

# Primjena probiotika u očuvanju zdravlja kože

---

Križanović, Mateja

Professional thesis / Završni specijalistički

2021

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Pharmacy and Biochemistry / Sveučilište u Zagrebu, Farmaceutsko-biokemijski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:163:570217>

Rights / Prava: [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-17**



Repository / Repozitorij:

[Repository of Faculty of Pharmacy and Biochemistry University of Zagreb](#)



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
FARMACEUTSKO-BIOKEMIJSKI FAKULTET

**Mateja Križanović**

**PRIMJENA PROBIOTIKA U OČUVANJU  
ZDRAVLJA KOŽE**

**Specijalistički rad**

Zagreb, 2020.

Poslijediplomski specijalistički studij: Dermatofarmacija i kozmetologija

Mentor rada: prof. dr. sc. Dubravka Vitali Čepo

Specijalistički rad obranjen je dana 15.06.2021. na Farmaceutsko-biokemijskom fakultetu, Sveučilišta u Zagrebu pred povjerenstvom u sastavu:

1. izv. prof. dr. sc. Donatella Verbanac

2. prof. dr. sc. Dubravka Vitali Čepo

3. dr. sc. Marjana Dürrigl

Rad ima 72 listova.

## **PREDGOVOR**

Specijalistički rad prijavljen je na Farmaceutsko-biokemijskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu i izrađen na Zavodu za kemiju prehrane pod stručnim vodstvom izv. prof. dr. sc. Dubravke Vitali Čepo.

Veliko hvala izv. prof. dr. sc. Dubravki Vitali Čepo na razumijevanju, strpljenju, uloženom trudu i stručnim savjetima koji su mi pomogli u izradi rada.

Hvala obitelji Rizk na omogućenom upisu poslijediplomskog specijalističkog studija Dermatofarmacija i kozmetologija.

Specijalistički rad posvećujem svojoj obitelji kao znak zahvale za njihovu beskrajnu potporu.

## SAŽETAK

### **Cilj istraživanja:**

Cilj ovog rada je pregledom dostupne znanstvene i stručne literature utvrditi mogućnost oralne i topikalne primjene probiotika u očuvanju zdravlja kože te njihovu primjenu u liječenju kožnih bolesti uzimajući u obzir specifičnosti pojedinih probiotičkih vrsta/sojeva.

### **Materijali i metode:**

Za potrebe ovog rada korišteni su podaci kliničkih studija, metaanaliza i preglednih članaka dobiveni pretraživanjem baza podataka: PubMed (Medline), Elsevier Science Direct, Scopus, Embase i Cochrane Library prema ključnim riječima (i njihovim kombinacijama): *acne, atopic dermatitis, control of quality, dermatology, microbiom, prebiotics, probiotics, psoriasis, rosacea, skin reactivity, stability testing, topical probiotic*.

### **Rezultati:**

Oralna suplementacija probioticima kod odraslih pacijenata i djece sa dijagnozom atopijskog dermatitisa pokazala se povoljnom u poboljšanju kliničkih simptoma kao što su osjećaj svrbeža, suha, gruba i ispucala koža. Perinatalna i postnatalna oralna suplementacija probioticima rizičnih majki i njihove djece pokazala se dobrim izborom u prevenciji nastanka atopijskog dermatitisa/ekcema i alergije na hranu. Oralno primijenjeni probiotici u kombinaciji sa antibiotskom terapijom kod liječenja akni, ispoljavaju protuupalni učinak te smanjuju nuspojave antibiotske terapije. Kod pacijenata sa dijagnozom psorijaze oralno primijenjeni probiotici poboljšavaju kliničke simptome bolesti, moduliraju sastav mikrobiote i smanjuju rizik relapsa bolesti. Topikalno primijenjeni probiotici povećavaju koncentracije ceramida u epidermi i djeluju protuupalno smanjujući osjećaj svrbeža i suhoće kože. Primijenjeni kod akni smanjuju broj inflamatornih lezija, a kod rana ubrzavaju proces cijeljenja rana potičući stvaranje vezivnog tkiva i održavajući ravnotežu kožne mikrobiote.

**Zaključak:**

Prema rezultatima većeg broja kliničkih studija, oralnom i topikalnom primjenom probiotika ostvaruju se pozitivni učinci u upalnim stanjima kože. Obzirom da se radi o studijama rađenim na manjem broju ispitanika te su u navedenim istraživanjima obuhvaćene različite vrste i sojevi probiotika u različitim dozama, razina dokaza o učinkovitosti je niska. Stoga još uvijek ne postoje službene smjernice za primjenu probiotika u dermatologiji i potrebna su dodatna istraživanja kako bi se utvrdila razina djelotvornosti pojedinih sojeva kao i optimalni režimi doziranja u određenim indikacijama.

## SUMMARY

### **Objectives:**

The aim of this study was to review available literature data to determine the possibility of oral and topical application of probiotics in maintaining skin health and treatment of skin diseases, with special reference to particular probiotic strains.

### **Materials and methods:**

For the purposes of this study, clinical studies, meta-analyzes and review articles were used. Data were obtained by searching the following databases: PubMed (Medline), Elsevier Science Direct, Scopus, Embase, and the Cochrane Library according to keywords (and their combinations): *acne, atopic dermatitis, control of quality, dermatology, microbiom, prebiotics, probiotics, psoriasis, rosacea, skin reactivity, stability testing, topical probiotic.*

### **Results:**

Oral probiotic supplementation in adult patients and children diagnosed with atopic dermatitis has been shown to be beneficial in improving clinical symptoms such as itchy, dry, rough, and cracked skin. Perinatal and postnatal oral probiotic supplementation of high-risk mothers and their children has been shown to be a good choice in the prevention of atopic dermatitis / eczema and food allergies. Orally administered probiotics in combination with antibiotic therapy in the treatment of acne resulted in anti-inflammatory effect and reduced the side effects of antibiotic therapy. In patients diagnosed with psoriasis probiotics improve clinical symptoms, modulate microbiota composition and reduce the risk of disease relapse. Topically applied probiotics increased the level of ceramides in the epidermis of atopics and reduced inflammation, itching and dryness of the skin. Used in acne, topically applied probiotics reduced the number of inflammatory lesions. They also accelerated the process of wound healing, by contributing to the formation of connective tissue and maintaining the balance of the skin microbiota.

**Conclusion:**

Some clinical studies shows that orally and topically applied probiotics exert positive effects in inflammatory skin conditions. Nevertheless, it should be taken into account that these are relatively small clinical trials that investigated the efficiency of different probiotic strains in different doses. Therefore the level of evidence for the efficiency of probiotics in skin diseases is low and there are still no official clinical guidelines for the use of probiotics in dermatology. Additional research is needed to determine the effectiveness of particular strains in adequate dosage regimes in maintaining skin health and treating different skin conditions.



# SADRŽAJ

<b>1. UVOD I PREGLED PODRUČJA ISTRAŽIVANJA.....</b>	<b>4</b>
1.1. KOŽA.....	5
1.1.1. EPIDERMA.....	6
1.1.1.1. Bazalni sloj epiderme (stratum germinativum).....	6
1.1.1.2. Trnasti sloj epiderme (stratum spinosum).....	7
1.1.1.3. Zrnasti sloj epiderme (stratum granulosum).....	7
1.1.1.4. Svijetli sloj epiderme (stratum lucidum).....	7
1.1.1.5. Rožnati sloj epiderme (stratum corneum).....	7
1.1.2. DERMA.....	8
1.1.2.1. Papilarni sloj derme (stratum papilare).....	8
1.1.2.2. Retikularni sloj derme (stratum reticulare).....	8
1.1.3. POTKOŽNO TKIVO.....	9
1.1.4. KOŽNI PRIVJESCI.....	9
1.1.4.1. Žlijezde znojnice.....	9
1.1.4.2. Žlijezde lojnice.....	9
1.1.4.3. Folikuli dlaka/vlasi.....	10
1.1.4.4. Nokti.....	10
1.2. „GUT-SKIN“ HIPOTEZA.....	11
1.3. PROBIOTICI.....	12
1.3.1. PROIZVODNJA PROBIOTIKA.....	17
1.3.2. MEHANIZAM DJELOVANJA PROBIOTIKA.....	18
1.3.2.1. Jačanje epitelne barijere.....	18
1.3.2.2. „Kompeticija“ s patogenima prilikom adhezije na epitel i iskorištavanja	

