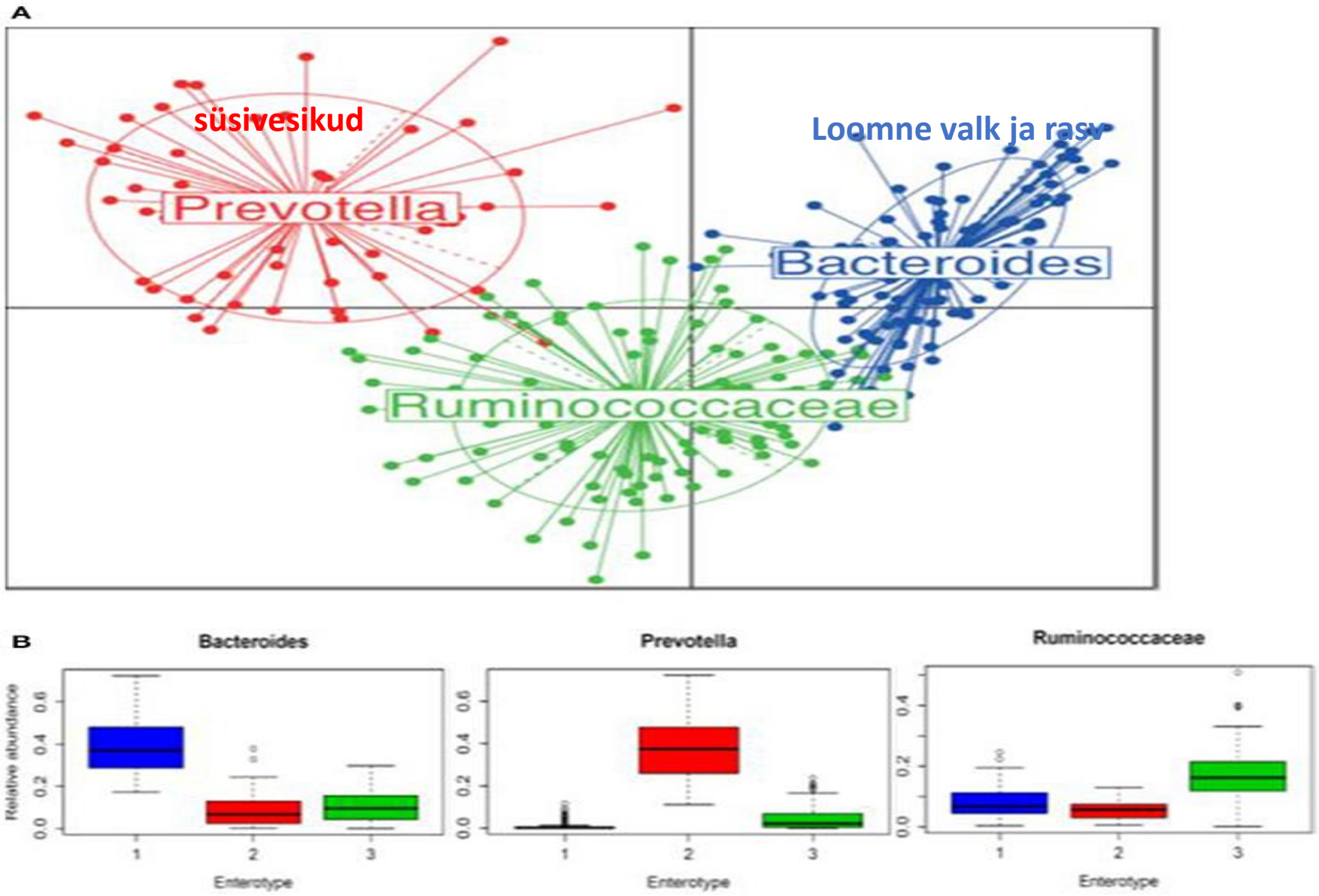
Lühikese ahelaga rasvhapped (SCFA)



Rasvunud inimestel on 20% kõrgem SCFA kontsentratsioon väljaheidetes.

