

# Suomalaisten metsämarjojen merkitys terveydelle ja hyvinvoinnille: anti-infektiiviset vaikutukset



Carina Tikkanen-Kaukanen, FT, Dosentti  
Tutkimusjohtaja  
Helsingin yliopisto  
Ruralia-instituutti  
Mikkeli

# Luennon sisältö

- Johdanto
- Bakteerien tarttuminen (adheesio) ja antiadheesioterapia
- Marjat antiadheesioterapiassa ja antimikrobisina aineina - oma tutkimus, esimerkkinä *Streptococcus pneumoniae* -bakteeri



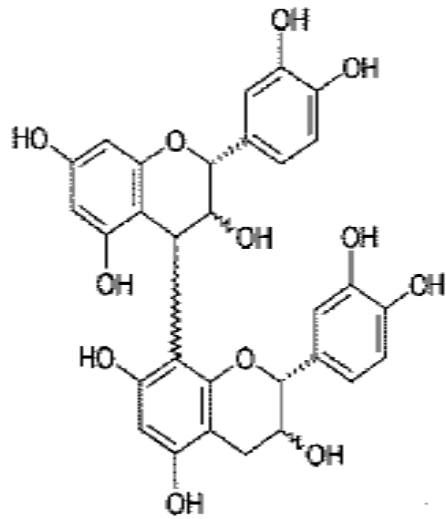
# Marjojen fenolihdisteet

- Flavonoidit, fenolihapot, lignaanit ja stilbeenit ja tanniinit
  - Kaikkia fenolihdisteitä eniten marja-aroniassa, mustikassa ja ruusunmarjassa, variksenmarjassa, juolukassa, mustaherukassa, mesimarjassa

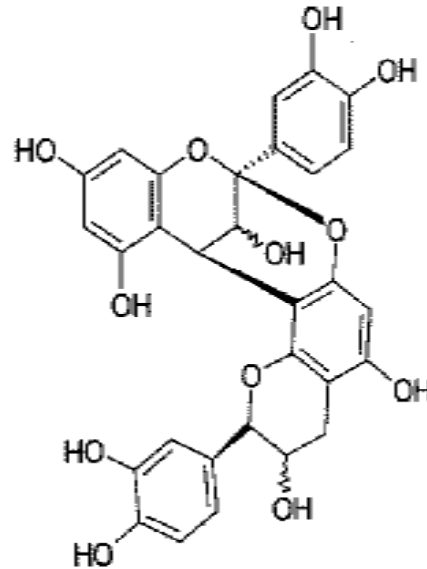
# Marjojen polyfenolit aktiivisina yhdisteinä

- Antosyaanit antavat marjoille niiden punaisen, sinisen tai mustan värin; mitä tummempi marja, sitä enemmän flavonoideja
- Antosyaaneja eniten mustikassa, marja-aroniassa ja variksenmarjassa
- Proantosyanidiinit: tanniineja, hyvin monimuotoisia, muodostuneet katekiineista (dimeereistä polymeerisiin ketjuihin) (A- ja B-tyypit)
- Tutkitun Amerikan karpalon antiadhesiivisuus liittyy A-tyypin proantosyanidineihin
- A-tyyppi on harvinaisempi kuin B-tyyppi
- Harvinaista A-tyypin proantosyanidiinia on myös löydetty kotimaisista marjoista: puolukasta, karpalosta, juolukasta ja mustikasta.

# Proantosyanidiinit



Dimer B



Dimer A

# Muiden tutkimuksia: Amerikan karpalo (*Vaccinium macrocarpon*)

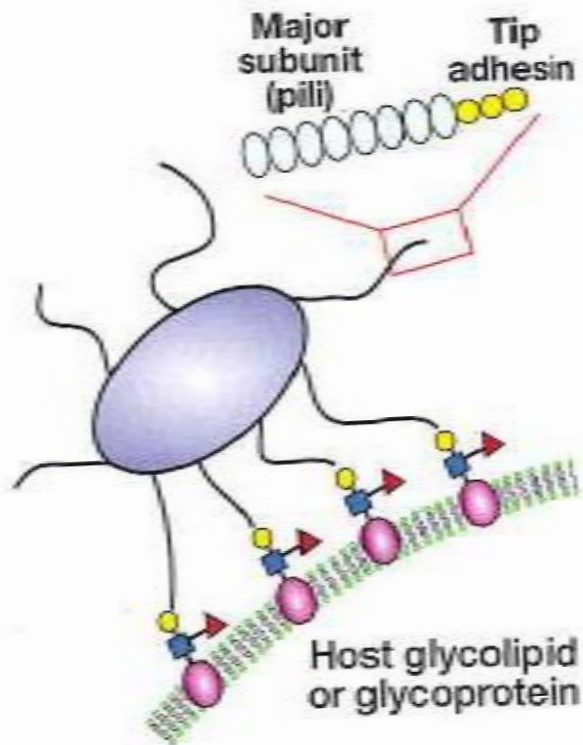
- *E. coli*
- *Helicobacter pylori*
- Mutans streptokokki (suun patogeeni)  
(Zafriri et al 1989; Shmueley et al 2004; Weiss et al 2004)
- Karpalon antiadheesio-aktiivisuus on osoitettu johtuvan hiilihydraateista sekä muista yhdisteistä kuten **proantosyanidiineistä**.
- *E. coli* ssa karpalon proantosyanidiinit on identifioitu inhiboivan P-fimbriallista Gal- $\alpha$ Gal- tunnistavaa *E. coli* a (Foo et al 2000). ), mutta fruktoosi inhiboi mannoosi specifistä (tyyppi 1) fimbriallista *E. coli* (Zafriri et al 1989).