nutrijenata.....	19
1.3.2.3. Produkcija tvari sa antimikrobnim učinkom.....	19
1.3.2.4. Imunomodulatorni efekt.....	20
1.3.3. NUSPOJAVE PROBIOTIKA.....	20
1.3.4. PREBIOTICI.....	21
1.3.5. SINBIOTICI.....	22
1.3.6. REGULACIJA PROBIOTIKA NA TRŽIŠTU.....	23
<b>2. CILJ ISTRAŽIVANJA.....</b>	<b>26</b>
<b>3. MATERIJALI I METODE.....</b>	<b>27</b>
<b>4. RASPRAVA.....</b>	<b>28</b>
4.1. MIKROBIOM KOŽE.....	28
4.1.1. PROMJENA MIKROBIOMA KOŽE U ATOPIJSKOM DERMATITISU.....	29
4.1.2. PROMJENA MIKROBIOMA KOŽE KOD AKNI... ..	31
4.1.3. PROMJENA MIKROBIOMA KOŽE U PSORIJAZI.....	34
4.1.4. PROMJENA MIKROBIOMA KOŽE U ROZACEI.....	35
4.2. ORALNA PRIMJENA PROBIOTIKA KOD KOŽNIH BOLESTI.....	36
4.2.1. ORALNA PRIMJENA PROBIOTIKA KOD ATOPIJSKOG DERMATITISA....	36
4.2.2. ORALNA PRIMJENA PROBIOTIKA KOD AKNI.....	42
4.2.3. ORALNA PRIMJENA PROBIOTIKA KOD PSORIJAZE.....	44
4.2.4. ORALNA PRIMJENA PROBIOTIKA KOD ROZACEE.....	46
4.2.5. OSTALE DERMATOLOŠKE INDIKACIJE ZA ORALNU PRIMJENU PROBIOTIKA.....	47
4.2.5.1. ORALNA PRIMJENA PROBIOTIKA KOD CIJELJENJA RANA.....	47
4.2.5.2. ORALNA PRIMJENA PROBIOTIKA KOD REAKTIVNE KOŽE.....	49

4.3. TOPIKALNA PRIMJENA PROBIOTIKA KOD KOŽNIH BOLESTI.....	51
4.3.1. TOPIKALNA PRIMJENA PROBIOTIKA KOD ATOPIJSKOG DERMATITISA.....	51
4.3.2. TOPIKALNA PRIMJENA PROBIOTIKA KOD AKNI.....	53
4.3.3. TOPIKALNA PRIMJENA PROBIOTIKA KOD PSORIJAZE.....	55
4.3.4. TOPIKALNA PRIMJENA PROBIOTIKA U OSTALIM DERMATOLOŠKIM INDIKACIJAMA.....	55
4.3.4.1. TOPIKALNA PRIMJENA PROBIOTIKA KOD CIJELJENJA RANA.....	55
4.3.4.2. TOPIKALNA PRIMJENA PROBIOTIKA KOD REAKTIVNE KOŽE.....	56
4.4. PROBIOTICI KAO POTENCIJALNA „ANTI-AGE“ TERAPIJA.....	58
<b>5. ZAKLJUČAK.....</b>	<b>61</b>
<b>6. LITERATURA.....</b>	<b>62</b>
<b>7. ŽIVOTOPIS.....</b>	<b>72</b>

## 1. UVOD I PREGLED PODRUČJA ISTRAŽIVANJA

Koža štiti organizam od vanjskih fizičkih, kemijskih i bioloških faktora, onemogućava gubitak vode te sudjeluje u termoregulaciji. Sastoji se od tri sloja: epiderme, derme i potkožnog tkiva koji formiraju spomenutu barijeru i sudjeluju u održavanju homeostaze. Mikroorganizmi koji obitavaju na površinskom sloju kože nazivaju se mikrobiotom kože i uključuju bakterije, viruse i gljivice. Mikrobiota kože važan je dio imunološkog sustava kože i narušavanje njenog sastava može doprinjeti razvoju upalnih kožnih bolesti kao što su atopijski dermatitis, akne, rozacea i psorijaza.

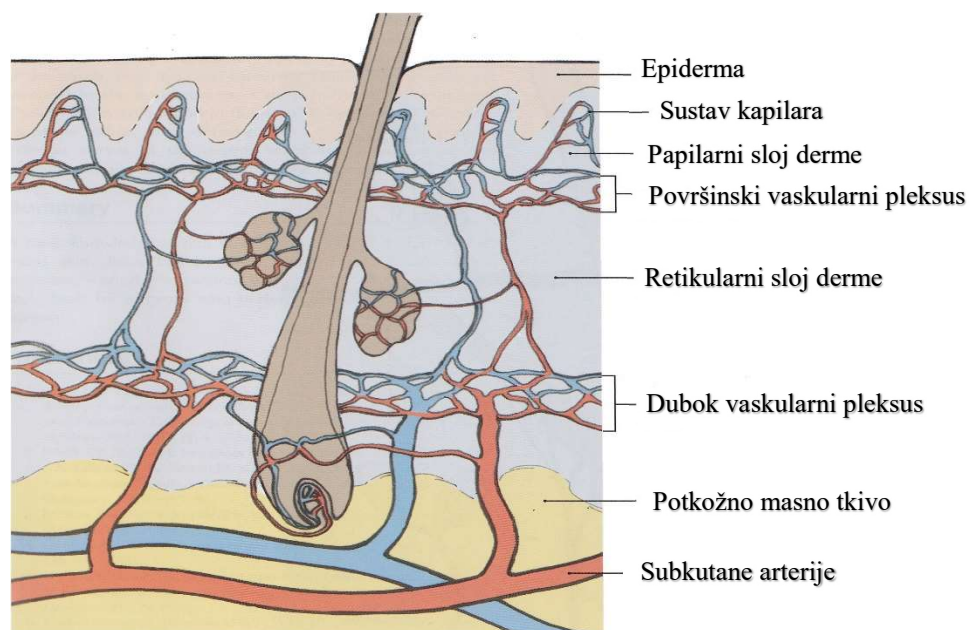
Probiotici su živi mikroorganizmi koji konzumirani u adekvatnoj dozi ili primjenjeni topikalno mogu pozitivno djelovati na mikrobiotu, a posljedično i na samo zdravlje domaćina. Prebiotici su našem organizmu neprobavljivi sastojci hrane koji selektivno stimuliraju rast i preživljavanje dobrih bakterija u kolonu ili na površini kože i često se kombiniraju sa probioticima radi boljeg učinka te se takva kombinacija naziva sinbiotikom.

U zadnjih deset godina značajno je porastao broj znanstvenih istraživanja vezanih uz primjenu probiotika kao i porast probiotičkih pripravaka na tržištu. Brojne zakonske regulative obvezuju proizvođače probiotičkih pripravaka da na tržište stave pripravak provjerene kvalitete i sigurnosti.

U području dermatologije, probiotici zauzimaju svoje mjesto kao potencijalna terapija u prevenciji/liječenju određenih stanja kože iako njihov mehanizam djelovanja nije do kraja razjašnjen.

## 1.1. KOŽA

Koža kao najveći organ čini barijeru između tijela koje štiti i uvjeta koji vladaju u neposrednoj okolini. Štiti organizam od gubitka vode i, elektrolita kao i od mehaničkih, fizikalnih, kemijskih i mikrobioloških utjecaja. Koža čini 15% ukupne mase odrasle osobe te regulira tjelesnu temperaturu, sadrži receptore za osjet i mjesto je odvijanja brojnih imunoloških procesa kao i sinteze vitamina D [1,2]. Koža se sastoji od tri sloja: epiderme, derme i potkožnog tkiva (Slika 1.). Epiderma čini gornji sloj kože sastavljen od keratinocita koji sintetiziraju keratin, protein sa protektivnim djelovanjem. Derma čini srednji sloj sastavljen od kolagena i leži na potkožnom sloju koji je sastavljena od lipocita, masnih stanica. Debljina slojeva kože ovisi o anatomiji kao i o geografskom položaju.



**Slika 1:** Vaskularni sustav kože (prilagođeno prema [2])

### **1.1.1. EPIDERMA**

Epiderma je skvamozni sloj kože sastavljen od keratinocita i dendritičkih stanica međusobno povezanih intercelularnim mostovima. Podjeljena je u četiri sloja ovisno o morfologiji keratinocita i njihovoj diferencijaciji. Epiderma je dinamično tkivo, kontinuirano se obnavlja i time pomaže u rastu struktura kao što su žlijezde, nokti i pilosebacealne jedinice.

