

BIOMEDITSIINILISED JA ARSTITEADUSLIKUD ALUSUURINGUD TARTU ÜLIKOOLI ARSTITEADUSKONNAS

Eero Vasar

Tartu Ülikool

Oluliseks muutuseks Tartu Ülikooli arstiteaduskonna prekliiniliste allüksuste jaoks oli Biomeedikumi õppe- ja teadushoone valimine 1. septembril 1999. a. Prekliinilised allüksused, mis paiknesid mitmes erinevas kohas üle linna laiali, kolisid 1999. a teisel poolel ühte majja. Paljudel juhtudel tähendas see liikumist tingimustest, mis olid olnud väga head 19ndal sajandil, olukorda, kus oli võimalik korraldada õppe- ja teadustegevust vastavalt kaasaegsetele nõudmistele. Ühte hoonesse kolimine lõi põhimõtteliselt uued tingimused koostöö arendamiseks prekliiniliste allüksuste vahel, aga ka teaduskonna kliiniliste ja prekliiniliste institutsioonide vahel. Samuti tekkisid soodsad võimalused rahvusvahelise koostöö arendamiseks.

Parimaks näiteks koostöö jõudmisest uuele tasandile on Molekulaarse ja Kliinilise Meditsiini Keskuse (MKMK) asutamine (cmcm.ut.ee), mis on saanud tippkeskuse nimetuse Eesti Vabariigi ja Euroopa Liidu poolt. Tippkeskuse juhiks on TÜ üld- ja molekulaarpatoloogia instituudi (ÜMPI) immunoloogia õppetooli juhataja, professor Raivo Uibo. Tippkeskuse uurimistegevus on eelkõige seotud neurodegeneratiivsete haiguste patogeneetiliste mehhanismide selgitamisega ning selle alusel uute diagnostiliste ja ravimeetodite väljaarendamisega. 2003. a toimunud rahvusvahelisel teadusevalvatsioonil said tippkeskuse uurimisgrupid hindeks kas *good* või *excellent to good*. Tippkeskuse loomine on oluliselt stimuleerinud uurimisgruppide koostööd, mis nähtub ühispublikatsioonide arvu kasvus.

Tihedalt on tippkeskuse tegevusega seotud närviteadusealane kraadiõppekava, mis on sisuliselt esimene interdistsiplinaarne ja struktureeritud doktoriõppekava Eestis (biomedicum.ut.ee/neurokool/). Kraadiõppekava on loodud Ameerika Ühendriikide ja Suurbritannia vastavatest eeskujudest lähtudes. Esimesel aastal toimub intensiivne interdistsiplinaarne teoreetiline õpe, mis hõlmab kõike molekulidest kuni häirunud inimkäitumiseni välja. Kraadiõppekava on küll TÜ arstiteaduskonna vastutusallas, kuid paljude kursuste läbiviimise eest vastutavad Tartu

Ülikooli teiste teaduskondade silmapaistvad õppejõud (bioloogia-geograafia, füüsika-keemia ja sotsiaalteaduskonnast). Neuropatoloogia kursust aitavad korraldada välisõppejõud Saksamaalt ja Soomest. Närviteaduse doktoriõpet koordineerib TÜ füsioloogia instituudi dotsent Andres Soosaar.

Biomeedikumi valmimine on loonud eeldused välismaal töötavate teadlaste tagasipöördumiseks Eestisse. Parimaks näiteks selles vallas on rahvusvaheliselt tunnustatud teadlase professor Pärt Petersoni, kes töötas pikka aega Tampere Ülikoolis, tööleasumine TÜ arstiteaduskonda. Wellcome Trust'i ja Euroopa Liidu Raamprogrammi grantide toel on ta moodustanud molekulaarpatoloogia uurimisgrupi, mis antud hetkel kuulub ÜMPI koosseisu.

Biomeedikumis töötavate uurimisgruppide tegevus biomeditsiini valdkonnas on leidnud tunnustamist Eesti Vabariigi tasemel. Ajavahemikul 1998–2004 on prekliiniliste allüksuste uurimisgrupid saanud 5 riigi teaduspreemiat meditsiini alal (1998 – Mihkel Zilmer ja kaasautorid, 1999 – Raivo Uibo, 2001 – Aleksander Žarkovski ja kaasautorid, 2002 – Marika Mikelsaar, 2004 – Eero Vasar ja kaasautorid).

Alljärgnevalt käsitletakse üksikasjalikumalt biomeditsiini valdkonnas tegutsevate olulisemate TÜ arstiteaduskonna teadusgruppide saavutusi viimase viie aasta jooksul.

BIOKEEMIA INSTITUUT

Biokeemia instituudi juhataja on professor Mihkel Zilmer (avaldanud ajavahemikus 1999–2004 37 teadusartiklit). Biokeemia instituut on olnud tulemuslik doktoritööde kaitsmise poolest. Viimase viie aasta jooksul on kaitsitud kümme doktoritööd ja kaks magistratööd. Rahvusvahelisel teadusevalvatsioonil sai instituudi uurimisgrupp hindeks *good*. Biokeemia instituudi olulisemad uurimisprojektid on seotud haiguste patogeneesi ja teraapia nüüdisaegsete biokeemiliste mehhanismide selgitamisega. Eeskätt uuritakse oksüdatiivse stressi ja haiguste patogeneesi seoseid. Haigused ja seisundid, mille puhul

neid seoseid uuritakse, on järgmised: neerupuudulikkus, isheemia/reperfusiooni kahjustused ja kehavälise vereringe tingimustes teostatavad operatsioonid, ateroskleroos ja spetsiaalne monitooring-projekt ASSER, eritasemelised endoteeliuuringud, prooksidandid kui patogeneetilised faktorid ning neurodegeneratsioon [Pihl jt, 2003; Kampus jt, 2004].

Teiseks tähtsamaks uurimissuunaks on uudsete peptiidide (sh ka kimäärsete) disain, süntees ja biokeemilis-neurokeemiline skriinimine (ajukoe Na-pumba regulatsioon bioaktiivsete faktorite poolt normaalses ja geenide väljalülitamise olukorras, peptiidid kui bioregulaatorid ja perspektiivsed molekulid uute ravimite disainimiseks). Rakkutungimisvõimeliste peptiidide, peptiidsete nukleiinhapete (PNA) ja antisensehnoloogia praktiliste võimaluste uurimine, sh ka oksüdatiivse stressi adaptatiivsete ja patogeneetiliste molekulaarmehhanismide selgitamiseks ja võimalikuks mõjutamiseks [Saar jt, 2002; Fisher jt, 2004].

Biokeemia instituuti seob tihedalt rahvusvaheline koostöö (uurimisprojektid, artiklid, ühismagistrandid, ühisdoktorandid) Stockholmi Ülikooli Neurokeemia ja Neurotoksikoloogia Instituudiga, Huddinge Ülikooliga, Scripps uurimisinstituudiga USAs, SUNY Ülikooliga Stony Brook'is USAs, Pennsylvania Riikliku Ülikooliga, Uppsala Ülikooliga, Karolinska haigla torakaalkirurgia osakonnaga, Kuopio Ülikooliga, Trømso Ülikooliga, Karolinska Instituudi Biofüüsika ja Meditsiinilise Biokeemia Instituudiga. Koostöö Eestis (projektid, artiklid, ühisdoktorandid) toimub arstiteaduskonna kliinikutega (kardioloogiakliinik, anestezioloogia ja intensiivravi kliinik, sportimeditiini ja taastusravi kliinik, kirurgiakliinik, kardiovaskulaar- ja torakaalkirurgia kliinik, nahahai-guste kliinik, stomatoloogiakliinik) ja instituutidega (füsioloogia instituut, anatoomia instituut, mikrobioloogia instituut, farmaatsia instituut, farmakoloogia instituut) ning TÜ Biokeskusega.

Alljärgnevalt valik olulisemaid tulemusi, millest põhiosa on juba publitseeritud rahvusvahelistes kõrge tsiteeritavusega väljaannetes.

Biokeemia instituudis loodi bioaktiivsete ühendite (võimalike ravimite eelvormide, antioksidantide jt) sünteesisüsteem ja raamatukogu ning saadi patent ühe võimsa antioksidantse peptiidi kohta. Uurimisgrupis töötati välja mudel, mis, initsieerides isheemilise eelkohastumuse, tekitab kaitse südamelihase potentsiaalselt letaalse isheemilise kahjustuse vastu. Professor M. Zilmeri initsiatiivil loodi esimene interdistsiplinaarne Endoteelikeskus Eestis. See keskus

loob veelgi paremad tingimused koostööks prekliiniliste ja kliiniliste allüksuste vahel ja pikemas perspektiivis on oluliseks elukvaliteeti parandavaks algatuseks Eestis.