# Bakteerien adheesio

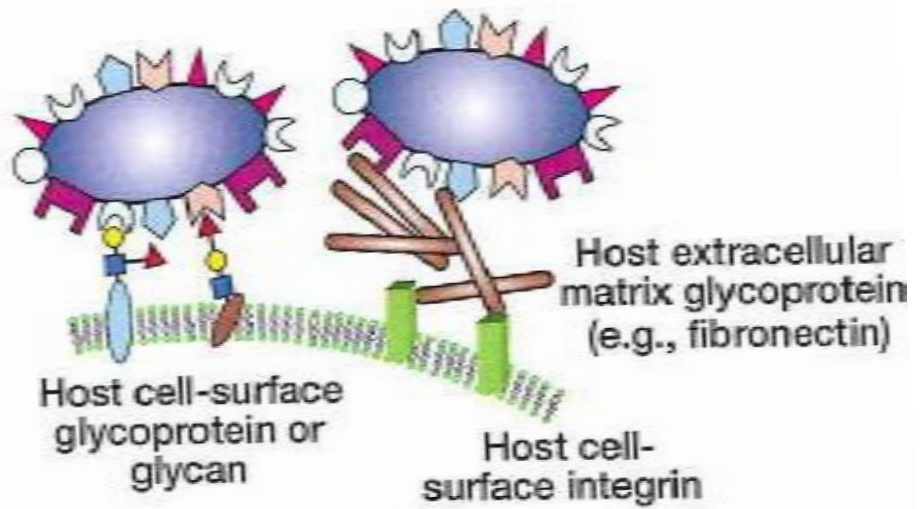
- Bakteerien tarttuminen isäntäsoluun on ensimmäinen vaihe infektion synnyssä.
- Useimmiten tarttumista välittää bakteerein pinnalla olevat adhesiinit.
- Nämä adhesiinit sitoutuvat isäntäsolun pinnalla oleviin reseptoreihin, jotka usein ovat sokereita (glykoproteiineja tai glykolipidejä).