#### **1.1.1.1. BAZALNI SLOJ EPIDERME (STRATUM GERMINATIVUM)**

Bazalni sloj sastoji se od palisadno poredanih proliferirajućih stanica od kojih su keratinociti najbrojniji, dijele se i potiskuju stanice trnastog sloja prema površini kože. Formiraju jedan sloj i međusobno se pričvršćuju dezmosomalnim spojevima. Osim keratinocita, u ovom sloju prisutni su i melanociti, Langerhansove i Merkelove stanice te nešto T-limfocita.

Melanociti su odgovorni za sintezu melanina koja je povećana utjecajem sunčevih zraka i na taj način zaslužni su za zaštitu kože od UV zračenja. Melanin se sintetizira u melanosomima, okruglim organelama okruženim membranom. Osim što sintezom melanina koža tamni, povećava se i sposobnost stanica kože da apsorbiraju svjetlo i štite genetičku informaciju od oštećenja izazvanog UV zračenjem.

Langerhansove stanice su dendritičke pokretne stanice identične makrofagima koje sudjeluju u imunološkom odgovoru premješajući se iz epiderme u dermu prezentirajući antigene limfocitima te stoga ostvaruju važnu ulogu u funkcioniranju imunološke barijere kože. U početnom stadiju života slabi su stimulatori T stanica, ali su sposobne procesuirati antigen. Kad postanu efektivni stimulatori T stanica, aktiviraju se u kontaktu s antigenom i stimuliraju migraciju stanica imunološkog sustava. Čine 2-8% ukupne populacije epidermalnih stanica i održavaju konstantan broj i distribuciju na određenim djelovima tijela.

Merkelove stanice morfološki su slične melanocitima te imaju ulogu mehanoreceptora i u neposrednoj su vezi sa završecima živčanih vlakana [3,4].

#### **1.1.1.2. TRNASTI SLOJ EPIDERME (STRATUM SPINOSUM)**

Trnasti sloj leži na bazalnom sloju epiderme i sastoji se od nekoliko vrsta stanica koje se razlikuju po obliku, strukturi i subcelularnim karakteristikama, ovisno o lokaciji. Suprabazalne stanice su polihedralnog oblika i okruglih jezgara dok su stanice gornjeg trnastog sloja veće i sadrže lamelarne granule. Lamelarne granule su organele koje sadrže brojne spojeve kao što su glikolipidi, fosfolipidi, slobodni steroli i hidrolitički enzimi zbog kojih ih se smješta u skupinu lizosoma. Prostor između stanica trnastog sloja premošten je dezmosomima koji pružaju otpor fizičkom stresu.

#### **1.1.1.3. ZRNASTI SLOJ EPIDERME (STRATUM GRANULOSUM)**

Zrnasti sloj sastoji se od stanica vretenastog oblika skvrčene jezgre koje u svojoj citoplazmi sadrže granule keratohijalina i odgovorne su za daljnju sintezu i modifikaciju proteina koji sudjeluju u procesu keratinizacije. Keratohijalin je u ovom sloju sastavni dio stanica i reflektira veće količine svjetlosti te štiti od UV zračenja.

#### **1.1.1.4. SVIJETLI SLOJ EPIDERME (STRATUM LUCIDUM)**

Svijetli sloj (stratum lucidum) većinom je prisutan na tabanima i dlanovima te je za njega karakteristična ispunjenost stanica tvarima nastalim otapanjem keratohijalina, odgovornim za davanje sjaja tom sloju kada ga gledamo pod mikroskopom.

#### **1.1.1.5. ROŽNATI SLOJ EPIDERME (STRATUM CORNEUM)**

Rožnati sloj sastoji se od velikih stanica korneocita, stanica heksagonalnog oblika, ispunjenih keratinom. Korneociti su u površinskom dijelu međusobno nepovezani, dok su u nižim slojevima te iste stanice povezane kristaliničnim lamelarnim lipidnim matriksom koji čini većinu fizičke barijere. Navedeni sloj zaslužan je za mehaničku protekciju donjeg sloja epiderme i čini barijeru u zaštiti od gubitka vode i invaziji nepoznatih supstanci.

### **1.1.2. DERMA**

Derma je elastična potporna struktura kože izgrađena od kolagenskih i elastičnih vlakana čiji međuprostor ispunjava ektrafibrilarni matriks sastavljen od mukopolisaharida (proteoglikani, glukozaminoglikani) koje pojedinim molekulama i upalnim stanicama omogućuju gibanje kroz dermu.

Kolagen, kao gradivni element ovog sloja otporan je na stres dok su elastična vlakna odgovorna za elasticitet ovog sloja. 70% mase suhe tvari kože čini kolagen, a razgrađuju ga proteolitički enzimi kolagenaze i zamjenjuje se novim vlaknima [4,5]. Elastična vlakna od kolagena se razlikuju strukturalno i kemijski, a sastoje se od vlaknaste i amorfne proteinske frakcije. Kroz dermu prolaze slobodni živčani završeci odgovorni za osjet dodira, temperature i boli te krvne žile koje opskrbljuju kožu hranjivim tvarima, kisikom i reguliraju tjelesnu temperaturu. Splet krvnih žila u dermi sastoji se od subpapilarnog (površinskog) i nižeg (dubokog) pleksusa. Dermalne papile opskrbljene su kapilarama, krajevima arteriola i venulama dok je dublji pleksus opskrbljen većim krvnim žilama i kompleksnije je strukture. Derma se kao i epiderma sastoji od nekoliko slojeva.

#### **1.1.2.1. PAPILARNI SLOJ DERME (STRATUM PAPPILLARE)**

Papilarni sloj obiluje živčanim završecima, kapilarama, osjetnim tjeleščima za dodir (Meissnerova tjelešca) te osjetnim tjeleščima za pritisak (Vater-Pacini tjelešca). Mastociti, specijalizirane sekretorne stanice najbrojnije su u ovom sloju, a smješteni su oko krvnih žila osobito poglavito postkapilarnih venula. Granule mastocita su okrugle, membranom okružene strukture koje sadrže histamin, heparin, serin proteinaze i citokine, a na površini stanica eksprimirani su glikoproteinski receptori za imunoglobulin E. Zbog navedene strukture smatra se da sudjeluju u regulaciji upalnih bolesti.

#### **1.1.2.2. RETIKULARNI SLOJ DERME (STRATUM RETICULARE)**

Retikularni sloj nalazi se ispod papilarnog sloja te osim gustih snopova kolagena i elastina sadrži krvne i limfne žile, živce, receptore za hladnoću (Krauseovi klipovi) te žlijezde lojnice.



### **1.1.3. POTKOŽNO TKIVO**

Potkožno tkivo je bogato masnim stanicama smješteno između derme i mišićnog sloja. Služi kao pričuvni izvor energije, i štiti tijelo od hladnoće i trauma. Sadrži mnoštvo krvnih i limfnih žila, živaca, receptora za pritisak i duboki osjet. Adipociti potkožnog tkiva su metabolički aktivni te sudjeluju u metabolizmu većeg broja hormona. Primjerice, adipociti proizvode leptin, hormon koji sudjeluje u regulaciji tjelesne mase.

### **1.1.4. KOŽNI PRIVJESCI**

U skupinu kožnih privjesaka ubrajamo žlijezde znojnice (ekrine i apokrine žlijezde), žlijezde lojnice, folikule dlaka/kose i nokte.

#### **1.1.4.1. ŽLIJEZDE ZNOJNICE**

Ekrine (male) žlijezde znojnice smještene su po cijeloj koži i zaslužne su za regulaciju tjelesne temperature jer se kroz njih odvija neprimjetno znojenje i ta funkcija obavlja se od rođenja. Aktivacija samih žlijezda može biti potaknuta emotivnom ili toplinskom stimulacijom.

Apokrine (velike) žlijezde znojnice smještene većinom u području pazuha i anogenitalnoj regiji prisutne su od rođenja ali svoju funkciju obavljaju tek od razdoblja puberteta kada se povećavaju jer im je funkcija ovisna o koncentraciji androgena.

#### **1.1.4.2. ŽLIJEZDE LOJNICE**

Žlijezde lojnice prisutne su na većoj površini kože, osim na koži tabana i dlanova te u poluslužnici usana. Proizvode sebum čiji su sastav i količina varijabilni. Njihova veličina i aktivnost ovise o koncentraciji androgena stoga je njihova aktivnost izražena u razdoblju puberteta.