Koostöös Stockholmi Ülikoolis töötava professor Ülo Langeli töögrupiga uuriti kuivõrd on võimalik nii *in vivo* kui ka *in vitro* suruda maha galaniini retseptori sünteesi, kasutades selleks kõikide galaniini retseptori mRNAde vastu sünteesitud antisense-PNAd ning vastavat transportsüsteemi. Antud meetodikaga uuriti valu regulatsiooni ja epilepsia tekke mehhanisme *in vivo* eksperimentides. Kroonilise neerupuudulikkuse uurimisvaldkonnas on koostöös Uppsala Ülikooli teadlastega (professor B. Fellström) selgitatud välja mitmed markerite kombinatsioonid, mis peegeldavad adekvaatselt selliste haigete atereogeenset seisundit ja näitavad võimalusi selle seisundi korrigeerimiseks. Nimetatud uuringute andmed ja üldistused on publitseeritud selle eriala tippajakirjades [Annuk jt, 2001; 2003]. Koostöös Rootsi teadlastega (professor N. Bogdanovic'i uurimisgrupp) näidati, et Alzheimeri tõve patogenees on selgelt oksüdatiivse stressi põhine ning näidati otsest sõltuvust oksüdatiivse stressi sügavuse ja selle tõve regioonide spetsiifilisuse vahel inimese ajukoos [Kairane jt, 2002]. Nende oluliste alusuuringute tulemuste edasiarendamine on viinud selleni, et mitmed biokeemia instituudi töögrupi liikmed on lülitatud nelja patentitaotlusesse.

Olulisemad publikatsioonid

Annuk M., Zilmer M., Fellstrom B. 2003. Endothelium-dependent vasodilation and oxidative stress in chronic renal failure: impact on cardiovascular disease. *Kidney Int Suppl.*, 84, S50-S53.

Annuk M., Zilmer M., Lind L., Linde T., Fellstrom B. 2001. Oxidative stress and endothelial function in chronic renal failure. *J. Am. Soc. Nephrol.*, 12, 2747-2752.

Fisher L., Soomets U., Cortes Toro V., Chilton L., Jiang Y., Langel U., Iverfeldt K. 2004. Cellular delivery of a double-stranded oligonucleotide NFkappaB decoy by hybridization to complementary PNA linked to a cell-penetrating peptide. *Gene Ther.*, 11, 1264-1272.

Kairane C., Roots K., Uusma T., Bogdanovic N., Karelson E., Köks S., Zilmer M. 2002. Regulation of the frontocortical sodium pump by Na⁺ in Alzheimer's disease: difference from the age-matched control but similarity to the rat model. *FEBS Lett.*, 531, 241-244.

Kampus P., Kals J., Ristimäe T., Fischer K., Zilmer M., Teesalu R. 2004. High-sensitivity C-reactive protein affects central haemodynamics and augmentation index in apparently healthy persons. *J. Hypertens.*, 22, 1133-1139.

Pihl E., Zilmer K., Kullisaar T., Kairane C., Pulges A., Zilmer M. 2003. High-sensitive C-reactive protein level and oxidative stress-related status in former athletes in relation to traditional cardiovascular risk factors. *Atherosclerosis.*, 171, 321-326.

Saar K., Mazarati A. M., Mahlapuu R., Hallnemo G., Soomets U., Kilk K., Hellberg S., Pooga M., Tolf B. R., Shi T. S., Hokfelt T., Wasterlain C., Bartfai T., Langel U. 2002. Anticonvulsant activity of a non-peptide galanin receptor agonist. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A*, 99, 7136-7141.

FARMAKOLOOGIA INSTITUUT

Farmakoloogia instituudis on professor Lembit Allikmets loonud tugeva koolkonna, mis jätkab kuulsat Saksa psühhiaatri Emil Kraepelini poolt alustatud psühhofarmakoloogia traditsiooni Tartu Ülikoolis. Nüüd juhivad farmakoloogia instituuti professor Aleksander Žarkovski, kes on sellega hästi toime tulnud. Olulise panuse instituudi tegevusse on andnud üks lootustandvamatest noorema generatsiooni teadlastest – vanemteadur Allen Kaasik, kes sai 2001. a Presidendi kultuurirahastu Noore teadlase preemia. 2003. a toimunud rahvusvahelisel teadusevalvatsioonis sai farmakoloogia instituudi teadusgrupp hindadeks *excellent to good*, mis viitab farmakoloogia instituudi uurimistöö jätkuvalt kõrgele rahvusvahelisele tasemele.

Instituudis toimub teadustöö järgmistes suundades: neurogenees ja ajuplastilisus, tsüstatiin B valk Unverricht Lundborgi tüüpi epilepsia korral ja neuroonaalse surma mitokondriaalne komponent. Käesoleval hetkel on olulisemateks välispartneriteks: professor Elizabeth Bock (Panumi Instituut, Kopenhaagen) ja professor Renee Ventura-Clapier (Lõuna-Pariisi Ülikooli farmaatsiateaduskond).

Viimastel aastatel on farmakoloogia instituudi teaduslik aktiivsus suurel määral kontsentreeritud Euroopa Liidu 5 Raamprogrammi grandide "Tsüstatiini B roll epilepsias" täitmisele. Põhiuuringud olid suunatud tsüstatiin B defitsiitsete hiirte käitumise ja aju morfoloogiliste muutuste väljaselgitamisele. Selleks kasutati laialdaselt immunohistokeemiat, et leida neuroonaalseid populatsioone, mis on transgeensetel loomadega hävinenud. Instituudi

sihtfinantseerimise teema alla koondunud projektide ühiseesmärgiks on leida võimalusi neurodegeneratsiooni pärssimiseks ja/või neurogeneesi aktiveerimiseks [Kalda jt, 2000; Kaasik jt, 2001]. Uuriti mitmete neurosteroidide neuroprotektiivse ja võimaliku neurotoksilise toime mehhanismi mitokondriaalsel tasemel [Kaasik jt, 2003; 2004]. Viidi läbi ka katepsiini inhibiitorite uuringuid, selgitamaks nende võimalikku kasutust EPM1 tüüpi epilepsia korral. Lisaks sellele uuriti, kuidas mõjutavad mitmed nii kasutusel olevad kui ka eksperimentaalsed farmakonid neuronite regeneratsiooni ning kuivõrd on nende ainetega võimalik mõjutada mitmete erinevate närvisüsteemi patoloogiate kulgu [Žarkovskiy jt, 2003].

On välja töötatud meetodika kinureeniinide määramiseks bioloogilistest kudetest ja kasutatud seda huntingtiini üleekspressiooniga transgeensete rottide ajukoe uurimiseks [von Horsten jt, 2003]. Suurt tähelepanu osutatud atüüpiliste antipsühhootiliste ainete (sertindooli, ziprasidoni, quetiapiini, melperooni ja risperidoni) toimemehhanismi selgitamisele. Neid aineid on võrreldud klassikalise I põlvkonna neuroleptikumi haloperidooli ja uemate antidepressantidega. Võrdluses haloperidooliga leiti, et atüüpilistel antipsühhootilistel ainetel on nõrk, ainult suurtes annustes avalduv dopaminoblokeeriv toime, samuti on täheldatavad väga nõrgad dopamiini retseptoreid sensitiiseerivad omadused kestval kasutamisel. Oluliselt tugevam oli nende serotoniini 5-HT₂ retseptoreid blokeeriv efekt: antagonism 5-HT agonisti kvipasiini käitumuslike efektidega ja kestval manustamisel neid retseptoreid sensitiiseeriv efekt, mis väljendus serotoniini sünteesi vähenemisena. Võrdlemaks atüüpilisi antipsühhootilisi aineid uemate antidepressantidega viidi läbi terve rida käitumis- ja neurokeemilisi katseid. Selgus, et antipsühhootikumide ja antidepressantide toimete ilmnemiseks sundkäitumise testides on vajalik kas otsene või kaudne serotoniinergilise närviülekanne aktivatsioon, kusjuures olulisemateks retseptoriteks, mis vahendavad neid toimeid, on 5-HT_{1A} ja 5-HT_{2A/2C}. *Post-mortem* monoamiinide määramine näitas, et monoamiinide sisalduse muutus KNSs *per se* ei ole määrava tähtsusega antipsühhootikumide ja antidepressantide käitumuslike toimete kontekstis.

Farmakoloogia instituudis on jätkuvalt uuritud erinevate neuropeptiidide rolli käitumise regulatsioonis ja psühhotropsete ainete toimes. Koostöös Uppsala Ülikooliga (professor Helgi Schiöth) viidi läbi katsete seeriad, kus uuriti melanokortsiini- ja NPY-retseptorite uute antagonistide toimemehhanismi

[Kask, Schiöth, 2003]. Teostati ka uuringud, kus jälgiti uue peptiidse struktuuriga neurotransmitteri kokaiini ja amfetamiini poolt reguleeritud transkripti (CART) toimet monoamiinide (NA, DA, 5-HT) ringkäigule rottide ja hiirte ajus ning tema osalust psühhootroopsete ainete toimes.

Olulisemad publikatsioonid

Horsten S. von, Schmitt I., Nguyen H. P., Holzmann C., Schmidt T., Walther T., Bader M., Pabst R., Kobbe P., Krotova J., Stiller D., Kask A., Vaarmann A. et al. 2003. Transgenic rat model of Huntington's disease. *Hum. Mol. Genet.*, 12, 617-624.

Kaasik A., Joubert F., Ventura-Clapier R., Veksler V. 2004. A novel mechanism of regulation of cardiac contractility by mitochondrial functional state. *FASEB J.*, 18, 1219-1227.

Kaasik A., Kalda A., Jaako K., Zharkovsky A. 2001. Dehydroepiandrosterone sulphate prevents oxygen-glucose deprivation-induced injury in cerebellar granule cell culture. *Neuroscience*, 102, 427-432.