# Bakteriadhäsio

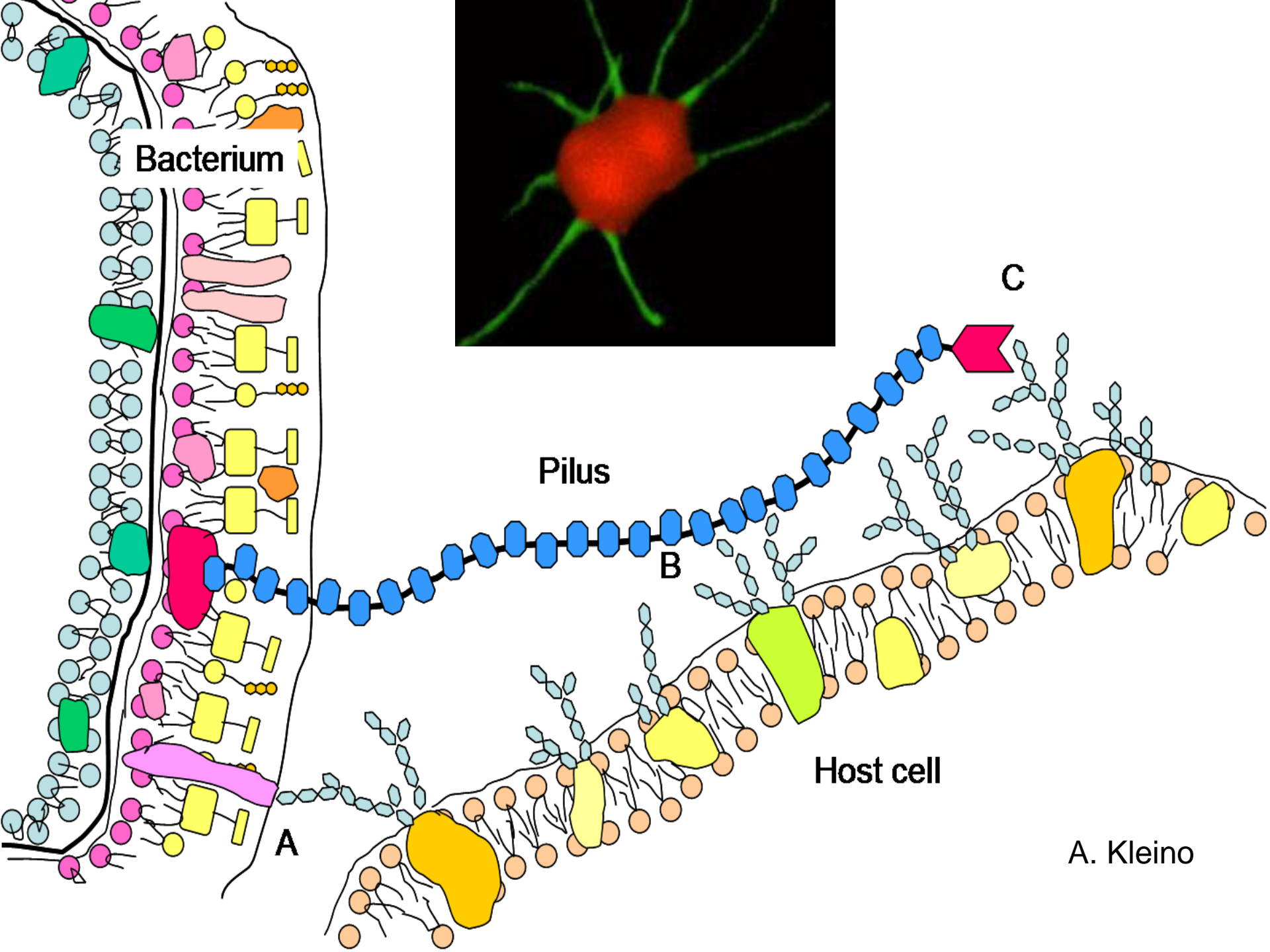
a) Pili or Fimbriae



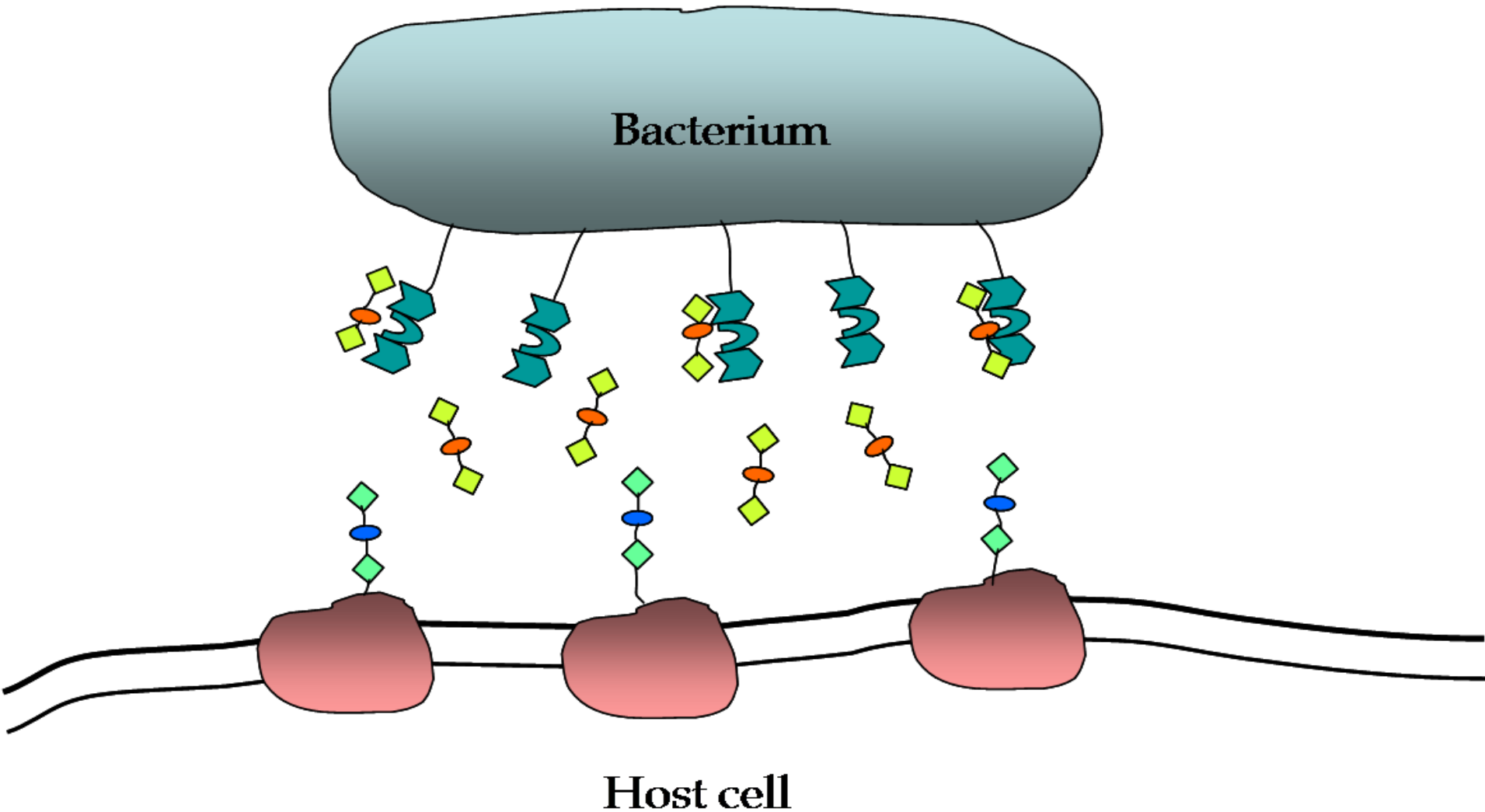
b) Afimbrial Adhesins







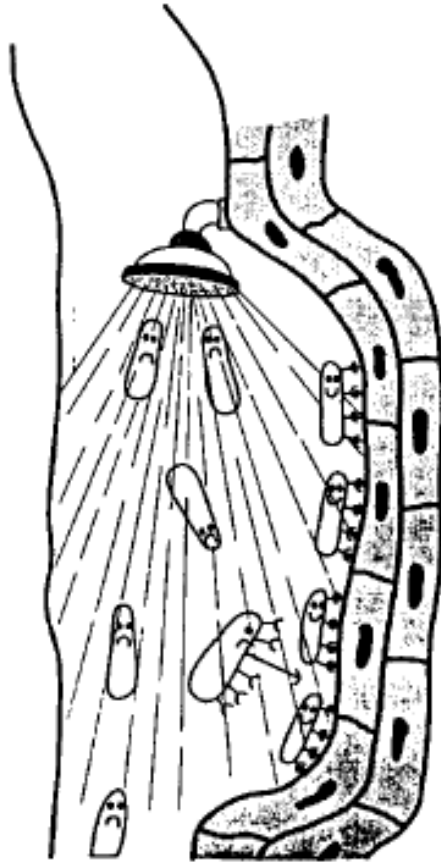
# Antiadhesioterapia



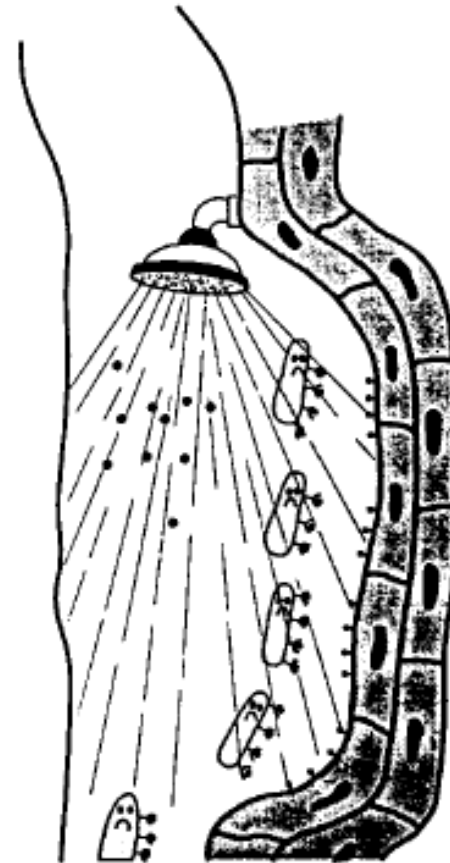
A. Kleino according to Zopf and Roth, Lancet 1996

# Antiadheesio

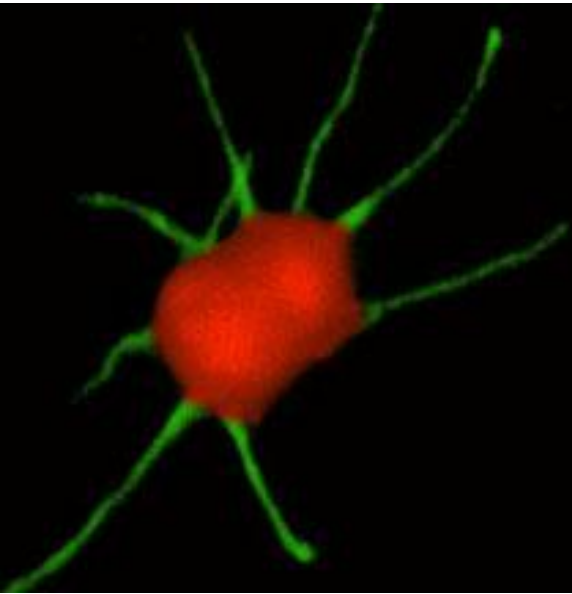