#### **1.1.4.3. FOLIKULI DLAKA/VLASI**

Folikuli dlaka/vlasi rasprostranjeni su po cijelom tijelu osim na dlanovima, tabanima, a njihova funkcija je zaštitne prirode (štite organe vida, njuha i sluha). Razvoj folikula kreće već u petom mjesecu fetalnog razvoja, u bazalnom djelu epiderme djeljenjem keratinocita u dermu dok se na dnu folikula nalazi papila sastavljena od vezivnog tkiva i spletova krvnih žila.

#### **1.1.4.4. NOKTI**

Nokti su izgrađeni od čvrstog keratina formiranog iz epidermalnih stanica. Oni štite prst od ozljeda i zaštićuju osjet dodira. Sama ploča nokta smještena je paralelno uz površinu kože, poluprozirna i ružičaste boje jer je samo ležište nokta opskrbljeno krvnim žilama i završecima osjetnih živaca.

## 1.2. „GUT-SKIN“ HIPOTEZA

Crijeva i koža su organi koji su međusobno povezani, stoga nije iznenađujuće što određena patološka stanja uzrokuju vidljive promjene na koži. Oba organa karakterizira dobra prokrvljenost, i masovna kolonizacija velikim brojem različitih mikroorganizmima. I koža i crijevo funkcioniraju kao „kompleks organa“ pomoću kojih organizam komunicira sa okolišem [6]. Mikrobiom crijeva odrasle osobe obiluje raznolikim vrstama bakterija, virusa, gljivica i protozoa koji žive u simbiozi sa ljudskim organizmom. U samoj mikroflori crijeva odvijaju se brojne metaboličke i imunološke dobrobiti kao što je sinteza vitamina K<sub>2</sub>; poticanje imunotolerancije na nutritivne i ostale antigene iz okoliša; zaštita od potencijalnih patogena bilo da se radi o direktnoj zaštiti kompetitivnim vezivanjem za epitelne stanice ili indirektnom učinku putem aktivacije imunološkog odgovora.

Mikroorganizmi koji nastanjuju crijeva izvor su peptidoglikana koji utječu na ekspresiju TLR (eng. Toll-Like Receptor) receptora koji nalazimo na površini inicijalnih imunoloških stanica. TLR receptor prepoznaje uzorak molekule patogena i pokreće kaskadu biokemijskih reakcija u imunološkom sustavu, uglavnom putem aktivacije NF $\kappa$ B (eng. Nuclear Factor Kappa-light-chain-enhancer of activated B cells) signalnog puta. Uloga mikrobioma crijeva u poticanju adaptivnog imunološkog odgovora ostvaruje se primarno kroz indukciju proizvodnje imunoglobulina A i održavanje homeostaze između efektornih i regulatornih T stanica.

Iako mehanizmi takvih potencijalnih učinaka probiotika nisu u potpunosti razjašnjeni, danas smatramo da mikroflora crijeva ne djeluje samo na gastrointestinalni trakt već i na ostale organe, primjerice kožu. Kako bi koža mogla obavljati svoju funkciju zaštite od invazije štetnih patogena i drugih tvari iz okoliša, mora se održavati u stanju homeostaze, na što velik utjecaj ima mikrobiota crijeva. Mikrobiota crijeva pozitivno djeluje na narušenu barijernu funkciju kože smanjujući znakove reaktivne upale kože [6]. Metabolički produkti nastali pregradnjom iz aromatskih aminokiselina smatraju se biomarkerima poremećene homeostaze crijeva, a njihova produkcija izazvana je povećanim prisustvom patogenih bakterija. Spomenuti produkti mogu utjecati na prokrvljenost kože, epidermalnu diferencijaciju kao i na samu hidrataciju kože [7]. Takve promjene dovode do povećane permeabilnosti kože što opet uzrokuje aktivaciju efektornih T stanica i narušava njihov ravnotežni odnos sa imunosupresivnim regulatornim T stanicama. Kao posljedica takvog disbalansa razvijaju se kronične sistemske upalne bolesti kože.

### 1.3. PROBIOTICI

Naziv probiotik dolazi kao izvedenica grčke riječi koja znači „za život“. Probiotici su živi mikroorganizmi koji primijenjeni u odgovarajućoj dozi ostvaruju pozitivan učinak na zdravlje [8]. 2002. FDA/WHO izdala je smjernice koje definiraju probiotike kao žive mikroorganizme, koji kad se konzumiraju u odgovarajućoj dozi, ostvaruju pozitivan učinak na zdravlje te žive u simbiozi sa svojim domaćinom [9].

Početak dvadesetog stoljeća proučavane su enteralne bifido bakterije u liječenju/poboljšanju dijareje. Devedesetih godina dvadesetog stoljeća nobelovac Eli Metchnikoff predložio je uporabu dobrih mikroorganizama u svrhu zamjene loših mikroorganizama i patogena prisutnih u crijevima. 1960. godine priznat je termin „probiotik“ koji su znanstvenici opisali kao supstancu koju sintetiziraju mikroorganizmi i koja promovira rast drugih mikroorganizama.

U organizam probiotike unosimo putem fermentirane hrane, dodataka prehrani i funkcionalne hrane. Poželjno je da su izolati probiotika humanog podrijetla, izolirani iz usne šupljine, GIT-a i fecesa kako bi mogli postići svoj maksimalni učinak.

Mikroorganizmi moraju zadovoljiti određene kriterije kako bi bili uvršteni u grupu probiotika [10]:

- a) kroz gastrointestinalni trakt domaćina prolaze nepromijenjeni,
- b) adheriraju na intestinalne epitelne stanice,
- c) stabiliziraju intestinalnu mikrofloru,
- d) nepatogeni su,
- e) imaju mogućnost preživljavanja u hrani te stabilnost u proizvodnji liofiliziranih pripravaka,
- f) brzo se dijele (umnažaju),
- g) generički su specifični.

Probiotici su sastavom većinom bakterije roda:

- a) *Lactobacillus* (*L. acidophilus*, *L. amylovorus*, *L. brevis*, *L. bulgaricus*, *L. casei*, *L. cellobiosus*, *L. crispatus*, *L. curvatus*, *L. delbrueckii* spp. *Bulgaris*, *L. fermentum*, *L. gallinarum*, *L. helveticus*, *L. johnsonii*, *L. lactis*, *L. paracasei*, *L. plantarum*, *L. reuteri*, *L. rhamnosus*),

- b) *Bifidobacterium* (*B. adolescentis*, *B. animalis*, *B. bifidum*, *B. breve*, *B. essensis*, *B. infantis*, *B. laterosporum*, *B. thermophilum*, *B. longum*),
- c) *Lactococcus* (*L. lactis cremoris*),
- d) *Enterococcus* (*E. faecalis*, *E. faecium*),
- e) *Bacillus* (*B. alcolophilus*, *B. cereus*, *B. clausii*, *B. coagulans*, *B. subtilis*),

te kvasnice roda *Saccharomyces* (*S. cerevisiae*) [10].