Kaasik A., Safulina D., Kalda A., Zharkovsky A. 2003. R Dehydroepiandrosterone with other neurosteroids preserve neuronal mitochondria from calcium overload. *J. Steroid. Biochem. Mol. Biol.*, 87, 97-103.

Kalda A., Kaasik A., Vassiljev V., Pokk P., Zharkovsky A. 2000. Neuroprotective action of group I metabotropic glutamate receptor agonists against oxygen-glucose deprivation-induced neuronal death. *Brain Res.*, 853, 370-373.

Kask A., Schiöth H. B. 2000. Tonic inhibition of food intake during inactive phase is reversed by the injection of the melanocortin receptor antagonist into the paraventricular nucleus of the hypothalamus and central amygdala of the rat. *Brain Res.*, 887, 460-464.

Zharkovsky T., Kaasik A., Jaako K., Zharkovsky A. 2003. Neurodegeneration and production of the new cells in the dentate gyrus of juvenile rat hippocampus after a single administration of ethanol. *Brain Res.*, 978, 115-123.

FÜSIOLOOGIA INSTITUUT

TÜ füsioloogia instituudi neurofüsioloogia uurimisgrupp, mille juhiks on professor Eero Vasar (avaldanud PubMed Medline andmetel ajavahemikus 1999–2004 30 teaduspublikatsiooni), sai 2003. a toimunud rahvusvahelisel teadusevalvatsioonil hinnanguks *ex-*

cellent to good. Uurimisgrupis on viimase viie aasta jooksul kaitstud kolm doktoritööd (S. Kõks, V. Volke ja A. Veraksitš) ja on toetatud kahte psühhiaatriakliinikus valminud väitekirja (J. Šlik ja E. Maron). Neurofüsioloogia uurimisgrupp alustas psühhofarmakoloogia valdkonnas, kuid viimaste aastatega on huvikeskmesse tõusnud geeni-tehnoloogiliste lähenemisviiside rakendamine neurobioloogias ja psühhofarmakoloogias. See lubab tungida üksikute ajustruktuuride tasemel toimuvate närviotsesside molekulaarsetesse mehhanismidesse. Nende uuringute käigus on kasutusele võetud Eesti tingimustes uusi kaasaegseid uurimismeetodeid: transgeenne tehnoloogia geneetiliselt modifitseeritud katseloomade loomiseks, diferentsiaalkloneerimise rakendamine erinevate geenide ekspressiooni analüüsiks ajustruktuuride tasemel, geenikiipide tehnoloogia ühenukleotiidsete geeni polümorfiismide ja geeni ekspressiooni analüüsimiseks. Uuringud on teostatud rahvusvahelises koostöös Nantesi (professor M. Bourin), Kobe (professor T. Matsui), Kuopio (professor P. T. Männistö), Aarhusi (professor B. Rosenberg) ja Helsingi ülikoolide (professor H. Rauvala) teadlastega.

Leidmaks uusi sihtmärke ärevuse ja emotsionaalsete häirete molekulaarsete mehhanismide käsitlemisel, kasutati katseloomadel, kelleks olid Wistar liini isased rotid, loomulikke ärevust esilekutsuvaid situatsioone. Rottide eksponeerimine kassilõhna suhtes kutsus esile käitumuslikud muutused, mis on iseloomulikud nende katseloomade ärevusseisundile. Teiseks mudeliks on ülestõstetud pluss-puuri mudel, farmakoloogiliselt hästi valideeritud katsesituatsioon ärevuselaadse käitumise uurimiseks. Nii kiskjalõhna kui ka pluss-puuri mudelites analüüsiti diferentsiaalse kloneerimise abil muutusi erinevate geenide ekspressioonis negatiivsete emotsioonidega seotud ajustruktuurides. Katsetes, kus uuriti kassilõhna toimet rottide käitumisele ja opioidi süsteemiga seotud geenide ekspressioonile, leiti, et kassilõhna mõjul kaob morfiini stimuleeriv toime katseloomade uudistavale käitumisele. Selle käitumusliku muutusega kaasnes pro-opio-melanokortiini (POMC) geeni oluline üle-ekspressioon mandelkehas (ärevusega seotud keskne struktuur ajus) ja mesolimbilistes struktuurides (motivatsioonidega seotud piirkond ajus). Teadupärast on POMC β -endorfiini, kõige tugevama toimega endogeense opioidi, eelkäijaks molekuliks. Mesolimbilistes struktuurides suurenes μ -opioidi retseptori, morfiini põhilise sihtmärgi, geeni ekspressioon. Need tulemused lubavad väita, et kassilõhn põhjustab olulisi adaptatiivseid muutusi emotsionaalse stressiga seotud ajustruktuurides. Järg-

nevalt leiti, et kassilõhna mõjul toimub terve rea geenide ekspressiooni suurenemine roti mandelkehas. Suurenenud mitmete närviülekanedega seotud geenide ekspressioon (karboksüpeptidaas E, türosiini 3-monooksügenaas/trüptofaani 5-monooksügenaas, wolframiin, Rho GTP-aas, neurokondriin, Ca/kalmoduliin-sõltuv proteiini kinaas ja Na^+/K^+ ATPaasi alfa (+) isovormi katalüütiline alaühik). Samuti leiti, et vähenes mitmete geenide ekspressioon mandelkehas, mis avaldavad antagonistlikku toimet mitmetele eespool toodud geenidele (niskariin ja Rab geranüülgeranüüli tranferaas). Seega õnnestus kirjeldada uusi ärevusega seotud signaaliülekanne radasid närvirakkudes [Kõks jt, 2004]. Nii kassilõhna kui ka pluss-puuri eksperimendis leiti limbilise süsteemiga seotud membraani valguga (LSAMP) üleekspressioon. Kassilõhna eksperimendis oli see tähtsate mandelkehas ja pluss-puuri uuringus periakveduktaalses hallaines. Pluss-puuri katsetes oli eriti silmapaistev GABA_B retseptori 1B alatuubi peaaegu kolm korda suurem ekspressioon ärevate katseloomade periakveduktaalses hallaines võrreldes mitte-ärevate rottidega. Wolframiin ja LSAMP on valitud järgnevate uuringute sihtmärkideks, et selgitada nende valkude rolli ärevuse mehhanismides ja üldse närvisüsteemi talitluses.

Neuropeptiid koletsüstokiniini uuringud on tööühma tähelepanu keskmes olnud juba rohkem kui kakskümmend aastat. Selles valdkonnas on Tartu Ülikoolis kaitstud rida meditsiinikandidaadi ja meditsiinidoktori väitekirju. Koletsüstokiniin näib funktsioneerivat virgatsainena, mis omab olulist tähendust uues keskkonnas kohanemisel. Psühhofarmakoloogilistes uuringutes õnnestus näidata, et CCK₂ anksiogeenne toime avaldub ainult uudes ja aversivses keskkonnas ning selle efekti vahendajaks on CCK₂ retseptorid ajus. CCK anksiogeenset toimet potentsseerib olulisel määral naloksoon, opioidi retseptorite antagonist. Seega ei interakteeru endopioidsed peptiidid ja CCK mitte ainult valutundlikkuse regulatsioonis, vaid nad on ka CCK anksiogeense toime antagonistideks. Lisaks sellele leiti farmakoloogilistes uuringutes, et serotoniini tagasihaarde inhibiitori paroksetiini väikeste annuste ärevust põhjustav toime on vahendatud CCK₂ retseptorite poolt. Teostatud uuringutes õnnestus samuti näidata, et rottide ärevuskäitumine sõltub aastaaegade vaheldumisest [Kõks jt, 2000]. Rotid on tunduvalt ärevamad suvel ja väiksema ärevusega talvel, sellega kaasneb CCK₂ ja 5-HT₂ retseptorite suurem tihedus ajukoos suvel võrreldes talvega. See leid võib olla seotud asjaoluga, et vabas looduses elavad laborirottide eelkäijad pidid ja peavad enam olema valmis oma eksistentsi eest võitlemiseks suvel kui talvel. Oluli-

seks edusammuks koletsüstokiniini seotud uuringute juures on transgeense tehnoloogia rakendamine. Nimelt on füsioloogia instituudis viimase kuue aasta vältel uuritud CCK₂ retseptori puudulikkusega hiirt kui võimalikku mudelit koletsüstokiniini rolli selgitamiseks emotsionaalse käitumise regulatsioonis.