ADHESION PROTECTS INVADING  
MICROORGANISM FROM ELIMINATION  
BY NATURAL CLEANSING MECHANISMS



INHIBITORS OF ADHESION  
PREVENT INFECTION



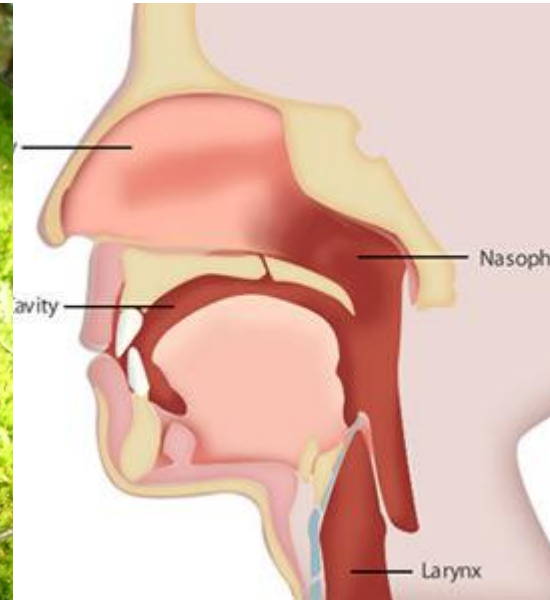
# Oma tutkimus 2: BerryTherapy projekti



Inserm U570, Paris

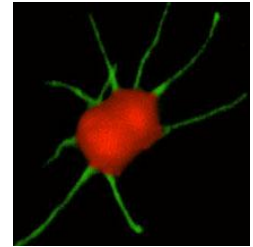
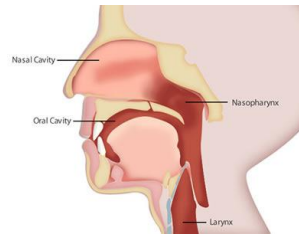