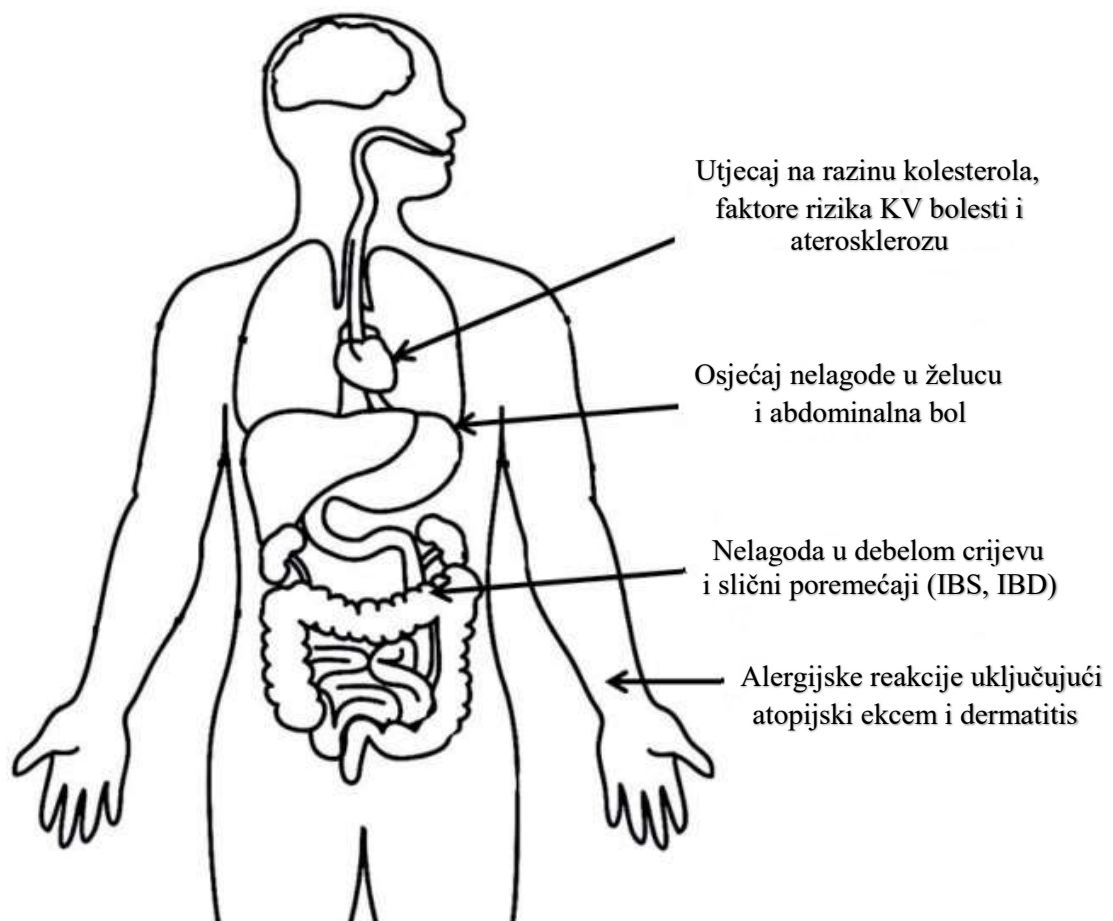
Broj probiotičkih pripravaka na tržištu je velik te je samim time otežan izbor odgovarajućeg pripravka (Tablica 1.). Kod odabira probiotika treba obratiti pozornost na vrstu i soj probiotika ovisno o indikaciji, kako bi se postigao značajan klinički učinak. Naime, samo određene vrste/sojevi ili kombinacije probiotika djelotvorne su kod određenih indikacija. Također, pojedini sojevi probiotika mogu djelovati preventivno što ne znači da će jednako djelotvorni biti i kod liječenja same bolesti. Napretkom istraživanja omogućena je identifikacija probiotika na razini soja što proizvođačima olakšava kontrolu kvalitete u smislu djelotvornosti i sigurnosti, a pacijentima izbor probiotičkog pripravka u smislu specifičnog soja i njegovog pozitivnog učinka na zdravlje.

**Tablica 1.** Neki od komercijalno dostupnih probiotičkih mikroorganizama (prilagođeno prema [10])

PROBIOTIČKI SOJ	IZVOR IZOLACIJE I KOMERCIJALNA PRIMJENA	ZDRAVSTVENE TVRDNJE ILI PRIMJENA
<i>Lactobacillus acidophilus</i> LA-5 i <i>Bifidobacterium animalis</i> ssp. <i>lactis</i> , BB-12	LA-5 izoliran od Chr. Hansen, za proizvodnju probiotičkih dijetalnih pripravaka, većinom formule dječje hrane i dodaci prehrani	LA-5 i <i>Bifidobacterium animalis</i> ssp. <i>lactis</i> BB-12 smanjuju dijareju i konstipaciju kod starijih osoba
<i>Lactobacillus acidophilus</i> NCDO 1748	Izoliran iz humanog ždrijela, koristio se u prehrambenim proizvodima tijekom 1970.-ih <i>Lactobacillus acidophilus</i> NCDO 1748 patentirala je Arla Foods za korištenje u fermentiranim mliječnim proizvodima	Sprječava negativan učinak antibiotika i imobilizira mutagen hrane
<i>Lactobacillus acidophilus</i> NCFM	Izoliran na North Carolina Food Microbiology, korišten u suplementima i fermentiranoj hrani	Održava zdravlje crijeva
<i>Lactobacillus casei</i> Shirota	Izolirao dr. Minoru Shirota na Kyoto Imperial University's School of Medicine i korišten u razvoju fermentiranog mlijeka zvanog Yakult	Pozitivan efekt na kroničnu konstipaciju i sindrom kratkog crijeva
<i>Lactobacillus gasseri</i> OLL2716 (LG21)	Izolirali su ga Wareen i Marshall 1982. u potrazi za zamjenom antibiotika u liječenju <i>H. pylori</i>	Pozitivno djeluje u infekciji <i>Helicobacter pylori</i> i upali želuca
<i>Lactobacillus paracasei</i> spp. <i>paracasei</i> , F19	Izoliran iz zdrave mukoze debelog crijeva, korišten u fermentiranim mliječnim proizvodima npr. Cultura u Švedskoj i Danskoj	Pomaže u održavanju crijevne mikroflore tijekom terapije antibiotikom
<i>Lactobacillus paracasei</i> spp. <i>paracasei</i> , <i>Lactobacillus casei</i> 431	Izoliran iz fecesa zdravog djeteta	Efektivan kod proljeva u dojenčadi i male djece
<i>Lactobacillus rhamnosus</i> GG, LGG	Izoliran iz zdravih ljudskih crijeva, komercijalno dostupan putem Valio u Finskoj	Prevenција i liječenje dijareje uzrokovane antibiotikom ili kao posljedica puta
<i>Lactobacillus rhamnosus</i> GR-1 i <i>Lactobacillus reuteri</i> RC-14	GR-1 izoliran je iz distalne mokraćne cijevi zdrave žene, a RC-14 iz vagine zdrave žene	Značajno poboljšanje u zdravlju ženskog urogenitalnog sustava
<i>Lactobacillus rhamnosus</i> HN001 i <i>Bifidobacterium lactis</i> HN019	Selektirani iz kolekcije kultura New Zealand Dairy Research Institute, plasiran na tržište od Danisco i od Fonterra	Blagotvorno djeluje na gastrointestinalne bolesti i ima pozitivan učinak na zdravlje imunološkog sustava
<i>Bifidobacterium longum</i> BB536	Izoliran iz zdravog djeteta i komercijalno dostupan kao Morinaga Bifidus mlijeko	Imuno stabilizirajuća aktivnost i stabilizacija mikrobiote crijeva

Probiotici se razlikuju prema mehanizmu djelovanja, procesu proizvodnje, kvaliteti i djelotvornosti u pojedinim indikacijama. Istraživanja su potvrdila kako svi probiotici nisu jednako djelotvorni u pojedinim indikacijama i kako je potrebno utvrditi koju vrstu ili soj probiotika preporučujemo u pojedinim indikacijama. Prisustvo kao i nedostatak pojedinih obilježja različitih sojeva iste vrste probiotika može objasniti zašto kod nekih bolesti ostvaruju pozitivan učinak na zdravlje dok kod drugih različitih bolesti pozitivni učinak izostaje.

Najveći broj kliničkih studija usmjeren je na istraživanje njihovih pozitivnih učinaka na bolesti gastrointestinalnog sustava (dijareja, gastroenteritis, IBD, IBS, Chronova bolest), alergijske bolesti, pretilost i intoleranciju na laktozu [10] (Slika 2.)



**Slika 2.** Glavna područja proučavanja utjecaja probiotika na ljudsko zdravlje: smanjenje čimbenika rizika kardiovaskularnih bolesti i alergija; ublažavanje želučanih nelagoda, nelagoda u debelom crijevu, i povezanih sindroma uključujući IBS, IBD, i Chronovu bolest. (prilagođeno prema [10])

Probiotici se većinom preporučuju za liječenje/ublažavanje dijareje bilo da je ona posljedica terapije antibiotikom, infekcije virusom ili bakterijom uz uvjet da su pojedini sojevi različito učinkoviti kod različitih vrsta dijareje. *Saccharomyces boulardii*, *Lactobacillus reuteri* i *Lactobacillus rhamnosus* sojevi su koji se uspješno primjenjuju u prevenciji i liječenju dijareje [11,12].

Navedeni sojevi preporučuju se u pedijatrijskoj populaciji za prevenciju dijareje uzrokovane antibioticima kao i za liječenje akutne dijareje s obzirom na visoku razinu dokaza [12].