Uue uurimistehnoloogia kasutuselevõtmisega on osutunud vajalikuks erinevate metodoloogiliste eksperimentide läbiviimine. Nii on koostöös Helsingi Ülikooliga (V. Võikar, H. Rauvala) uuritud kahe sagedamini transgeenses tehnoloogias rakendatava hiireliini C57Bl/6 ja 129Sv käitumuslike isärasusi. Uuringutest selgus, et need hiireliinid erinevad üksteisest märkimisväärselt käitumuslike isärasuste tõttu ja seda esmajoones ärevuskäitumise osas. 129Sv liini hiired on tunduvalt ärevamad C57Bl/6 hiirtega võrreldes. Seda asjaolu tuleb arvestada, kui üritatakse isoleerida geneetiliselt modifitseeritud loomade käitumist, sest mõlema vanemliini geneetiline taust võib tingida sedavõrd olulisi käitumuslike nihkeid, et neid võidakse trakteerida kui geneetilisest mutatsioonist tingitud. Samuti õnnestus nendes katsetes demonstreerida, et katseloomade korduval kasutamisel suurenevad samuti olulised nihked, iseäranis on see jällegi seotud ärevusega seotud käitumisavaldustega [Võikar jt, 2004]. CCK₂ retseptori puudulikkusega hiirte uurimisel leiti muutusi liikumisaktiivsuses, valutundlikkuses ja ärevuses. Isased CCK₂ retseptori puudulikkusega hiired reageerisid oluliselt tugevamini dopamiini agonisti amfetamiini manustamisest tingitud motoorika aktivatsioonile. Samuti on nende katseloomade juttkehas (*corpus striatum*) tunduvalt rohkem dopamiini retseptoreid võrreldes "metsikut" tüüpi liigikaaslastega, kellel CCK₂ retseptori defekti ei esinenud. Nende uuringute põhjal on võimalik väita, et CCK₂ retseptorite puudulikkusega hiirtel esineb märkimisväärne dopamiini retseptorite ülitundlikkus. Nimetatud isastel hiirtel on vähenenud valutundlikkus plantaar-analgeesia, "kuuma plaadi" ja Von Frey testides võrreldes "metsikut" tüüpi liigikaaslastega [Kurrikoff jt, 2004]. Huvitavaks leiuks on, et nendel katseloomadel ei teki hüperalgeesiat istmikunärvi harude ligeerimisel. Seega võib antud geneetilise defektiga hiire uurimisel olulist informatsiooni saada neuropaatilise valu molekulaarsete mehhanismide mõistmiseks. CCK₂ retseptori puudulikkusega hiirte juttkehas (*corpus striatum*) on suurenenud μ -opioidi retseptorite tihedus. Nende uuringute alusel võib väita, et CCK₂ retseptori geneetiliselt indutseeritud kahjustamine põhjustab endopioidse süsteemi aktiivsuse suurenemist ajus, millest ongi tingitud olulised muutused valutundlikkuses. Emastel CCK₂ retseptori

puudulikkusega hiirtel on vähenenud ärevus etoloogilistes mudelites. Seoses oluliselt vähenenud ärevusega on bensodiasepiini agonisti diasepaami anksio-lüütiline toime nõrgem nendel katseloomadel võrrel-des “metsikut” tüüpi liigikaaslastega. Teiselt poolt on diasepaami mootorikat pärssiv ja liikumiskoordinat-siooni häiriv toime oluliselt tugevamad CCK₂ retsep-tori puudulikkusega hiirtel. Lisaks käitumuslikele ni-hetele leiti nimetatud katseloomade väikeajus bensodiasepiini sidumiskohtade suurenemine võrreldes “metsikut” tüüpi liigikaaslastega. Läbiviidud katsed lubavad oletada põhilise pidurdusmediaatori γ -amino-võihappe funktsiooni tugevnemist CCK₂ retseptorite geneetilise väljalülitamise tagajärjel [Raud jt, 2003]. Teostatud uuringud viitavad sellele, et CCK₂ retsep-torite väljalülitamine põhjustab erinevaid muutusi isaste ja emaste hiirte käitumises [Abramov jt, 2004]. Isasloomadel on tugevad muutused liikumisaktiiv-suses, mehaanilises ja valutundlikkuses, emasloomad-el on esiplaanil nihked ärevuse vähenemise suunas. Sellepärast sobibki nimetatud geneetiliselt modifit-seeritud hiir valutundlikkuse ja ärevuse molekulaarse-te mehhanismide uurimiseks. Füsioloogia instituudis on koostöös *spin-off* firmaga Visgenyx loodud uus hiirte liin, kelle ajus toodetakse võrreldes liigikaaslas-tega tunduvalt enam neuropeptiidi koletsüstokiniini ja käitumiskatsetes on juba leitud, et nimetatud hiirte ärevus on märkimisväärselt suurenenud võrreldes “metsikut tüüpi” liigikaaslastega ja neil hiirtel on oluliselt tugevnenud morfiini valuvaigistav toime.

Lisaks loomkatsetele on teostatud geneetiliste polü-morfismide uurimist emotsionaalsete häirete all kannatavatel inimestel. Need uuringud toimusid koos-töös TÜ psühhiaatrikliiniku (professor Veiko Vasar) ja TÜ molekulaar- ja rakubioloogia instituudi bio-tehnoloogia õppetooliga (professor Andres Metspalu). Nendes katsetes leiti, et teatud wolframiini geeni polümorfismid on seotud riskiga meeleoluhäirete suhtes [Koido jt, 2004]. Samuti õnnestus näidata, et μ -opioidi retseptori A-G polümorfism 118 positsioonis on protektiivne depressiooni suhtes. β -endorfiini prekursori POMC C-T polümorfism 282 po-sitsioonis tingib aga suurenenud riski depressiooni puhul. Mõlemad tulemused leidsid kinnitust ka edasisel haplotüübi analüüsil. Lisaks sellele täheldati ühe CCK₁ retseptori geneetilise haplotüübi olulist seost meeleoluhäirega. Teostatud uuringud viitavad, et üks genoome regioon, milleks on 4p12-p16, eten-dab tähelepanuväärset rolli haigestumises meeleolu-häiretesse.

Olulisemad publikatsioonid

Abramov U., Raud S., Koks S., Innos J., Kurrikoff K., Matsui T., Vasar E. 2004. Targeted mutation of CCK(2) receptor gene antagonises behavioural changes induced by social isolation in female, but not in male mice. *Behav. Brain Res.*, 155, 1-11.

Koido K., Kõks S., Nikopensius T., Maron E., Altme S., Heinaste E., Vabrit K., Tammekivi V., Hallast P., Kurg A., Shlik J., Vasar V., Metspalu A., Vasar E. 2004. Polymorphisms in wolframin (WFS1) gene are possibly related to increased risk for mood disorders. *Int. J. Neuropsychopharmacol.*, 11, 1-10.

Kurrikoff K., Koks S., Matsui T., Bourin M., Arend A., Aunapuu M., Vasar E. 2004. Deletion of the CCK2 receptor gene reduces mechanical sensitivity and abolishes the development of hyperalgesia in mono-neuropathic mice. *Eur. J. Neurosci.*, 20, 1577-1586.

Kõks S., Luuk H., Nelovkov A., Areda T., Vasar E. 2004. A screen for genes induced in the amygdaloid area during cat odor exposure. *Genes Brain Behav.*, 3, 80-89.

Kõks S., Männistö P.T., Bourin M., Shlik J., Vasar V., Vasar E. 2000. Cholecystokinin-induced anxiety in rats: relevance of pre-experimental stress and seasonal variations. *J. Psychiatry Neurosci.*, 25, 33-42.

Raud S., Runkorg K., Veraksits A., Reimets A., Nelovkov A., Abramov U., Matsui T., Bourin M., Volke V., Koks S., Vasar E. 2003. Targeted mutation of CCK2 receptor gene modifies the behavioural effects of diazepam in female mice. *Psychopharmacology (Berl.)*, 168, 417-425.

Võikar V., Vasar E., Rauvala H. 2004. Behavioral alterations induced by repeated testing in C57BL/6J and 129S2/Sv mice: implications for phenotyping screens. *Genes Brain Behav.*, 3, 27-38.

MIKROBIOLOOGIA INSTITUUT

Mikrobioloogia instituudi kauaaegne juhataja on professor Marika Mikelsaar (1999–2004 avaldanud rahvusvahelise andmebaasi PubMed Medline'i andmetel 25 teadusartiklit, kaks rahvusvahelist patenditaotlust). Tema juhendamisel on kaitstud 4 doktori- ja 4 magistritööd. Rahvusvahelisel teadus-evalvatsioonil sai mikrobioloogia instituudi teadus-grupp 2003. a hindeks *excellent to good*.

Infektsioonhaiguste osas ilmnes Eestis 1990ndatel aastatel tuberkuloosi haigestumise tõus, kusjuures

levisid multiresistentsed (MDR) *Mycobacterium tuberculosis*'e tüved; samuti oli täheldatav *Helicobacter pylori* tekitatud mao- ja kaksteistsõrmiksoole haiguste kõrge esinemissagedus. Probleemiks oli ka ülevaatlike andmete puudumine oportunistlike patogeenide antibiootikumresistentsuse kohta, mis vähendas antibiootikumravi efektiivsust. Vastavate teaduspõhiste andmete kogumine sai teoks kõrgtasemelise mikrobioloogilise diagnostika, sealhulgas molekulaargeneetiliste meetodite juurutamisega TÜ mikrobioloogia instituudis ja laialdases koostöös Tartu Ülikooli kliinikute ja välismaiste teaduskeskustega. Nende tuberkuloosialaste uurimustega selgitati, et Eestis, sarnaselt USA, Saksamaa ja Ühendkuningriigiga, oli hakanud levima eriline tuberkuloositekitaja *Mycobacterium tuberculosis* Beijing MDR tüvi. See näitas, et MDR tuberkuloosi esinemissageduse tõus Eestis polnud põhjustatud ebaadekvaatselt tuberkuloosivastastest ravist. Selgitati, et isegi mitmekomponentse tuberkuloosivastase ravi käigus on võimalik patsiendi uus nakatumine MDR klooniga ning lükati ümber levinud ettekujutus, et mitteadekvaatsel või katkestatud antibiootikumraviga omandab ravimtüdlik tüvi resistentsusgene. Molekulaargeneetilised meetodid näitasid, et neil juhtudel on tegemist ravimresistentse tüve superinfektsiooniga. Tutvustati meditsiinilisele, et selliste ohtlike olukordade vältimiseks on vajalik haige raviprotsokolli modifitseerimine vastavalt molekulaardiagnostilistele andmetele ja üksikute patsientide isoleerimine isegi antibiootikumravi käigus.