M. Toivanen



# Publications

- Toivanen M, Rynänen A, Huttunen S, Duricová J, Riihinen K, Törrönen R, Lapinjoki S and Tikkanen-Kaukanen C (2009) [Binding of \*Neisseria meningitidis\* pili to berry polyphenolic fractions.](#) J Agric Food Chem. 57:3120-7.
- Toivanen M, Huttunen S, Duricová J, Soinen P, Laatikainen R, Loimaranta V, Haataja S, Finne J, Lapinjoki S and Tikkanen-Kaukanen C (2010) [Screening of binding activity of \*Streptococcus pneumoniae\*, \*Streptococcus agalactiae\* and \*Streptococcus suis\* to berries and juices.](#) Phytother Res. (2010) 24:95-101
- Riihinen K, Rynänen A, Toivanen M, Könönen E, Törrönen R and Tikkanen-Kaukanen C (2010) Antiaggregation potential of berry fractions against pairs of *Streptococcus mutans* with *Fusobacterium nucleatum* or *Actinomyces naeslundii*. Phytother Res. (2011)25:122-7
- Huttunen S, Toivanen M, Arkko S, Ruponen M and Tikkanen-Kaukanen C. Inhibition activity of wild berry juice fractions against *Streptococcus pneumoniae* binding to human bronchial cells. Phytother. Res. (2011) 25:122-7
- Toivanen M, Huttunen S, Lapinjoki S and Tikkanen-Kaukanen C. Inhibition of adhesion of *Neisseria meningitidis* to human epithelial cells by berry juice polyphenolic fractions. Phytother. Res. (2011) 25:828832



# Tutkimuksen tavoitteet

Estää bakteerin sitoutuminen nenänielun alueelle luonnonaineilla (esim. marjat ja niiden yhdisteet)

## *Käytännön tavoitteet*

- I Anti-infektiivinen (funktionaalinen ) elintarvike, ravintolisä
  - Terveille kuluttajille
  - Riskiryhmille (vanhukset, solusalpaajahoittoa saavat potilaat, päiväkotilapset, varusmiehet)
- II Anti-infektiivinen lääke







# Marjat

## Vaccinium marjat

- Puolukka (*V. vitis-idaea*)
- Mustikka (*V. myrtillus*)
- Karpalo (*V. oxycoccos*)

## Variksenmarja

(*Empetrum nigrum*)

## Mustaherukka

(*Ribes nigrum*)

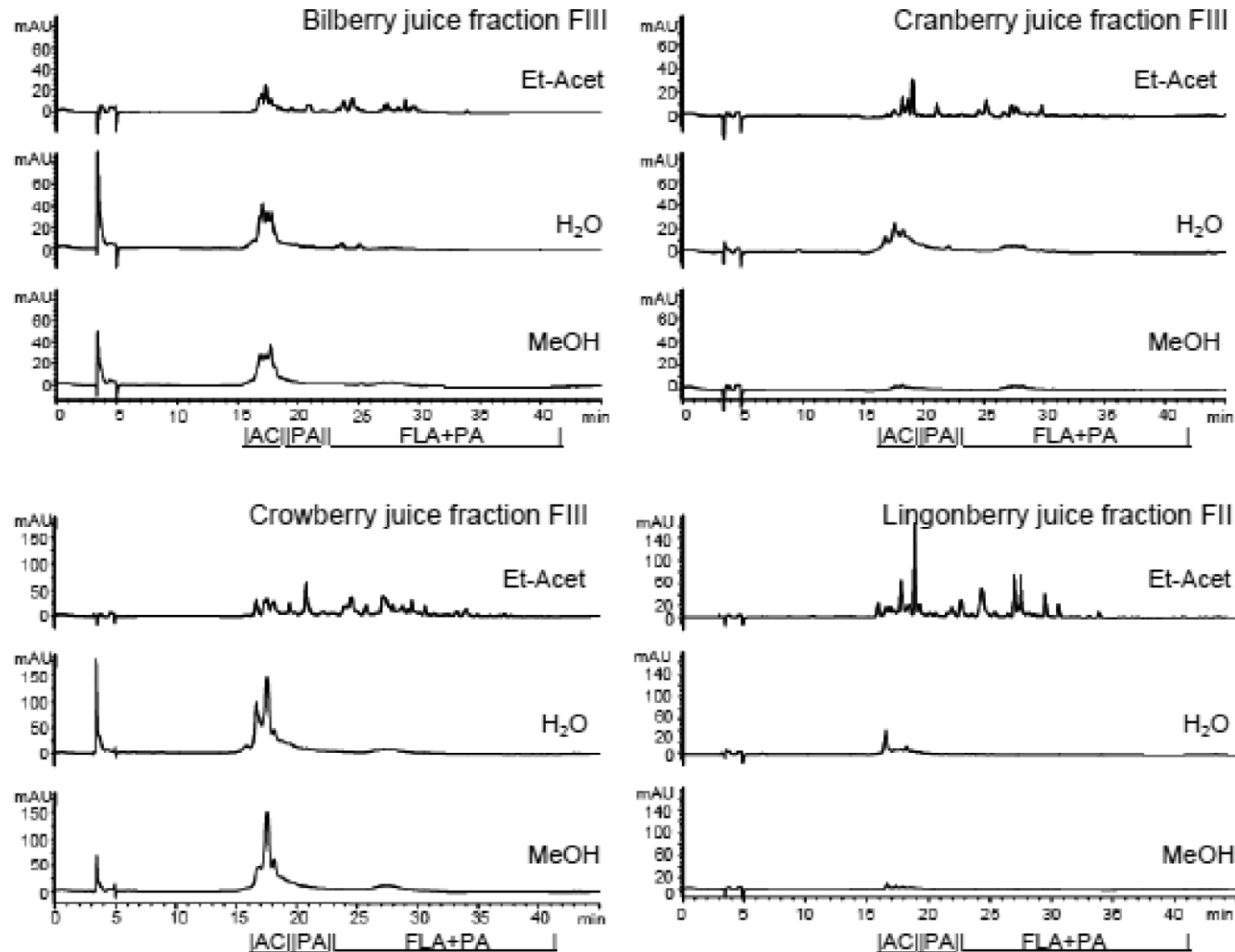
Muita: lakka, vadelma, hapan kirsikka, tomaatti, ananas, verigreippi