*Saccharomyces boulardii* pokazao se učinkovitim u prevenciji dijareje uzrokovane antibioticima kod odraslih pacijenata te sa nešto nižom razinom dokaza kao dopuna eradikacijskoj terapiji *Helicobacter pylori*. Primijenjen zajedno s eradikacijskom terapijom smanjuje njene nuspojave, poboljšava učinak te smanjuje kliničke simptome infekcije [12].

Kod upalnih bolesti, probiotici djeluju na sam imunološki odgovor domaćina koji uključuje proliferaciju stanica, povećanu aktivnost fagocita, IgA i promjenu sastava mikroflore crijeva. Iako su razine dokaza za primjenu probiotika kod upalnih bolesti crijeva niske, probiotici se mogu koristiti kao pomoćna terapija pri čemu ublažavaju simptome bolesti.

Razina dokaza za primjenu probiotika u pacijenata oboljelih od sindroma iritabilnog crijeva trenutačno nije dovoljna, ali primjena probiotika u takvih pacijenata je sigurna i može dovesti do poboljšanja pojedinih simptoma [12].

Probiotici se odlikuju i antialergijskim djelovanjem na način da degradiraju ili strukturno modificiraju enteralni antigen, stabiliziranjem mikroflore, poboljšanjem barijerne funkcije crijeva, regulacijom sekrecije proinflammatoryh medijatora i razvijanjem imunološkog sustava. Studije provedene na animalnim modelima indicirale su na antitumorigenske, antimutagenske i antikancerogene aktivnosti pojedinih sojeva *Lactobacillus* i *Bifidobacterium*.

Spomenuti sojevi imaju sposobnost sinteze maslačne kiseline koja posljedično inhibira proliferaciju i diferencijaciju te induciraju apoptozu tumorskih stanica.

Bakterije mliječne kiseline mogu poboljšati intoleranciju na laktozu tako da povećaju produkciju laktaze, a u slučaju konstipacije luče organske kiseline koje mijenjaju mikrofloru crijeva te povećavaju motilitet crijeva snižavanjem pH. Odlikuje ih povećana sposobnost da toleriraju niske vrijednosti pH, visoke koncentracije žučnih soli i naglašen kapacitet vezanja za stanice crijeva. Većina njihova genoma orjentirana je u iskorištavanju i transportu šećera [13].



Pojedine in vitro studije ukazuju na potencijalne dodatne učinke laktobacila kao što su kompleksiranje kolesterola i dekonjugacija žučnih soli. Navedeni učinci karakteristični su samo za pojedine sojeve, a studije provedene na ljudima su malobrojne i niske kvalitete.

### 1.3.1. PROIZVODNJA PROBIOTIKA

Najčešće korišteni probiotici u komercijalnom svijetu su *Lactobacillus* i *Bifidobacterium* vrste. Krajnji proizvod mora sadržavati što veću koncentraciju živih mikroorganizama (koja se izražava kao CFU), mora biti stabilan i mora imati željeni učinak. Uzorak probiotika koji je pripremljen tako da sadrži čisti soj probiotika i utvrđeno nije kontaminiran, koristi se u ograničenom broju fermentacijskih ciklusa kako bi se dobio očekivani inokularni volumen koji se zatim premješta u glavnu fermentacijsku posudu za rast probiotika. Smrznuti materijal inokuliranog uzorka sa većim brojem stanica može se direktno prenijeti u fermentacijsku posudu za fermentaciju (bez prethodnog fermentiranja). Oba postupka se koriste kako bi se izbjegla pretjerana proizvodnja sojeva i ujedno, genetički pomak. Grijani medij koji se koristi za fermentaciju mješavina je vode, izvora dušika, ugljikohidrata, soli i mikronutrijenata potrebnih za rast probiotika. Fermentacija se izvodi pod kontrolom i nakon što je završena, stanice probiotika od hranjivog medija odvajaju se centrifugiranjem [14].

Tijekom procesa sušenja smrzavanjem (liofilizacije) važno je koristiti citoprotektivna sredstva čiji odabir ovisi o vrsti probiotika kao i ciljanim svojstvima preparata.

Krioprotektanti inhibiraju rast kristala tokom postupka smrzavanja tako što povećavaju viskoznost otopine i samu strukturu leda drže blizu stanice.

Lioprotektanti stabiliziraju lipidnu bilijarnu strukturu stanične membrane probiotika u odsustvu vode. Sam proces liofilizacije kreće smještanjem otopine koncentriranog probiotika i citoprotektiva u limenku koja se dobro zatvara i stavlja u tekuću otopinu dušika i sam koncentrirani izvor probiotika spreman je za distribuciju daljnjem proizvođaču kao i za daljnju obradu. Takav koncentrat može se i peletirati kapanjem kroz kalibrirane rupe u tekuću otopinu dušika gdje nastaju sfere promjera 4-5 mm koje se pakiraju u određenu ambalažu i čuvaju na temperaturi od -45 do -55°C. Nastale sfere mogu se koristiti u procesu liofilizacije. Trajanje procesa liofilizacije ovisi o funkciji soja, formulaciji i samom ciklusu liofilizacije te većinom traje nekoliko dana. Proces liofilizacije osigurava držanje stanica na niskoj temperaturi i ograničava oštećenje stanica te njihovih metabolita. Liofilizirani materijal

obrađuje se u prah definirane veličine čestica i voluminoznosti, te se može pomiješati sa pomoćnim tvarima ili funkcionalnim sastojcima ovisno o potrebi proizvođača. Kapsule, tablete, prašci u vrećicama najčešći su oblik gotovih probiotičkih proizvoda na policama [14].

### **1.3.2. MEHANIZAM DJELOVANJA PROBIOTIKA**

Probiotici svoje učinke ostvaruju putem većeg broja mehanizama. Unosom probiotika održava se ravnoteža crijevne mikroflore (balans između patogenih bakterija i bakterija bitnih za zdravo funkcioniranje organizma). Unosom određenih probiotičkih sojeva može se sanirati disbioza crijeva uzrokovana antibiotskom terapijom i to inhibicijom razvoja patogenih bakterija. Neki probiotički sojevi sintetiziraju vitamine B kompleksa [15]. Do danas su utvrđena četiri glavna mehanizma djelovanja probiotika:

- a) jačanje epitelne barijere,
- b) „kompeticija“ s patogenima prilikom adhezije na epitel i iskorištavanja nutrijenata u debelom crijevu,
- c) produkcija tvari sa direktnim antimikrobnim učinkom,
- d) imunomodulatorni učinci.

#### **1.3.2.1. JAČANJE EPITELNE BARIJERE**

Spomenuti mehanizam jačanja epitelne barijere od iznimne je važnosti u profilaksi i liječenju određenih bolesti jer održava balans intestinalne mikroflore domaćina. Epitel sluznice crijeva u stalnom je kontaktu sa sadržajem crijeva te zbog toga ima izrazito važnu ulogu u zaštiti organizma od čimbenika okoliša. Jednom kad se naruši funkcionalnost crijevne barijere, antigeni hrane i mikroorganizama dolaze u direktan doticaj sa submukoznim slojem crijeva i iniciraju pojavu upalnih procesa. Neke studije smatraju da je jačanje epitelne barijere posljedica jačanja ekspresije gena koji su uključeni u uži signalni put mehanizma održavanja spomenute barijere dok neke pretpostavljaju da sam probiotik može inicirati popravak barijerne funkcije nakon njena oštećenja [15,16]. Dodatno, probiotici mogu pojačati sekreciju mukoznog sloja crijeva te na taj način poboljšati funkciju crijevne barijere i isključiti patogen. Probiotičke bakterije adheriraju se direktno na epitelne stanice i blokiraju patogen, ali i moduliraju imunološki sustav direktno ili indirektno preko stanica epitela. Adheriranjem

probiotika na epitelne stanice dolazi i do kvalitativnih promjena u samoj intestinalnoj sluznici crijeva za što su zaslužne bakterijske komponente probiotika kao i do otpuštanja defensina (mali peptidi i proteini) koji aktivno djeluju u borbi protiv gljivica, bakterija i virusa i stabiliziraju barijernu funkciju crijeva [15,16].

### **1.3.2.2. „KOMPETICIJA“ S PATOGENIMA PRILIKOM ADHEZIJE NA EPITEL I ISKORIŠTAVANJA NUTRIJENATA**

Probiotici koriste svoj mehanizam djelovanja kako bi eliminirali ili smanjili rast patogena boreći se za određen dio receptora smješten u sluznici intestinalnog trakta. Djeluju na nekoliko razina [15,16]:

- a) stvaraju nepovoljnu mikrokolinu (produkcija mliječne kiseline)
- b) eliminiraju dostupna mjesta na određenom receptoru,
- c) sekreciraju antimikrobne peptide i sekundarne metabolite,
- d) iskorištavaju esencijalne nutrijente.