Viidi läbi laialdased oportunistlike patogeenide antibiootikumresistentsuse profiili uuringud elanikkonnas ja haiglates, millega selgitati lokaalse empiirilise ravi jaoks sobivad antibiootikumid. Saadud andmed lülitati kohaliku ja rahvusvahelisse andmebaasi (EARSS). Haiglainfektsioonide vältimise ja kontrolli seisukohalt olid olulised uurimused, mis aitasid mõista antibiootikumresistentsete oportunistlike bakterite (atsineetobakterid, klebsiellad, stafülokokid) kлонаalset levikut intensiivravi osakondades. Esimesena kirjeldati bakterite kliiniliste isolaatide antibiootikumtundlikkuse ja biotsiidiresistentsuse vahelist seost, mistõttu mikroobide resistentsuse tekke vältimiseks raviasutustes on vajalik nii antibiootikumide kui desinfektantide vahelduv kasutamine.

Lektiintüüpiseerimisega leiti, et maailmas on *Helicobacter pylori* tüvede osas täheldatav geograafiline omapära. Neid teadmisi edasi arendades selgus, et tüvede virulentsusmarkerite (*vacA* geeni alatüübid) jaotumus on ka ühe ja sama piirkonna etnilistel (eestlastel, venelastel) gruppidel erinev. Teoreetilise

plaanis kinnitasid need uurimused geneetiliste faktorite osatähtsust mikroobi ja peremeesorganismi suhetes ja praktilises osas viitavad need vajadusele kasutada *H. pylori* poolt põhjustatud haiguste raviks erinevate populatsioonide puhul eripäraseid diagnostika, ravi ja profülaktika (vaktsiinid) skeeme. Erinevate *H. pylori* diagnoosimismeetodite võrdlemise tulemusel soovitati mitteinvasiivset fekaalproovi *H. pylori* infektsiooni diagnoosimiseks.

Koostöös Linköpingi Ülikooliga leiti põhimõtteline erinevus Eesti ja Rootsi laste seedetrakti mikrofloora arengus nende esimesel eluaastal, kusjuures Eesti laste mikrofloora osutus mitmekesisemaks ja sagedamini esines laktobatsille. Kuna 1995. a oli Eestis allergia esinemissagedus peaaegu 10 korda madalam kui Rootsis, ärgitasid saadud tulemused võrdlevalt uurima seedetrakti mikrofloorat Eesti ja Rootsi tervetel ning allergilistel lastel. Selgus, et lapsed, kellel ei kujunenud välja allergiat, olid esimesel eluaastal enam koloniseeritud piimhappebakteritega. See kinnitas suurema mikroobipressi olulisust varases lapseas ja seostus vajadusega säilitada Eesti elanikkonna hügieeni- ja toitumisharjumusi. Uurimuse lisaväärtuseks loodi inimpäritolu laktobatsillide tüvede kollektsioon (enam kui 500 tüve). Alustati Eesti probiootiliste preparaatide väljatöötamist (piimatooted ja farmatseutilised preparaadid), kasutades probiootilist *Lactobacillus fermentum* tüve ME-3. Koostöös TÜ Biokeemia instituudiga leitud uudne kõrge antimikroobsete ja antioksidatiivsete omadustega tüvi deponeeriti rahvusvahelises kultuurikollektsioonis. Eestis ja välismaal patenteerimisel olev tüvi on saanud provisoorse heakskiidu Euroopa Patendiametilt. Eesti Tehnoloogiaagentuur toetas *Lactobacillus* tüvel ME-3 põhineva uue probiootikumi väljatöötamist, mille tulemusena ME-3 on litsentseeritud AS Tallinna Piimatööstusele. Tänu laktobatsillide alasele kompetentsile osaletakse nii Euroopa Liidu 5. (PROEUHEALTH klastri) kui ka 6. Raamprogrammi (NEST, BIODEFENCE) projektides.

Kroonilise prostatiidi etiopatogeneesi uurimisel koostöös TÜ Kliinikumiga selgus anaeroobsete bakterite suur osatähtsus haigete spermast, mistõttu prostatiidi raviskeemis peaksid olema olulisel kohal anaeroobidesse toimivad antibiootikumid. Samuti selgus, et leukotsütoospermilistel prostatiidi-patsientidel oli spermast oluliselt suurem mikroobide üldhulk ja rohkem erinevaid mikroobe kui ilma leukotsütoospermia meestel. Selgus ka vajadus oluliselt alandada praegu kehtivat (1 miljon leukotsüti /ml WHO soovitusel) leukotsütoospermia diagnoosimise piiri. Tööst tulenevaid soovitusi diagnostika- ja raviske-

mide korrigeerimiseks rakendatakse TÜ Kliinikumi androloogia kabineti igapäevatöös. Sellest tööst publitseeritud kaks artiklit pälvisid USA Prostatidi Fondi preemia väljapaistvate teadussaavutuste eest.

Olulisemad publikatsioonid

Annuk H., Shchepetova J., Kullisaar T., Songisepp E., Zilmer M., Mikelsaar M. 2003. Characterization of intestinal lactobacilli as putative probiotic candidates. *J. Appl. Microbiol.*, 94, 403-412.

Björkstén B., Sepp E., Julge K., Voor T., Mikelsaar M. 2001. Allergy development and the intestinal microflora during the first year of life. *Allerg. Clin. Immunol.*, 1, 108, 4.

Kermes K., Punab M., Lõivukene K., Mändar R. 2003. Anaerobic seminal fluid microflora in chronic prostatitis/chronic pelvic pain syndrome patients. *Anaerobe*, 9, 117-123.

Krüüner A., Pehme L., Ghebremichael S., Koivula T., Hoffner S. E., Mikelsaar M. 2002. Use of molecular techniques to distinguish between treatment failure and exogenous reinfection with *Mycobacterium tuberculosis*. *Clin. Infect. Dis.*, 35, 146-155.

Kullisaar T., Songisepp E., Mikelsaar M., Zilmer K., Vihalemm T., Zilmer M. 2003. Antioxidative probiotic fermented goats' milk decreases oxidative stress-mediated atherogenicity in human subjects. *Brit. J. Nutrition*, 90, 2, 449-456.

Punab M., Lõivukene K., Kermes K., Mändar R. 2003. The limit of leukocytospermia from the microbiological viewpoint. *Andrologia*, 35, 271-278.

Sillakivi T., Aro H., Ustav M., Peetsalu M., Peetsalu A., Mikelsaar M. 2001. Diversity of *Helicobacter pylori* genotypes among Estonian and Russian patients with perforated peptic ulcer, living in South Estonia. *FEMS Microbiol. Lett.*, 195, 29-33.

ÜLD- JA MOLEKULAARPATOLOGIA INSTITUUT (ÜMPI)

INIMESE GENEETIKA JA BIOLOOGIA ÕPPETOOL
Inimese geneetika ja bioloogia õppetooli juhiks on pikka aega tulemuslikult ÜMPI tegevust juhtinud professor Aavo-Valdur Mikelsaar. Inimese geneetika ja bioloogia õppetooli juurde on kujunenud tugev uurimisgrupp, mille töö tulemuslikust hinnati rahvusvaheliste ekspertide poolt 2003. a hindega *good*. Huvi keskmes on olnud geneetiliste polümorfismide,

geenimutatsioonide ja kromosoomiberratsioonide uurimine etnilises kontekstis ning seoses haigustundlikkuse ja haiguste tekkepõhjuste väljaselgitamisega. Rahvusvahelise koostöö raames uuriti geneetilisi polümorfisme ja rahvaste rännet ning sugulust Baltimaades ja teistes Euroopa riikides. Õnnestus näidata, et demograafiline ajalugu on Euroopas keeruline ja mõjustatud paljudest geneetilisest ja geograafilisest teguritest, milleks on niihästi geneetiline triiv kui ka keeleline ja geograafiline heterogeensus [Rosser jt, 2000; Zoe jt, 2001; Zerjal jt, 2001]. Etnilistelt eestlastelt võetud DNA proovide uurimisel leiti olulisi erinevusi Eesti erinevate regioonide vahel päriliku hemokromatoosi mutatsioonide C282Y ja H63D sageduses, mis selgesti viitab eestlaste geneetilise heterogeensusele. AIDSi tekitava viiruse HIV-1 nakkuse vastu kaitsva CCR5 retseptorgeeni mutatsiooni delta32 delta sageduse uurimine etnilistel eestlastel näitas selle mutatsiooni väga kõrget sagedust (keskmiselt 15%, suurim sagedus Hiiumaal – 18%), mis kinnitab eksisteerivat hüpoteesi selle mutatsiooni Soome-Ugri päritolu kohta. Geenimutatsioonide ja haiguste vahelise otsese seose uurimisel päriliku silmahaiguse – sarvkesta geelja tilkdüstroofia perekondliku vormi – puhul õnnestus avastada uus mutatsioon ins520C ja uus polümorfne geenivariant 518A/C. Samuti õnnestus näidata, et CC-kemokiini retseptorigeeni CCR5 mutatsiooni del32 on modifitseerivaks teguriks tüüp I diabeedi puhul. Et avastatud seost seletada, püstitati hüpotees, mis väidab, et CCR5 retseptoril on lisafunktsioon, mis, muutes rakupinna omadusi, aitab kohaneda hüperglükeemiliste tingimustega.