# Marjamehutiivisteet tutkimuksissamme

- Kiantama Oy
- Käsittelyt
  - Pektinaasi 2 h 40-45 C Puristus, mekaaninen käsittely
  - Suodatus (levy)
  - Pastorointi, 85 C, 1 min
  - Haihdutus

# Alafraktioiden RP-HPLC-DAD

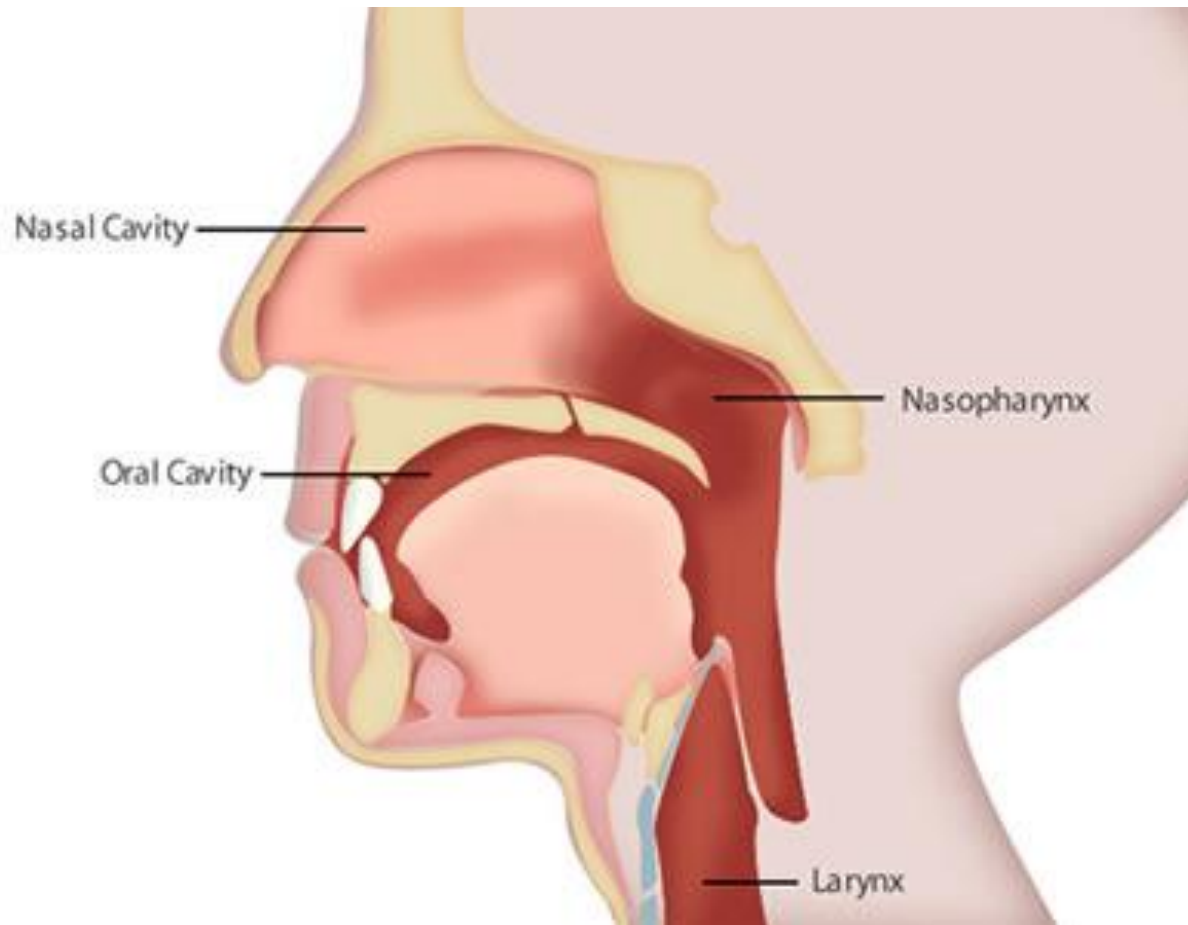


Et-Acet: flavonol glycosides + proanthocyanidins

H<sub>2</sub>O: anthocyanins + polymeric proanthocyanidins

MeOH: anthocyanins + polymeric proanthocyanidins

# Nenänielun alue tarttumiskohteena

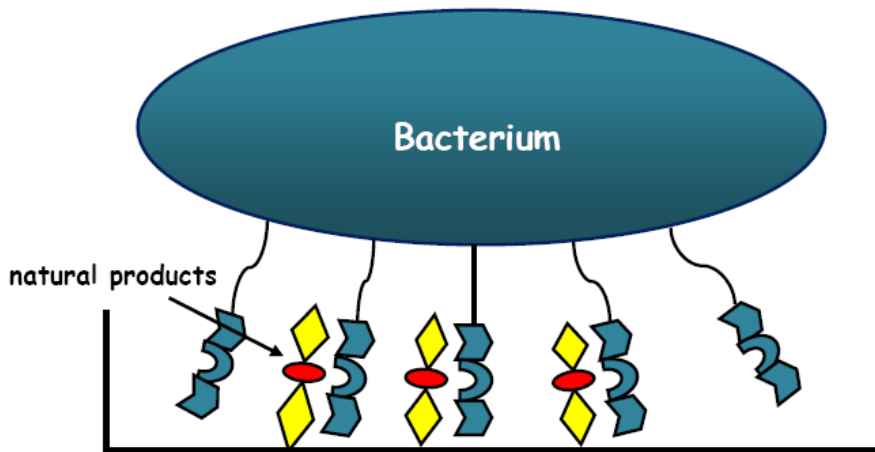