Lipolüüsi inhibeerimine → Rasvkoe tekke

Soole mikrobioota tüübid - enterotüübid

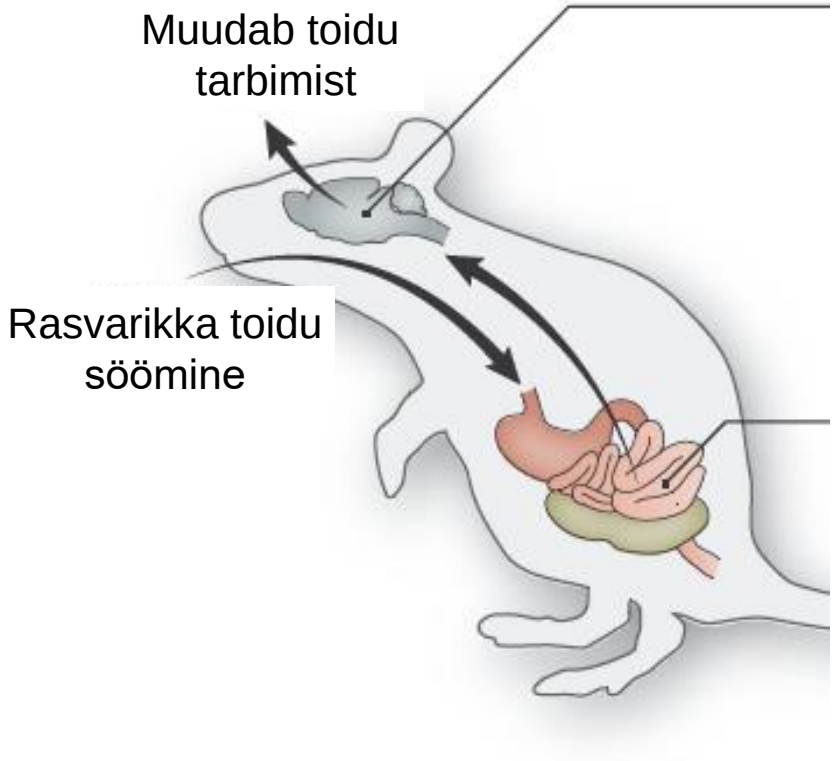


Dieedi mõju mikrobiootale

Family	Metabolites	Diet	Effects
Prevotellaceae	SCFAs	Fiber-rich diet	• Energy source for colonocytes • Signaling molecules • Regulation of intestinal transit time • Modulation of host appetite and food intake
Enterobacteriaceae	LPS	Western diet	• Metabolic endotoxemia • Pro-inflammatory signaling
Enterobacteriaceae, Bacteoridaceae, Ruminococcaceae, Lachnospiraceae	TMAO	Dietary source of choline	• Risk factor for MetS, cardiovascular and cerebrovascular events
Clostridiaceae	Indoxyl sulfate, p-cresyl sulfate	Western diet; VLCKD	• Chronic kidney disease • Cardiovascular, metabolic and brain disorders

LPS: lipopolysaccharide; MetS: metabolic syndrome; SCFA: short chain fatty acid; TMAO: trimethylamine N-oxide; VLCKD: very low carbohydrate ketogenic diet.

Rasvarikka toidu tarbimine



Mulders jt 2017

HFD –*High fat diet*

Increased after HFD feeding

- Proteobacteria
- Enterobacteriaceae
- Desulfovibrionaceae
- *Bilophila wadsworthia*

F: Proteobacteria

- Clostridiales
- Streptococcaceae
- *Streptococcus*
- *Anaerotruncus*
- *Coprococcus*
- *Dorea*
- *Flavonifractor*
- *Lactococcus*
- *Oscillibacter*

F: Firmicutes

- *Deferribacteres*
- *Mucispirillum*
- *Bacteroides*
- *Odoribacter*
- *Parabacteroides*

F: Bacteroidetes

Decreased after HFD feeding

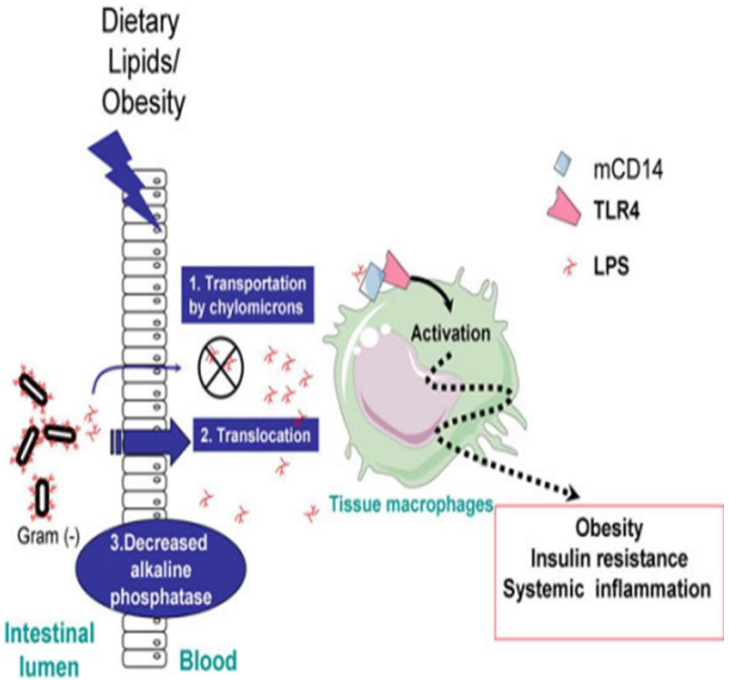
- Actinobacteria
- Bifidobacteriaceae
- *Bifidobacterium*