Kontrollimaks hüpoteesi, mille kohaselt ühes perekonnas võib esineda türeoidperoksüdaasi geeni koopiaarvu tõus, viidi läbi mikrosatelliitse markeri TPOX genotüpeerimine ja vastava geenipiirkonna koopiaarvu määramine geenidoosi meetodil. Viimane baseerub reaallaja PCR tehnoloogial. Leiti, et tõepoolest on tegemist türeoidperoksüdaasi geeni triplikatsiooniga. See on esmakordne türeoidperoksüdaasi geeni koopiaarvu tõusu kirjeldus. Glutatioon-S-transferaaside uurimisel juurutati PCR meetodikad GSTZ1 genotüpeerimiseks. Määrati alleelisagedused katarakti ja glaukoomihaigetel võrreldes kontrollindiviididega. Puhastati GSTP1-1 erinevad isosüümid ja valmistati nende vastased antikehad. Koostöös Rootsi kolleegidega leiti, et indiviididel, kellel esineb lahknevus genotüübi ja fenotüübi vahel GSTT1 puhul, on selle põhjuseks aminohappelisele asendusele viiv geenimutatsioon.

Olulisemad publikatsioonid

Alexandrie A. K., Rannug A., Juronen E., Tasa G., Warholm M. 2002. Detection and characterization of a novel functional polymorphism in the GSTT1 gene. *Pharmacogenetics*, 12, 613-619.

Juronen E., Tasa G., Veromann S., Parts L., Tiidla A., Pulges R., Panov A., Soovere L., Koka K., Mikelsaar A. V. 2000. Polymorphic glutathione S-transferases as genetic risk factors for senile cortical cataract in Estonians. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, 41, 2262-2267.

Rosser Z. H., Zerjal T., Hurles M. E., Adojaan M., Alavantic D., Amorim A., Amos W., Armenteros M., Arroyo E., Barbujani G., Beckman G., Beckman L., Bertranpetit J., Bosch E., Bradley D. G., Brede G., Cooper G., Corte-Real H. B., Knijff P. de, Décor-te R., Dubrova Y. E., Evgrafov O., Gilissen A., Glisic S., Golge M., Hill E. W., Jeziorowska A., Kalaydjieva L., Kayser M., Kivisild T., Kravchenko S. A., Krumina A., Kucinkas V., Lavinha J., Livshits L. A., Malaspina P., Maria S., McElreavey K., Meitinger T. A., Mikelsaar A. V., Mitchell R. J., Nafa K., Nicholson J., Norby S., Pandya A., Parik J., Patsalis P. C., Pereira L., Peterlin B., Pielberg G., Prata M. J., Previdere C., Roewer L., Roots S., Rubinsztein D. C., Saillard J., Santos F. R., Stefanescu G., Sykes B. C., Tolun A., Villems R., Tyler-Smith C., Jobling M. A. 2000. Y-chromosomal diversity in Europe is clinal and influenced primarily by geography, rather than by language. *Am. J. Hum. Genet.*, 67, 1526-1543.

Zerjal T., Beckman L., Beckman G., Mikelsaar A. V., Krumina A., Kucinkas V., Hurles M. E., Tyler-Smith C. 2001. Geographical, linguistic, and cultural influences on genetic diversity: Y-chromosomal distribution in Northern European populations. *Mol. Biol. Evol.*, 18, 1077-1087.

Tasa G., Kals J., Muru K., Juronen E., Piirsoo A., Veromann S., Janes S., Mikelsaar A. V., Lang A. 2001. A novel mutation in the MIS1 gene responsible for gelatinous droplike corneal dystrophy. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, 42, 2762-2764.

Wondimu Z., Geberhiwot T., Ingerpuu S., Juronen E., Xie X., Lindbom L., Doi M., Kortusmaa J., Thyboll J., Tryggvason K., Fadeel B., Patarroyo M. 2004. An endothelial laminin isoform, laminin 8 (alpha-4beta1gamma1), is secreted by blood neutrophils, promotes neutrophil migration and extravasation, and protects neutrophils from apoptosis. *Blood*, 104, 1859-1866.

Yan F.-X., Ihnen M. A., Langub M. C., Hornung C., Juronen E., Rayens M.-K., Wedlund P. J., Fanti P. 2003. CYP2D6, GSTM1 and GSTT1 enzymes: expression in parathyroid gland and association with parathyroid hormone level during early renal replacement therapy. *Br. J. Clin. Pharmacology*, 56, 68-77.

PATOFÜSIOLOGIA ÕPPETOOL

Viimase viie aasta jooksul jätkusid uuringud selgitamiseks välja energeetilise metabolismi organisatsiooni ja regulatsiooni mehhanisme lihasrakkudes normi ning patoloogia tingimustes. Toimus tihe koostöö KBFI Bioenergeetika laboriga (professor Valdur Saks) ühise sihtfinantseerimise raames. Rahvusvahelised eksperdid hindasid 2003. a patofüsioloogia õppetooli uurimisgrupi tegevust hindega *good*.

Patofüsioloogia uurimisgrupi peamiseks uurimisprobleemiks on küsimus sellest, kuidas elavas oksüdatiivses lihasrakus (näiteks müokard ja *m. soleus*) kindlustatakse mitokondriaalse ATP sünteesi paralleelne aktivatsioon vastuseks töökoormuse tõusule, vaatamata sellele, et antud rakus ei muutu oksüdatiivse fosforüülimise primaarse Pi aktseptori - ADP keskmine kontsentratsioon tsütoplasmas. Selline oksüdatiivsete lihaste omadus e metaboolne stabiilsus on unikaalne, kuna see puudub glükolüütilistes lihastes, kus töökoormuse tõustes täheldatakse alati tsütoplasmaatilise ADP kasvu. Uurides erinevate lihasrakkude funktsiooni õnnestus demonstreerida, et saponiiniga permeabiliseeritud oksüdatiivsetes lihasrakkudes on mitokondrite näiline afiinsus eksogeense ADP suhtes hingamise regulatsioonis palju väiksem kui isoleeritud mitokondrites ja glükolüütilistes rakkudes ning et mitokondrite afiinsus ADP suhtes suureneb oluliselt kreatiini juuresolekul või rakkude töötlemisel trüpsiiniga. Samuti selgus, et rakusisene endogeenselt ATPaaside poolt toodetud ADP stimuleerib mitokondrite hingamist märksa efektiivsemalt kui rakuväliselt lisatud ADP [Seppet jt, 2001; Saks jt, 2001]. Koostöös Prantsusmaa teadlastega demonstreeriti esimestena, et mitokondrite hingamise regulatsioon muutub postnataalse arengu käigus nii, et väheneb tsütoplasmaatilise ADP osa, kuid suureneb mitokondriaalses kreatiinkinaases reaktsioonis produtseeritava lokaalse ADP roll oksüdatiivse fosforüülimise regulatsioonis. Nende andmete baasil formuleeriti originaalne hüpotees, et oksüdatiivsetes lihasrakkudes eksisteerivad mitokondrite ja ATPaaside komplekside rakusisesed energeetilised üksused (RSEÜd), mis määratlevad lihastüübispetsiifilise hingamise regulatsiooni mehhanismi.

RSEÜd kompartmentaliseerivad osa raku adeniinnukleotiididest nii, et nad saavad efektiivselt osaleda kreatiin- ja adenülaatkiinaasidega vahendatud energiaülekande võrgustikes. Esmakordselt näidati ka seda, et nimetatud võrgustike kõrval on võimalik energia ülekande ATPaaside ja mitokondrite vahel otsese adeniinnukleotiidide kanalisatsiooni teel [Saks jt, 2001; Seppet jt, 2001; Braun jt, 2001].

Kuna RSEÜd on omased oksüdatiivsetele lihasrakkudele, võib eeldada, et lihastüübispetsiifilised valgud osalevad nende üksuste formeerimisel ja adeniinnukleotiidide difusiooni kontrollis läbi üksuste piiride. Et identifitseerida neid valke, töötati välja uus meetod (*kindred DNA amplification*, KDA), mis võimaldab isoleerida erinevatele oksüdatiivsetele lihastele omaseid ühiseid geene [Puurand jt, 2003]. Nende geenide senine analüüs, kombineerituna selektiivse proteolüüsi, konfokaalmikroskoopia ja 2D-elektroforeesiga, viitab sellele, et RSEÜde formeerumises on tähtis roll tsütoskeleti valkudel.