### **1.3.2.3. PRODUKCIJA TVARI SA ANTIMIKROBNIM UČINKOM**

Brojnim in vitro studijama dokazano je da određeni probiotički sojevi proizvode spojeve malih molekularnih masa (<1,000 Da) kao što su organske kiseline i antibakterijske supstance (bakteriocine) veće molekularne mase (>1,000 Da) koji inhibiraju replikaciju patogena [16]. Octena i mliječna kiselina inhibiraju rast Gram (-) bakterija stvaranjem nepovoljne mikrokoline, dok bakteriocini formiraju pore i/ili inhibiraju sintezu staničnog zida patogena. Osim navedenih spojeva, probiotičke bakterije proizvode i de-konjugirane žučne kiseline koje su derivati žučnih soli, a odlikuju se snažnijom antimikrobnom aktivnošću od žučnih soli koje potječu od samog domaćina. Probiotici također produciraju metabolite kao što su benzoična kiselina, metilhidantoin, mevalonolakton i kratkolančane masne kiseline i na taj način mogu inhibirati rast gljivica i bakterija.

#### **1.3.2.4.IMUNOMODULATORNI EFEKT**

Uloga intestinalne mikroflore kao i samih probiotika je održavanje stanja imunološke tolerancije prema vanjskim antigenima, kontrola imunoloških reakcija usmjerenim prema patogenima bilo da se radi o patogenu bakterijskog ili viralnog podrijetla te inhibicija auto-agresivnih i alergijskih reakcija. Probiotici na imunološki sustav mogu utjecati preko metabolita, komponenata staničnog zida i DNA (prepoznatog od strane specijaliziranih stanica domaćina). Probiotske bakterije stupaju u interakciju sa epitelnim i dendritičkim stanicama te sa stanicama imunološkog sustava monociti/makrofagi te limfociti. Primjerice, aktivnost makrofaga stimuliraju komponente staničnog zida probiotičke bakterije nakon čega se povećava sinteza slobodnih radikala kisika i lizosomalnih enzima koji uspješno uništavaju patogene [15,16].

#### **1.3.3. NUSPOJAVE PROBIOTIKA**

Blage nuspojave probiotika u GIT –u najčešće su nadutost, konstipacija, dispepsija, mučnina i abdominalna bol. Potencijalno jače izražene nuspojave primjene probiotika su sistemske infekcije, štetne metaboličke aktivnosti, pretjerana imunološka stimulacija kod potencijalnih pojedinaca i transfer gena [17].

Kako bi se utvrdila sigurnost primjene probiotika mora se ispitati sljedeće:

- a) patogenost,
- b) infektivnost,
- c) faktor virulencije,
- d) toksičnost,
- e) metabolička aktivnost i druge unutarnje karakteristike.

Iako je rizik infekcije u zdravoj populaciji minimalan, posebnu pažnju treba obratiti na osjetljivu populaciju, a to su nedonošćad, trudnice, imunokompromitirani pacijenti, pacijenti koji su na imunosupresivnoj terapiji ili boluju od karcinoma, pacijenti sa transplantiranim organima, pacijenti smješteni na intenzivnoj jedinici liječenja te oni sa kongenitalnim srčanim defektima [17]. Preporuka je da se administracija i sama preparacija probiotika vrši odvojeno od ostalih medicinskih postupaka kako bi se kontaminacija svela na minimum. Najčešće

upotrebljavani sojevi probiotika su sigurni za uporabu, no radi njihove heterogenosti bilo bi poželjno da se ispita sigurnost svakog soja zasebno.

Pojam lateralnog transfera gena je nešto što zabrinjava znanstvenike u smislu sigurnosti probiotika. Primjerice, geni koji su odgovorni za antibiotsku rezistentnost mogu se različitim mehanizmima prenijeti iz jedne vrste bakterije u drugu. Za sada takav proces nije zabilježen, ali treba uzeti u obzir takav prijenos informacija jer se probiotici najčešće preporučuju u kombinaciji s antibiotskom terapijom. Još jedno otvoreno pitanje u pogledu sigurnosti je utjecaj probiotika na okolinu u smislu njihove mogućnosti umnažanja i nepovoljnog djelovanja na okoliš [17,18].

#### **1.3.4. PREBIOTICI**

Dok su probiotici prepoznati kao dobre bakterije koje žive u crijevima i pomažu kod probave hrane i borbi protiv patogenih bakterija, mogući terapijski učinci prebiotika puno su manje istraženi. Prebiotici su definirani kao selektivno fermentirani sastojci koji rezultiraju specifičnim promjenama u sastavu i aktivnosti gastrointestinalne mikrobiote, čime doprinose zdravlju domaćina [19]. Prebiotici su prisutni u voću, povrću i žitaricama, a dodaju se i u funkcionalnu hranu kako bi se povećala njena nutritivna i zdravstvena vrijednost. Najčešće upotrebljavani prebiotici su fruktooligosaharidi, inulin, laktuloza, derivati galaktoze i  $\beta$ -glukani. Prebiotici prolaze kroz gornje dijelove probavnog trakta (želudac i tanko crijevo) nepromjenjeni te u takvom obliku dolaze u debelo crijevo gdje ih fermentiraju saharolitičke bakterije [19]. Sama molekularna struktura prebiotika određuje vrstu mikroorganizama koji će prebiotike koristiti kao izvor ugljika i energije u crijevima. Bitno je napomenuti da prebiotik tokom industrijske obrade hrane mora ostati nepromjenjene strukture kako bi bio pogodan izvor hrane za mikrobiotu crijeva. Fermentacijom prebiotika u crijevima od strane mikrobiote dolazi do povećanog stvaranja kratkolančanih masnih kiselina (koje mijenjaju pH kolona i tako doprinose antimikrobnom djelovanju te ostvaruju i direktne imunomodulatorne učinke), povećava se masa stolice i povećana je apsorpcija kalcija i magnezija. U najvećoj količini nastaju octena kiselina, maslačna kiselina i propionska kiselina. Sam mehanizam djelovanja prebiotika na poboljšanje imunološke funkcije nije još do kraja razjašnjen, ali postoji nekoliko potencijalnih modela:

- a) povećanom produkcijom kratkolančanih masnih kiselina reguliraju aktivnost jetrenih lipogenih enzima,
- b) produkcija kratkolančanih masnih kiselina mijenja acetilaciju histona povećavajući dostupnost brojnih gena za faktore transkripcije,
- c) promjena u sintezi mucina,
- d) povećanje broja limfocita i/ili leukocita u perifernoj krvi i GALT (eng. Gut-Associated Lymphoid Tissue),
- e) stimulacija fagocitne funkcije makrofaga uzrokovana povećanom sekrecijom IgA od strane GALTs.

Prebiotici se mogu konzumirati kroz duži vremenski period (kontinuirano) kao sastavni dio prehrane kao profilaksa i u svrhu održavanja zdravlja crijevne mikroflore i funkcionalnosti crijeva. Međutim sve se češće koriste i u terapijske svrhe u preporučenim dozama, sami ili u kombinaciji s probiotikom. Indikacija za primjenu prebiotika sa najvećom razinom dokaza je smanjenje nepoželjnih učinaka antibiotske terapije (dijareja, osjetljivost na UV zračenje, poremećaj u radu jetre) [13,19].

### 1.3.5. SINBIOTICI

Sinbiotici su ljekoviti oblici koji u svom sastavu sadrže probiotik i prebiotik. Pretpostavka je da osim što se prisutnošću prebiotika u pripravku povećava mogućnost preživljavanja probiotičkog soja, prebiotik će također stimulirati i proliferaciju probiotika (i drugih dobrih bakterija) u crijevu. Probiotik i prebiotik u kombinaciji postižu sinergistički učinak reduciranjem koncentracije nepoželjnih metabolita u crijevima, inaktivacijom nitrozamina i kancerogenih supstancija. Preventivno djeluju na zdravlje crijeva, konstipaciju i dijareju, a istražuje se i njihovo djelovanje vezano uz prevenciju osteoporoze, redukciju razine kolesterola i glukoze u krvi, regulacija imunološkog sustava kao i liječenje poremećaja u nervnom sustavu povezanih sa abnormalnom funkcijom jetre [13].