F: Actinobacteria

- Verrucomicrobia
- *Akkermansia muciniphila*
- Prevotellaceae
- *Prevotella*
- *Barnesiella*

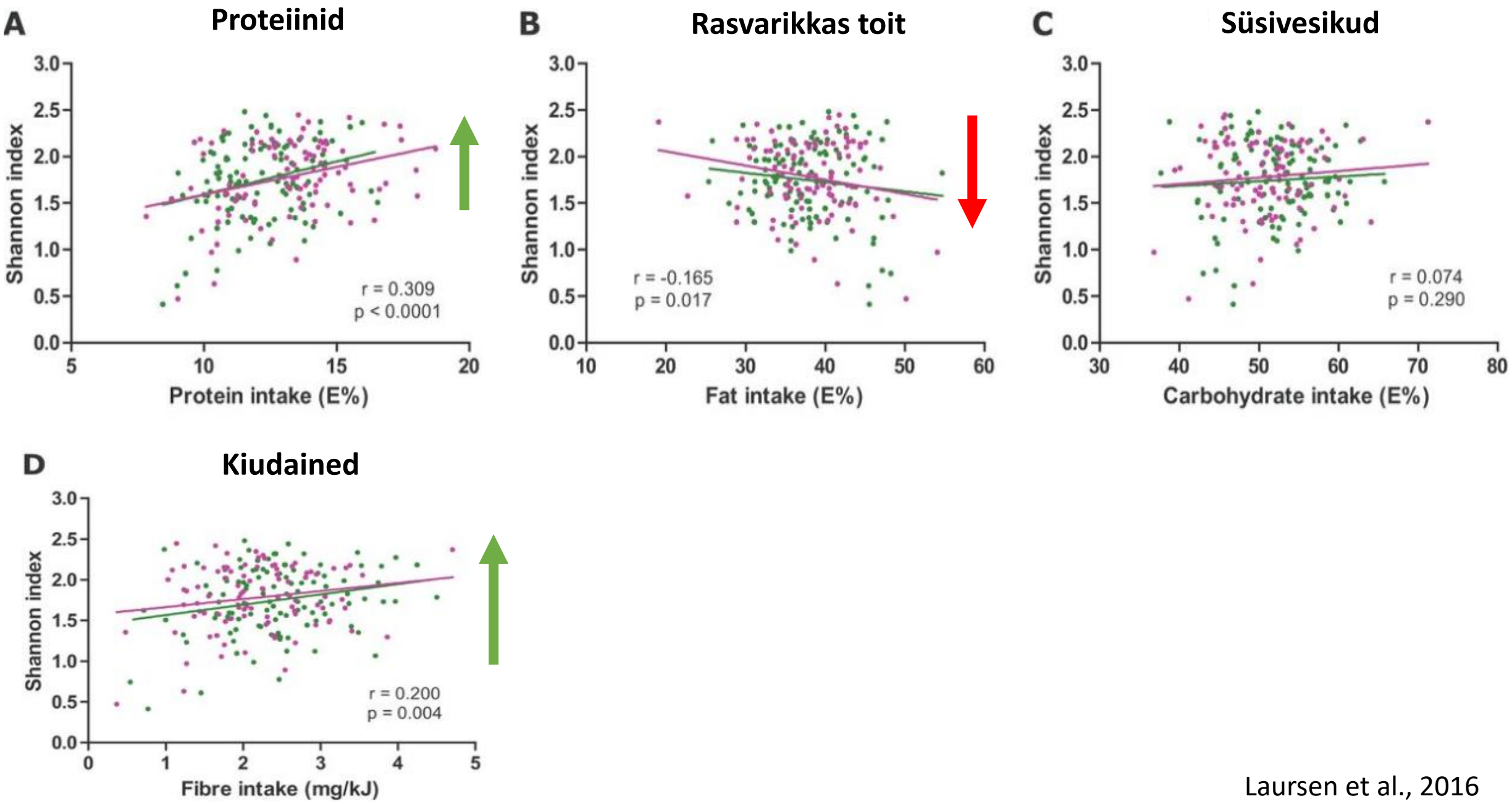
F: Bacteroidetes

Lipopolüsahhariidid (LPS)