RSEÜde kontseptsioonist tuleneb oluline hüpotees, et adeniinnukleotiidide difusioonitakistus ei ole raku ühtlaselt jaotunud, vaid lokaliseerub teatud valgulistest barjääride piirkonda. Kontrollimaks seda hüpoteesi, uuriti koostöös TTÜ Küberneetika instituudiga difusioonitakistuste iseloomu, võrreldes eksperimendi- ja matemaatilise modelleerimise tulemusi, kujuures matemaatiline mudel võimaldas kirjeldada kahte erinevat võimalust – ühtlaselt jaotunud difusioonitakistust ja lokaliseeritud difusioonitakistust. Tulemused näitasid, et vaid lokaliseeritud difusioonitakistust arvestav mudel kirjeldas adekvaatselt kõiki eksperimenditulemusi. Järelikult moodustavad RSEÜd tõepoolest barjääre, mis isoleerivad osa adeniinnukleotiidide ülejäänud tsütoplasma adeniinnukleotiididest [Vendelin jt, 2004].

Kuna RSEÜde kontseptsioon eeldab, et energeetilise metabolismi rakusisene organisatsioon määrab hingamise regulatsiooni mehhanismi, on võimalik, et patoloogiliste protsessidega kaasnevad struktuuri muutused mõjutavad ka mitokondrite interaktsiooni ATPaasidega. Seoses sellega uuriti koostöös Halle Ülikooli teadlastega mitokondrite hingamise regulatsiooni katseloomadel isheemia ja reperfusiooni mudelis. Selgus, et isheemia-reperfusioonikahjustus on seotud mitokondrite membraanide kahjustusega [Gellerich jt, 2000]. Düstrofiindefitsiitsete MDX hiirte müokardi ja skeletilihaste uurimisel selgus, et düstrofiinipuudus häiris mitokondriaalse kreatiinkinaasi ja adeniinnukleotiidtranslokaasi (ANT) inter-

aktsiooni, suurendas mitokondrite tundlikkust eksogeense ADP suhtes ja võimendas otsest ADP ülekannet ATPaasidelt mitokondritesse oksüdatiivsetes lihasrakkudes [Braun jt, 2001]. Need katsed tõestavad otseselt tsütoskeleti valkude olulist rolli mitokondrite funktsiooni regulatsioonis. Kuna düstrofiin on seotud mitte ainult sarkolemmiga, vaid ka kont-raktilise aparaadiga, on tõenäoline, et düstrofiini puuduse korral raku tsütoskelett destrueerub nii, et häiruvad mitokondrite ja ATPaaside vahelised funktsionaalsed seosed. Samuti võimaldavad saadud tulemused mõista inimesel esineva müopaatia (Duchenne'i tõve) patofüsioloogiat, sest MDX hiired on selle haiguse mudeliks: Duchenne'i tõbe põdevate haigete skeetilihastes täheldatav ADP akumulatsioon ja PCr defitsiit on seletatav kreatiinkinaasse energiatranspordi süsteemi häirega.

Skinneeritud kiudude tehnika ja RSEÜde kontseptsiooni rakendamine on andnud esimesi tulemusi inimese müokardi uurimisel. Koostöös Halle Ülikooli grupiga demonstreeriti esmakordselt, et erinevalt roti südame kodadest on mitokondriaalne kreatiinkinaas funktsionaalselt seotud mitokondriaalse ANT-ga inimese kodade rakkudes, et mitokondriaalne adenülaatkiinaas on funktsionaalselt seotud ANT-ga ja et kodade fibrillatsioon, mis on sage rütmihäire (eriti südamepuudulikkusega haigetel), on seotud suurenenud prootonlekkuga ning mitokondrite hingamise substraadispetsiifilisuse muutustega [Seppet jt, 2003].

Kokkuvõtteks võib märkida, et koostöös professor V. Saksaga on intensiivselt arendatud uut suunda bioenergeetikas – kvantitatiivset ja struktuurilist raku bioenergeetikat, mis uurib bioenergeetiliste protsesside toimimist komplekselt ja tervikuna elavas raku, rakendades energeetiliste protsesside kompartmentatsiooni paradigmat koos mitteinvasiivsete raku funktsiooni uuringutega ning konfokaalmikroskoopia, matemaatilise modelleerimise, ensümoloo-gia, rekombinantsete tsütosensorite ja genoomimodifikatsiooni tehnoloogiatega [Saks jt, 2004; Seppet jt, 2004]. Nimetatud suund, mis vaidlustab traditsioonilise kujutelma, et energiat produtseerivad ja kasutavad reaktsioonid on vahendatud metaboliitide ja ensüümide difusiooniga raku sisekeskkonnas kui lahuses, leiab üha laialdasemat tunnustust rahvusvahelises teadusringkonnas. Sellele viitavad ka asjaolud, et professor E. Seppetile omistati 2001. a Rahvusvahelise Südameuuringute Ühingu "Medal of Merit" ning 2003. a valiti ta Rahvusvahelise Kardiovaskulaarteaduste Akadeemia ja ajakirja *Experimental and Clinical Cardiology* toimetuskolleegiumi

liikmeks. Kluwer Academic Publishers on hakanud välja andma spetsiaalseid rakubioenergeetikale pühendatud väljaandeid, kus Eestis tehtav töö on silmapaistvalt esindatud. Patofüsioloogia õppetooli uurimisgrupp on rahvusvahelise Mitokondrite füsioloogia võrgu (MiP-Net) referentslabor (<http://www.orobos.at/index.php?mipnet>).

Olulisemad publikatsioonid

Braun U., Paju K., Eimre M., Seppet E., Orlova E., Kadaja L., Trumbeckaite S., Gellerich F. N., Zierz S., Jockusch H., Seppet E. K. 2001. Lack of dystrophin is associated with altered integration of the mitochondria and ATPases in slow-twitch muscle cells of MDX mice. *Biochim. Biophys. Acta.*, 1505, 258-270.

Gellerich F. N., Trumbeckaite S., Opalka J. R., Seppet E., Rasmussen H. N., Neuhoﬀ C., Zierz S. 2000. Function of the mitochondrial outer membrane as a diffusion barrier in health and disease. *Biochem. Soc. Trans.*, 28, 164-169.

Saks V. A., Kaambre T., Sikk P., Eimre M., Orlova E., Paju K., Piirsoo A., Appaix, F., Kay L., Regitz-Zagrosek V., Fleck E., Seppet E. 2001. Intracellular energetic units in red muscle cells. *Biochem. J.*, 356, 643-657.

Saks V. A., Kuznetsov A. V., Vendelin M., Guerrero K., Kay L., Seppet E. K. 2004. Functional coupling as a basic mechanism of feedback regulation of cardiac energy metabolism. *Mol. Cell. Biochem.*, 265, 185-199.

Seppet E. K., Eimre M., Andrienko T., Kaambre T., Sikk P., Kuznetsov A., Saks V. 2004. Studies of mitochondrial respiration in muscle cells in situ: Use and misuse of experimental evidence in mathematical modelling. *Mol. Cell. Biochem.*, 256/257, 219-227.

Seppet E. K., Kaambre T., Sikk P., Tiivel T., Vija H., Tonkonogi M., Sahlin K., Kay L., Appaix F., Braun U., Eimre M., Saks V. 2001. Functional complexes of mitochondria with Ca, MgATPases of myofibrils and sarcoplasmic reticulum in muscle cells. *Biochim. Biophys. Acta.*, 1504, 379-95.

Vendelin M., Eimre M., Seppet E., Peet N., Andrienko T., Lemba M., Engelbrecht J., Seppet E. K., Saks V. A. 2004. Intracellular diffusion of adenosine phosphates is locally restricted in cardiac muscle. *Mol. Cell. Biochem.*, 256/257, 229-241.

IMMUNOLOGIA ÕPPETOOL

TÜ ÜMPI immunoloogia teadusgrupi juht on professor Raivo Uibo (rahvusvahelise andmebaasi PubMed Medline andmetel avaldanud ajavahemikus 1999–2004 29 artiklit). 2003. a toimunud rahvusvahelisel teadusevalvatsioonil sai immunoloogia teadusgrupp hindeks *good*. Uurimisgrupi keskseks teemaks on loomisest peale olnud autoimmuunsuse ja autoimmuunhaiguste tekkemehhanismid. Kuigi nende probleemide käsitlus on pakkunud laialdast huvi nii immunoloogidele kui ka paljudele teiste erialade esindajatele üle kogu maailma, on autoimmuunsuuringud osutunud väga vajalikuks ka Eesti kontekstis, sest siin on olemas nii geneetilised kui ka väliskeskkonna poolsed eelsoodumused autoimmuunhaiguste tekkeks. Teadusgrupi poolt demonstreeritud mitut liiki autoantikehade ja autoimmuunsuse teket soodustavate HLA alleelide kõrge levimus meie elanike hulgas on selle kujukaks tõestuseks [Uibo jt, 2001].