# Sitoutumis- ja sitoutumisen inhibiitio- kokeet

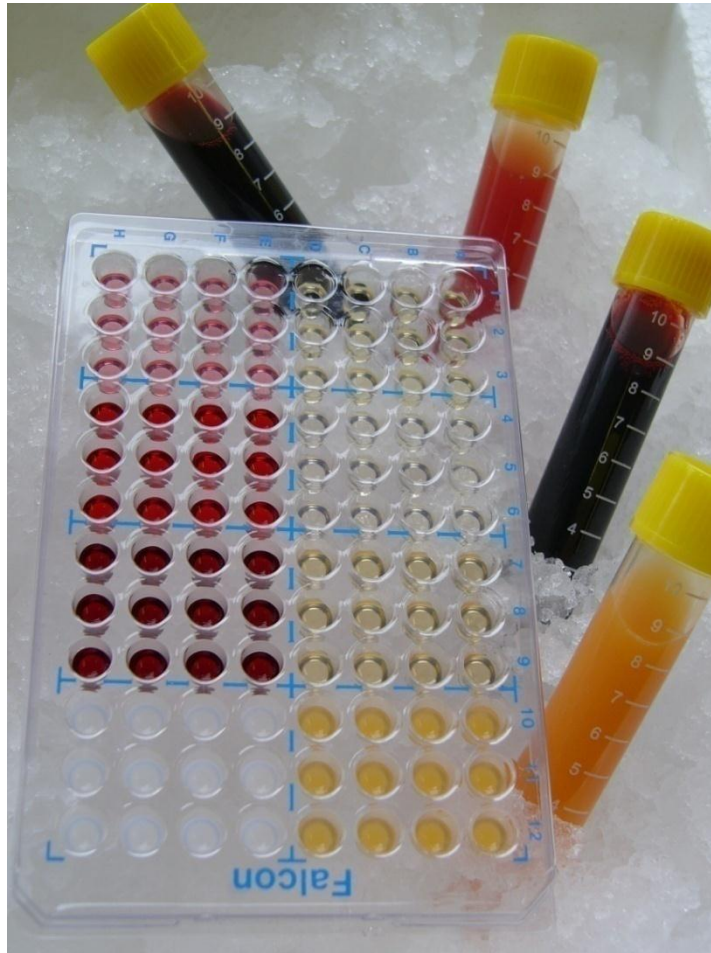
- I Bakteerien (tai tarttumista välittävien komponenttien) **sitoutuminen** marjojen yhdisteisiin (muihin kuin sokereihin)
  - **Mikrotiitterikuoppalevykoe**
- II **Sitoutumisen esto**
  - ❖ Hemagglutinaation inhibiitio
  - ❖ Antiaggregaatio (hammasbakteerit)
    - Täpläkoe
    - **Soluviljelykoe**

# Mikrotiitterikuoppalevyko

- Luonnonaine sidotaan kuoppalevyn pohjaan
- Bakteerisolu tai siitä irrotetut pilukset tarttuvat luonnonaineisiin