- Grammnegatiivsete bakterite aktiivsus (*Proteobacteria*)
- Seerumi LPS kontsentratsiooni tõusu
- Endotokseemia → Rasvkoe teke

Mikrobioota mitmekesisus



Laursen et al., 2016

Põhjamaade dieet

62 ülekaalulist persooni

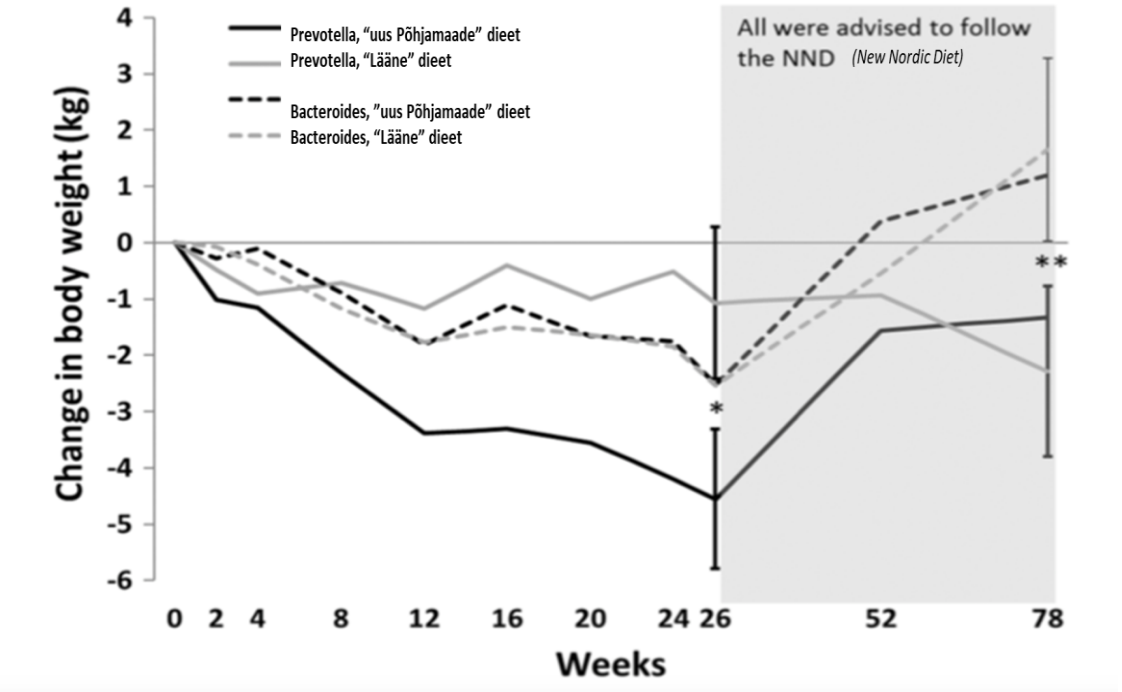
Madal ***Prevotella/Bacteroides***

Kõrge ***Prevotella/Bacteroides***

New Nordic Diet: kiudainerikkam valik (täisteratooted, marjad, puuviljad, köögiviljad), kala ja madala rasvasisaldusega piimatooted.

26 nädalat

Peaaegu pool elanikkonnast vastab



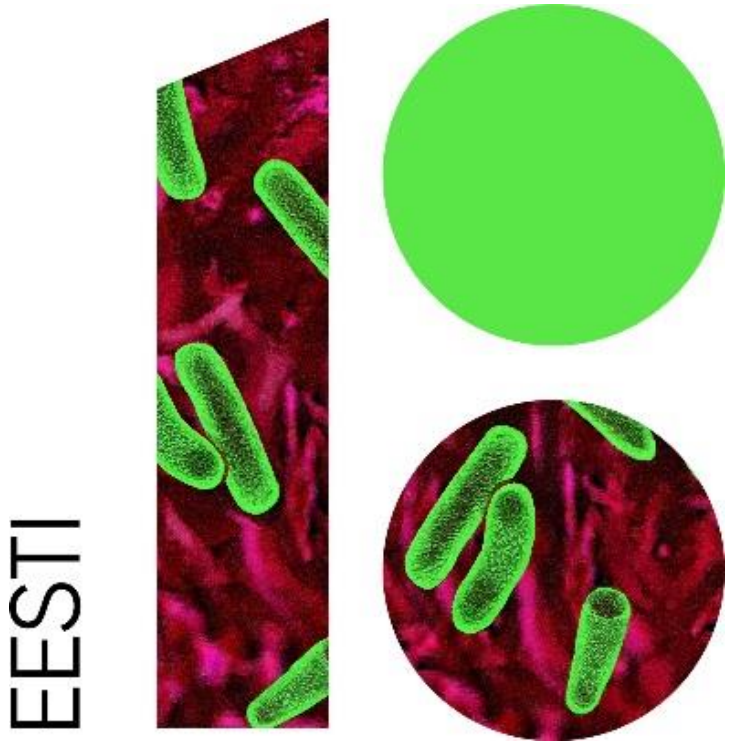
Kõrge **suhe *Prevotella/Bacteroides*** soodustab keharasva kaotamist võrreldes madala ***Prevotella/Bacteroides*** suhtega.