Kui Eestiga geograafiliselt paiknevuselt ja geneetiliselt sarnastes elanikkonnagruppides on autoimmuunhaiguste esinemissageduseks 5–7%, siis võib selle põhjal arvata, et ka Eestis on vähemalt 70 tuhat sellist haiget. Nende haiguste kindlakstegemisel on olulise tähendusega iseloomulike autoantikehade määramine haigete verest. Nii on vereseerumi analüüsi põhjal tuvastatavad enam kui sada autoantikehade tüüpi, millest üle 30 on immunoloogia teadusgrupi poolt ka laialdasemalt kasutatud autoimmuunhaiguste uuringutes. Grupi tihe teaduslik ja arenduslik koostöö TÜ Kliinikumi kliinikutega, eriti ühendlabori autoimmuunsuse laboriga, on võimaldanud Eestis igapäevasesse kliinilisse diagnostikasse juurutada kõik tarvilikud autoantikehade testid. Nende autoantikehade diagnostilisest väärtusest räägib iseäranis kujukalt asjaolu, et Eesti arstide poolt TÜ Kliinikumi autoimmuunsuse laborist tellitavate uuringute maht on 2003–2004. aastal võrreldes 2001–2002. aastaga tõusnud ligikaudu 40% võrra. Lähiajal kasvab uute, teadusgrupi baasuuringute alusel väljatöötatud diagnostiliste testide hulk oluliselt, sest praegu on mitmed seedetrakti ja endokriinhaiguste jaoks mõeldud autoantikehade testid juurutamisfaasis.

Immunoloogia teadusgrupi baasuuringutes on viimastel aastatel silmapaistvat edu saavutatud autoimmuunse kahjustuse märklaudmolekulide ja nendega seotud immuunmehhanismide ning pärilikkusfaktorite uuringutes. Kasutades geenitehnoloogiat ning

proteoomika meetodeid on grupil õnnestunud kindlaks teha mitmesuguseid selliseid autoantigeenseid valke, millel võib olla senini tuntud antigeenide kõrval oluline roll koekahjustuse tekkes. Nii on teadusgrupi töötajad avastanud uusi immunoloogilise viljatuse tekkes väga tõenäoliselt osalevaid märklaudmolekule [Reimand jt, 2001]. Mudelhaigusena on siin sageli kasutatud I tüüpi autoimmuunset polüendokrinopaatia sündroomi, kus immuunsüsteemi regulatsioonihäiretest (*AIRE* geeni defekt jm) tingitud autoimmuunreaktsioonid tekivad mitmete kudede vastu. Selle haiguse puhul esinevate autoimmuunreaktsioonide uuringud on olnud aastaid uurimisgrupi keskse tähelepanu all, kus tihe koostöö Tampere, Turu ja Helsingi immunoloogide ja kliinitsistidega (sh Euroopa Liidu grandid IC15-CT96-0916 raames) on olnud uuringute edukuse tagatiseks [Liiv jt, 2002]. Alates 2005. a laieneb koostöö veelgi, haarates Euroopa Liidu 6. raamprogrammi projektis EURAPS kõiki põhilisi selle probleemiga tegelevaid uurimisgruppe Euroopas.

Viimasel ajal on lisaks autoimmuunse polüendokrinopaatia puhustele uutele autoantigeenidele leitud ka mitmeid teisi antigeenseid struktuure, mille vastased immuunreaktsioonid assotsieeruvad endokriin- või närvisüsteemi kahjustusega, omades siin veel varieeruvat (sh immunoregulaatorset) tähendust – näiteks alfa-interneksiin [Rajasalu jt, 2004]. Autoimmuunsuse teket määravate immunoregulaatorsete mehhanismide uuringud, seejuures vastavate geenide analüüs on grupis iseäranis keskse tähelepanu all ja siin on alates 2003ndast aastast saadud uusi olulisi andmeid autoimmuunhaiguste tekkemehhanismide mõistmisel. On ilmnenu, et immuunsüsteemi aktivatsioonil kesksel kohal oleva CTLA-4 geeni polümorfism on seotud mitme autoimmuunhaiguse (I tüüpi diabeet, Addisoni tõbi) tekke eelsoodumusega [Haller jt, 2004]. Rahvusvahelise koostöö tulemusena on leitud, et CTLA-4 polümorfismide tähendus on erinevates populatsioonides varieeruv, mis viitab nii teiste immuunsüsteemi funktsiooni määravate geenide kui välisfaktorite rollile. Nii leitigi Euroopa Liidu 5. raamprogrammi raames läbi viidud töö tulemusena, et I tüüpi diabeedi tekkes on tõenäoliselt väga oluline tähendus enteroviirustega seotud immuunmehhanismidel [Viskari jt, 2004]. Selle, üheksat Euroopa keskust hõlmanud 1998–2001. a professor R. Uibo teaduslikul koordineerimisel läbi viidud projekti IC15-CT98-0316 tulemused on pälvitud laialdast tähelepanu diabeedi immunoloogiaga tegelevate uurijate hulgas. Sama võib öelda ka mao limaskesta ning maksa autoimmuunsuse tekkemeh-

hanisme puudutavate uuringute kohta, kus on saavutatud märkimisväärne rahvusvaheline positsioon *Helicobacter pylori* erinevate tüvede autoimmuunsuse teket indutseeriva tähenduse kindlakstegemisel [Vorobjova jt, 2001; Ananieva jt, 2002]. Ka mao- ja maksahaiguste immuunmehhanismide uuringutes on tehtud intensiivset koostööd mitmete välisteadlastega nii Euroopast kui ka mujalt (T. Wadström Lundi Ülikoolist, P. Sipponen Helsingi Ülikoolist, M. E. Gershwin Kalifornia Ülikoolist). Neil puhkudel on kasutatud unikaalseid uurimismaterjale – Eesti elanikkonna juhuvalikul põhinevaid (Kuresaare) ja teatud piirkondades valikuta (Karksi-Nuia, Abja-Paluoja) koostatud uurimisgruppe. Sellise uurimismaterjali kasutamine ning kuni 18 aastat kestnud dünaamilised uuringud on võimaldanud tõestada autoimmuunreaktsioonide prognostilist tähendust mitmete haiguste (krooniline gastriit, primaarne biliaarne tsirroos jt) tekkes. Nende uuringute tulemusi on sageli tsiteeritud.

Olulisemad publikatsioonid

Ananieva O., Nilsson I., Vorobjova T., Uibo R., Wadström T. 2002. Immune responses to bile-tolerant *Helicobacter* species in patients with chronic liver diseases, a randomised population group, and healthy blood donors. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.*, 9, 1160-1164.

Haller K., Kisand K., Laine A., Ilonen J., Uibo R. 2004. Type I diabetes is insulin MspI -2221 and CTLA-4 +49 A/G polymorphisms dependent. *Eur. J. Clin. Invest.*, 34, 543-548.

Liiv I., Teesalu K., Peterson P., Clemente M. G., Perheentupa J., Uibo R. 2002. Epitope mapping of cytochrome P450 cholesterol side-chain cleavage enzyme (P450_{scc}) by sera from patients with autoimmune polyglandular syndrome type 1. *Eur. J. Endocrinol.*, 146, 113-119.

Rajasalu T., Teesalu K., Janmey P. A., Uibo R. 2004. Demonstration of natural autoantibodies against the neurofilament protein α -internexin in sera of patients with endocrine autoimmunity and healthy individuals. *Immunol. Lett.*, 94, 153-160.

Reimand K., Talja I., Metsküla K., Kadastik Ü., Matt K., Uibo R. 2001. Autoantibody studies of female patients with reproductive failure. *J. Reprod. Immunol.*, 51, 167-176.

Uibo R., Sullivan E. P., Uibo O., Lernmark A., Salur L., Kivik T., Mandel M. 2001. Comparison of the prevalence of glutamic acid decarboxylase (GAD65)

and gliadin antibodies (AGA) in a randomly selected adult Estonian population. *Horm. Metab. Res.*, 33, 564-567.

Vorobjova T., Ananieva O., Maaros H.-I., Sippinen P., Villako K., Utt M., Nilsson I., Wadström T., Uibo R. 2001. Seropositivity to H. pylori heat shock protein 60 is strongly associated with intensity of chronic inflammation, particularly in antrum mucosa: an extension of 18-year follow-up study of chronic gastritis in Saaremaa, Estonia. *FEMS Immunol. Med. Microbiol.*, 30, 143-149.

TEISED TÜ ARSTITEADUSKONNA PREKLIINILISED ALLÜKSUSED

Arstiteaduste õpetamine tähendab väga erinevate biomeditsiini ja kliinilise meditsiini erialade tihedat

koostööd. Tulenevalt Eesti väiksusest ja ajaloolisest pärandist on väga raske tagada kõikide biomeditsiini erialade ühesugust arengut.

Olulistes morfoloogia-alaseid teadmisi andvates teaduskonna allüksustes (anatomia instituut, patoloogilise anatomia ja kohtuarstiteaduse instituut) on pikka aega esimeseks prioriteediks olnud õppetöö, mistõttu nende instituutide panus teadustöös on senini olnud suhteliselt kasin. Pärast uute instituudi juhatajate kohale valimist (professorid Andres Arend ja Marika Väli) on märgata muutusi paranemise suunas. Sellele osundavad eelkõige kaitstud väitekirjad. 2004. a kaitses anatomia instituudis doktoritööd Marina Aunapuu, patoloogilise anatomia ja kohtuarstiteaduse valdkonnas kaitsi kaks heatasemelist meditsiinidoktori dissertatsiooni – Andres Kulla ja Vitali Vassiljev.