# Mikrotiitterikuoppalevykoe



M. Toivanen

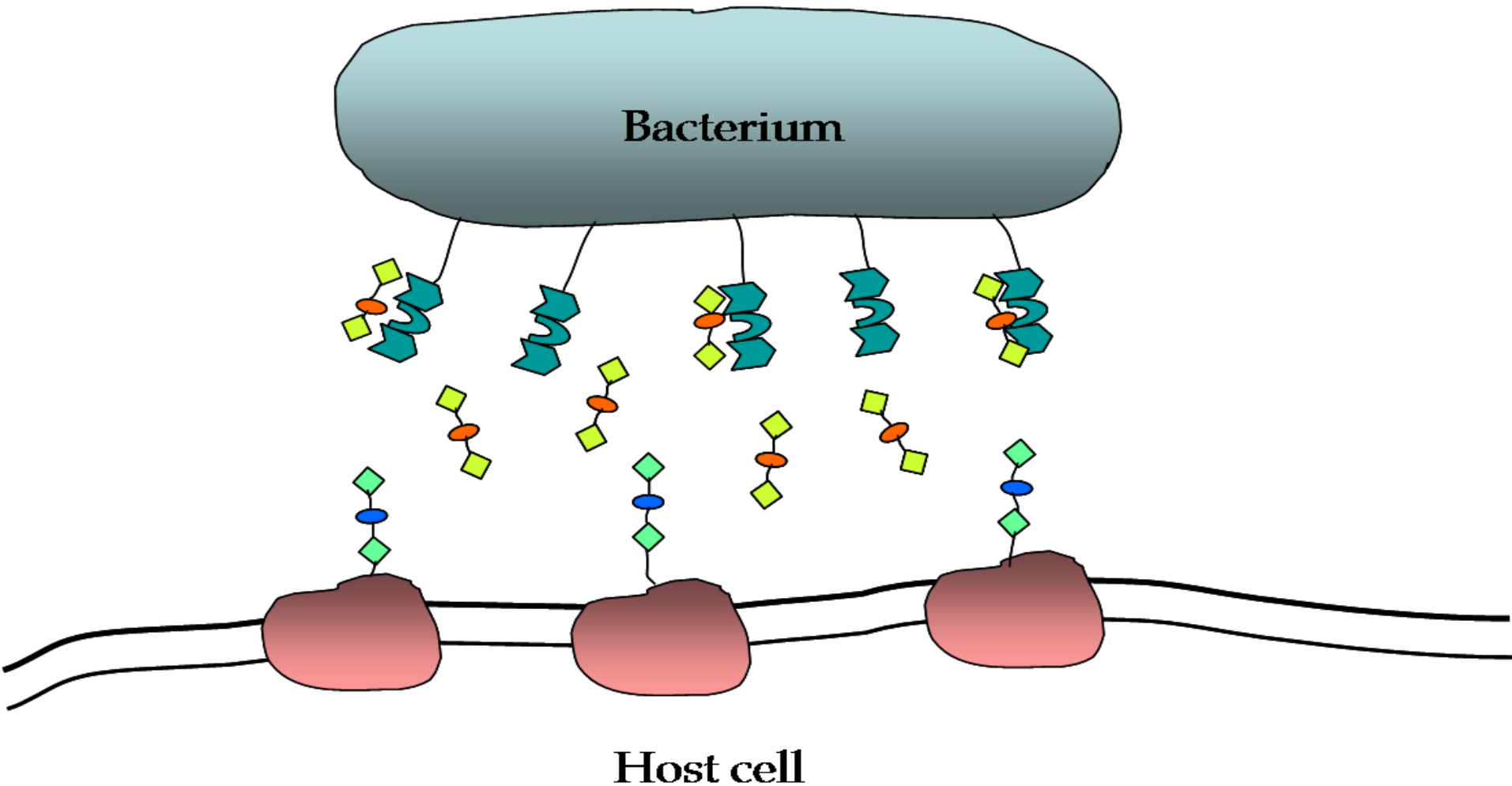
# *Streptococcus pneumoniae*

Omia tutkimustuloksia

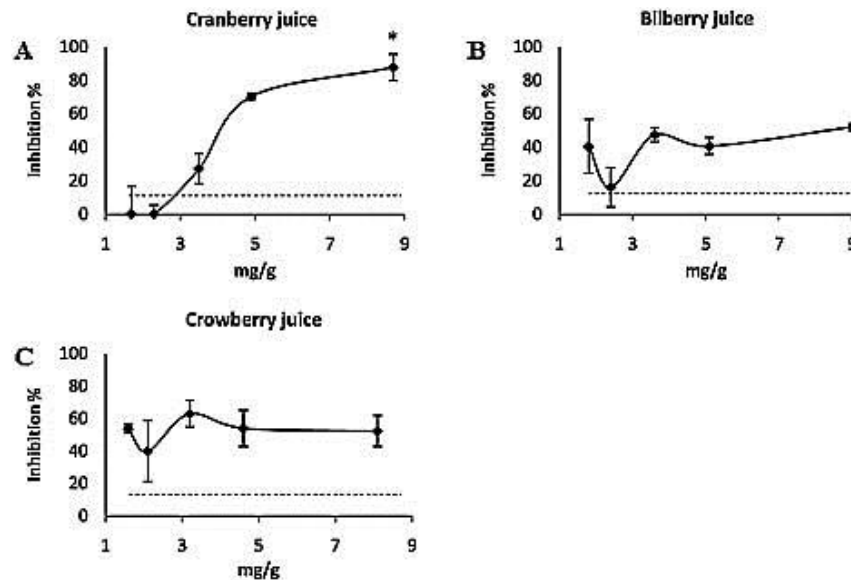




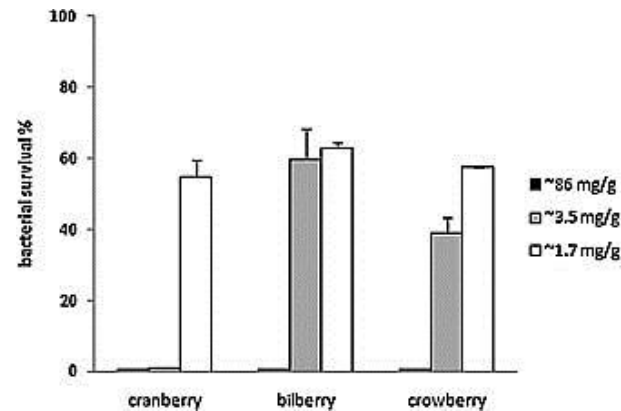
# Soluviljelykokeet



# Inhibition Activity of Wild Berry Juice Fractions against *Streptococcus pneumoniae* Binding to Human Bronchial Cells



# Antimicrobial Activity of Wild Berry Juice Fractions against *Streptococcus pneumoniae*



# Bioaktiiviset marjat tässä tutkimuksessa (kaikki tutkitut bakteerit)

## Vaccinium marjat

- Puolukka (*V. vitis-idaea*)
- Mustikka (*V. myrtillus*)
- Karpalo (*V. oxycoccos*)

## Variksenmarja

(*Empetrum nigrum*)

## Mustaherukka

(*Ribes nigrum*)



# Kiitos!