Hjorth et a., 2017

Uuring „100-aastased bakterid eestlaste terviseks“

Töö eesmärgid:

- võrrelda Eesti Vabariigi algusaastatel (100 aastat tagasi) ja taasiseseisvumise järel (1990-datel) sündinud inimeste seedetrakti **mikrobiootat** ning seostada seda toitumisharjumuste ja lapseea keskkonnatingimustega



Lisainfo:

ev100bakterid@ut.ee

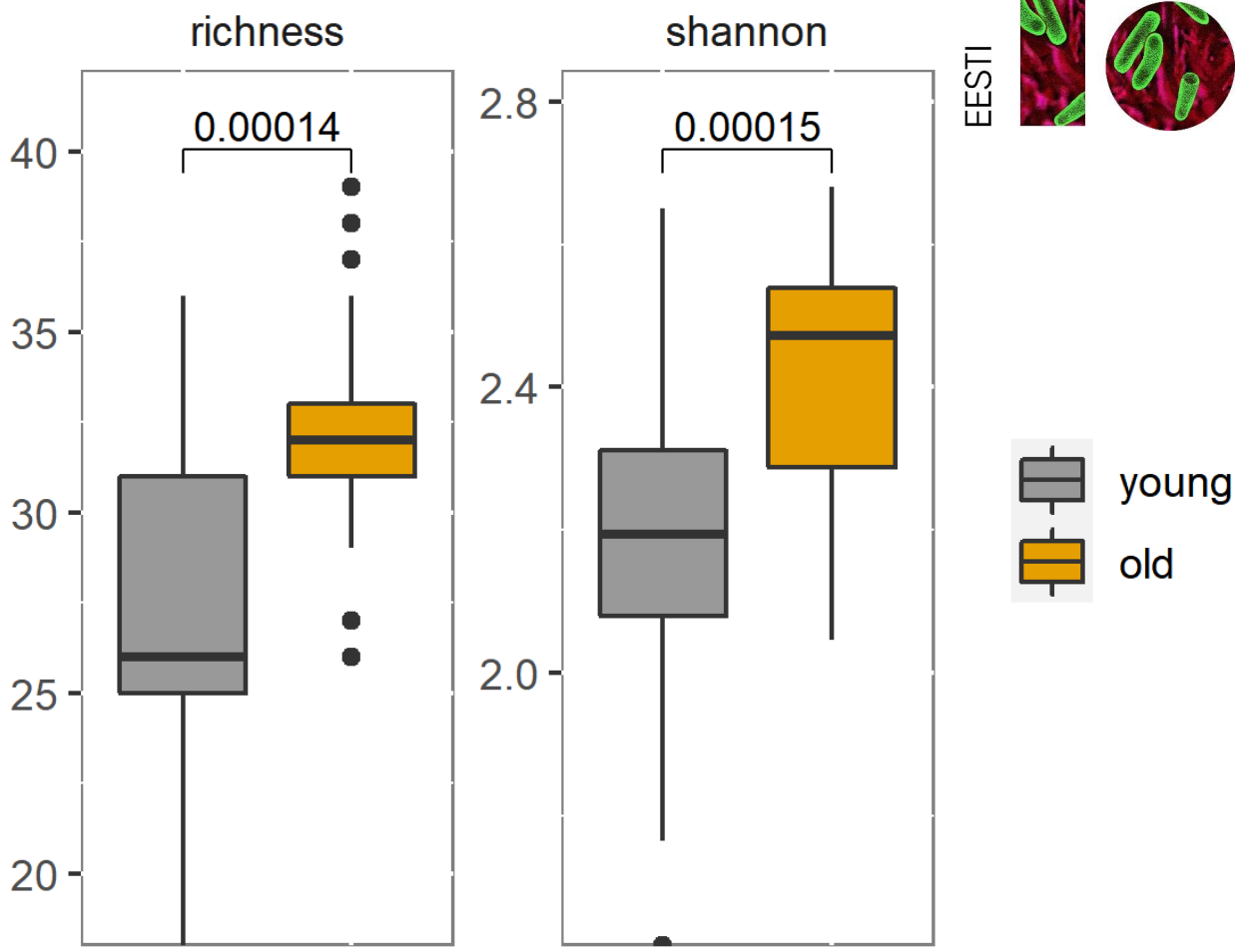
KÜSK Kodanikuühiskonna Sihtkapital

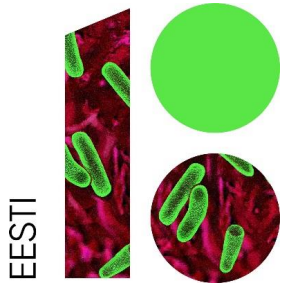
Reet Mändar&Epp Sepp, 2021

Mikrobiota liigirikkus ja mitmekesisus

100-aastaste mikrobiota võrreldes noortega:

- **liigirikkam** *(richness)*
- **mitmekesisem** *(Shannon)*





Reet Mändar&Epp Sepp, 2021

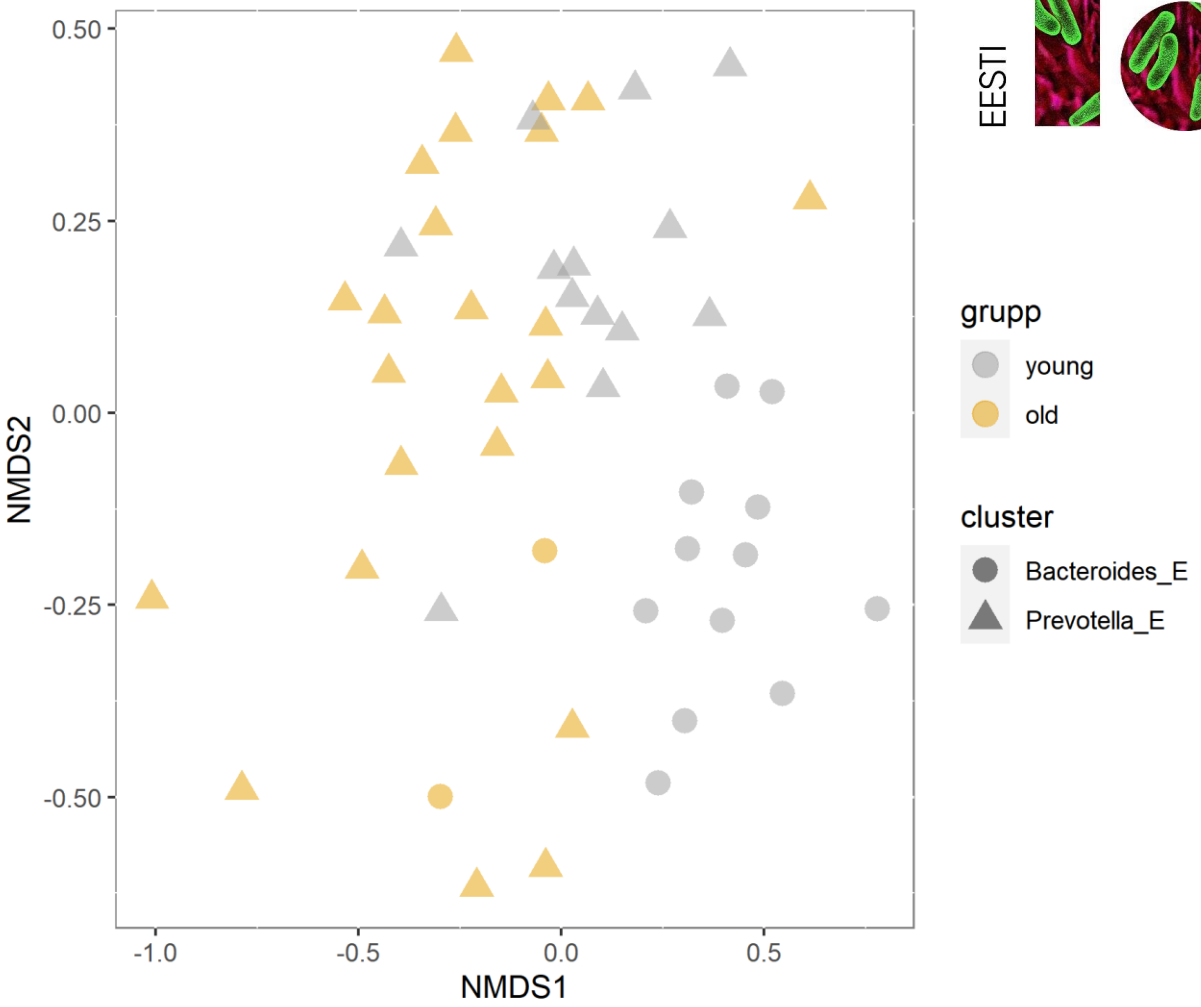
Enterotüüp

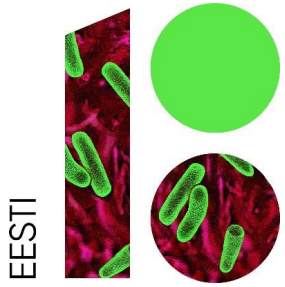
100-aastastel domineerib ***Prevotella*** enterotüüp, mis on iseloomulik kiudainerikkale dieedile

noortel ***Bacteroides*** enterotüüp, mis on iseloomulik loomse valgu ja rasva tarbimisele

100-aastased tarbisid enam:

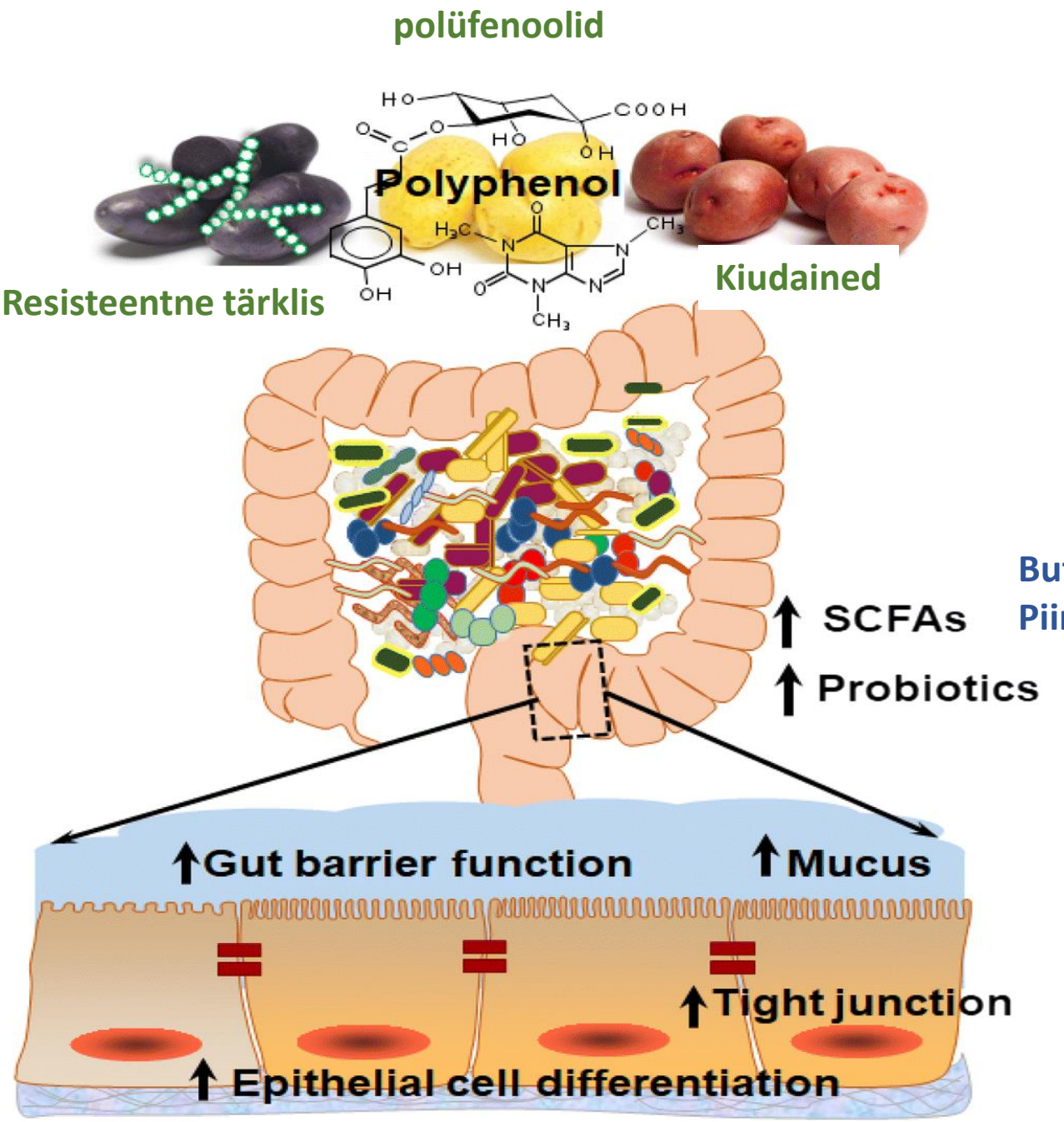
- kartulit
- teraviljatooteid





Reet Mändar&Epp Sepp, 2021

Kartuli söömine

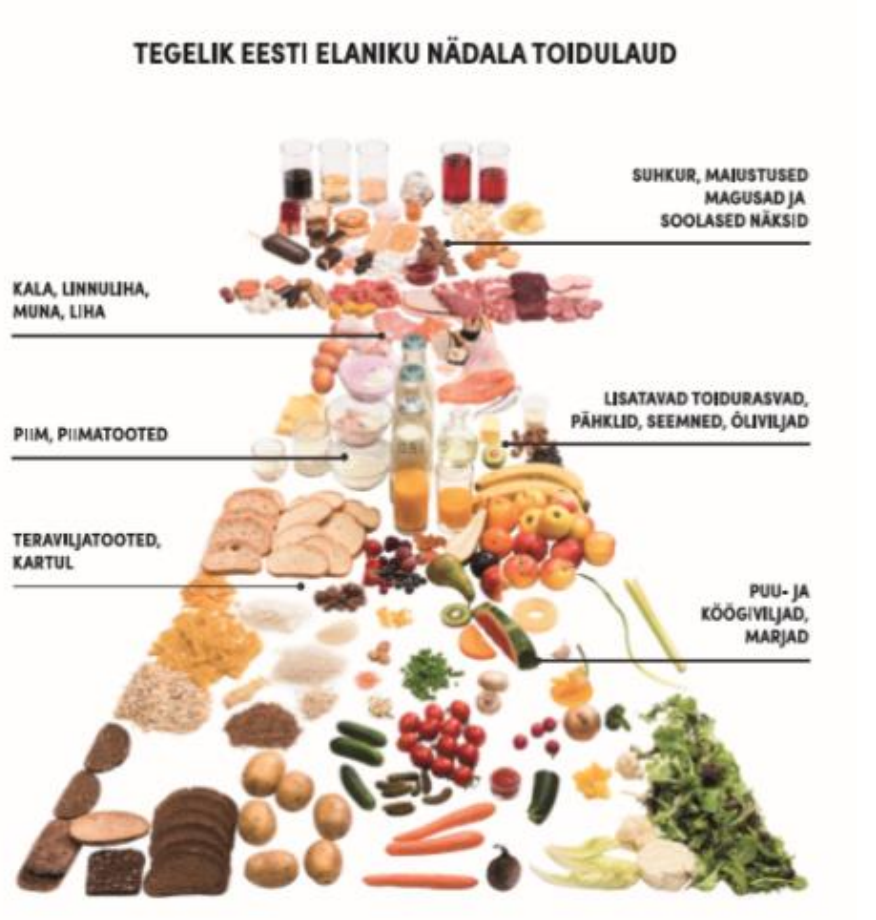


Butüraat
Piimhape

Bacteroides
Porphyromonas
Clostridium
Dorea
Lachnospira

Coprococcus
Rumminococcus
Bifidobacterium
Lactobacillus
Faecalibacterium

Eestlaste toidupüramiid



Järeldused

- Seedetrakti mikrobioota on tähtis süsteem inimkehas.
- Nii kehakaalu tõusus kui ka langusega on tähele pantud soolestiku mikrobioota koosluse muutusi.
- Mikroobide poolt toodetud lühikese ahelaga rasvhapped on olulised soolestiku metabolismis.
- Soolestiku mikrobioota kooslust on võimalik muuta dieediga:
  - soovitatakse jälgida juur-ja puuviljade rikast dieeti
  - vähendada loomse valgu, soola ja suhkru osakaalu toidulaual.

Mikrobioota moduleerimiseks (sh antibiootikumravi järgselt taastumiseks) soovitatakse kasutada probiootikume

Tänan tähelepanu eest!