Najčešće kombinacije sinbiotika na tržištu čine vrste rodova *Lactobacillus* i *Bifidobacterium* sa fruktooligosaharidima (Tablica 2).

**Tablica 2.** Primjeri prebiotika i sinbiotika korištenih u ljudskoj prehrani  
(prilagođeno prema [13])

LJUDSKA PREHRANA	
PREBIOTICI	SINBIOTICI
FOS	
GOS	
Inulin	<i>Lactobacillus</i> vrste bakterija + inulin
XOS	<i>Lactobacillus</i> , <i>Streptococcus</i> i <i>Bifidobacterium</i> vrste bakterija + FOS
Laktitol	<i>Lactobacillus</i> , <i>Bifidobacterium</i> i <i>Enterococcus</i> vrste bakterija + FOS
Laktosukroza	<i>Lactobacillus</i> i <i>Bifidobacterium</i> vrste bakterija + oligofruktoza
Laktuloza	<i>Lactobacillus</i> i <i>Bifidobacterium</i> vrste bakterija + inulin
Sojini oligosaharidi	
TOS	

*FOS-fruktooligosaharidi*, *GOS-galaktooligosaharidi*, *TOS-transgalaktooligosaharidi*,  
*XOS-ksilooligosaharidi*

### 1.3.6. REGULACIJA PROBIOTIKA NA TRŽIŠTU

Broj probiotičkih preparata na tržištu sve je veći. Probiotici su najčešće dostupni u obliku hrane kao mliječni proizvodi te kao dodaci prehrani u obliku kapsula, kapi i prašaka. Većina probiotika prisutnih na tržištu izolirana je iz mikroorganizama koji su prisutni u mikrobiomu zdravih osoba te iz fermentirane hrane čijom je dugotrajnom konzumacijom potvrđena neškodljivost mikroorganizma [20].

Sigurnost, efikasnost, kontrola kvalitete u proizvodnji i regulacija zdravstvenih tvrdnji neki su od regulatornih aspekata koji bi se trebali razmotriti za svaki probiotički pripravak [21].

Kako bi se osigurala djelotvornost probiotičkog pripravka kao i njegov blagotvorni učinak na zdravlje, proizvođač bi, između ostalog, trebao pravilnim označavanjem navesti broj živih bakterija u specifičnoj koncentraciji kao i broj mrtvih bakterija u pripravku. Naime, tijekom procesa proizvodnje mrtve bakterije i njihovi fragmenti ne mogu se odvojiti od živih bakterija što može negativno utjecati na balans imunoloških stanica kod pacijenata sa poremećajem u radu imunološkog sustava.

Regulacija probiotika na tržištu razlikuje se među zemljama. U zemljama Europske unije probiotici i dodaci prehrani podliježu Direktivi i uredbi o prehranbenim proizvodima (uredba 178/2002/EC; direktiva 2000/13/EU). EFSA (European Food Safety Authority) odobrava zdravstvene tvrdnje vezane uz pojedini probiotik. Zasad, EFSA je odbila sve predane zahtjeve koji su se odnosili na zdravstvene tvrdnje za probiotički pripravak. Izdala je QPS (Qualified Presumption of Safety), popis mikrobnih kultura koje su dugotrajnim korštenjem u ljudskoj prehrani dokazale svoju sigurnost i time su oslobođene procjena sigurnosti u odgovarajućim postupcima odobrenja za stavljanje na tržište (izvor hrane ili dodatak prehrani). U Sjedinjenim Američkim Državama većina probiotičkih pripravaka registrirana je kao hrana ili dodatak prehrani i podliježe GMP (Good Manufacturing Practice) smjernicama koje ne obuhvaćaju testiranje djelotvornosti i kvalitete. U usporedbi sa Europom, u SAD-u je dozvoljeno iznošenje funkcionalne i strukturne tvrdnje uz probiotički pripravak uz uvjet da je ona istinita i potkrepljena znanstvenim dokazima, ali uz izjavu FDA (Food and Drug Administration) kojom se ona odriče odgovornosti [22,23,24].

Kako bi svojim članovima osigurali stavljanje u promet djelotvornog i sigurnog probiotičkog pripravka, CRN (Council for Responsible Nutrition) i IPA (International Probiotics Association) izdale su sljedeće smjernice [25]:

1. Preporučeno signiranje pripravaka:

- a) kvantitativna količina probiotika izražava se u CFUs (colony forming units),
- b) izražena količina probiotika odnosi se na količinu živih mikroorganizama do kraja roka valjanosti, a ne na količinu mikroorganizama u trenutku proizvodnje,
- c) signatura mora sadržavati rod, vrstu i soj za svaki probiotik prisutan u pripravku,
- d) pripravak koji sadrži jedan soj probiotika treba na sebi imati naznačenu količinu tog soja u CFUs, a ako se radi o pripravku koji sadrži mješavinu sojeva treba naznačiti ukupnu količinu mješavine tih sojeva u CFUs,
- e) mješavine sojeva dopuštene su prema zakonu o dodacima prehrani i svaki soj iz te mješavine mora biti označen u CFUs silaznim redoslijedom. Ako mješavina soja ili samo jedan soj iz tog pripravka sa sobom nosi određenu tvrdnju, proizvođač mora znanstvenim dokazima potkrepiti samu tvrdnju i količinu soja ili sojeva koja osigurava učinak sukladno navedenoj tvrdnji.



## 2. Preporuke vezane za testiranje stabilnosti:

- a) testiranje stabilnosti trebalo bi se provoditi na istim temperaturnim uvjetima na kojima će se probiotički pripravak skladištiti,
- b) testiranje stabilnosti trebalo bi se provoditi u „real-time“ uvjetima kako bi rezultati opravdali navedeni rok trajanja na proizvodu, a ukoliko se ipak mora koristiti ubrzano testiranje sam postupak mora se znanstveno opravdati i dokumentirati,
- c) konačan proizvod i njegova ambalaža također prolaze kroz test stabilnosti u uvjetima koji su prisutni na tržištu i moraju biti potvrđeni valjanim znanstvenim dokazima,
- d) konačan proizvod mora sadržavati 100% količinu probiotika ispisanog na signaturi pripravka do kraja roka valjanosti,
- e) metode testiranja stabilnosti moraju biti znanstveno utvrđene, ponovljive i reproducibilne.

## 3. Uvjeti skladištenja

Probiotici su osjetljivi na temperaturne promjene i vlagu što dodatno ovisi o samom soju, podlozi formulacije, dozirnom obliku i samoj ambalaži pripravka. Proizvođač mora odrediti uvjete skladištenja samog pripravka sukladno formulaciji i pakiranju. Upute se trebaju bazirati na već dostupnim podacima i iskustvu uzimajući u obzir uvjete kroz koje proizvod prolazi od samog skladištenja kod proizvođača pa do potrošača.

## **2. CILJ ISTRAŽIVANJA**

Cilj ovog rada je pregledom dostupne znanstvene i stručne literature utvrditi mogućnosti oralne i topikalne primjene probiotika u očuvanju zdravlja kože te njihovu primjenu u prevenciji i liječenju kožnih bolesti s posebnim osvrtom na učinkovitost pojedinih probiotičkih vrsta odnosno sojeva te preporučene doze i trajanje terapije potrebno za postizanje klinički značajnih učinaka.

### **3. MATERIJALI I METODE**

Za potrebe ovog rada korištene su dostupne meta-analize, pregledni radovi i pojedinačne kliničke studije dobivene pretraživanjem vjerodostojnih baza podataka: PubMed (Medline), Scopus, Embase i Cochrane Library prema ključnim riječima (i njihovim kombinacijama): *acne, atopic dermatitis, control of quality, dermatology, microbiom, prebiotics, probiotics, psoriasis, rosacea, skin reactivity, stability testing, topical probiotic.*

## 4. RASPRAVA

### 4.1. MIKROBIOM KOŽE

Mikrobiom kože sastoji se većinom od bakterija, virusa, gljivica, arheja i mikroeukariota čiji sastav i količina variraju ovisno o dobi domaćina, spolu, klimi, higijeni, primjeni antibiotika te ostalim faktorima okoline [26,27]. Mikrobiološki disbalans može dovesti do razvoja određenih bolesti/infekcija kože no rezidentni mikrobi koji „žive“ na koži mogu pomoći u aktiviranju imunološkog sustava i na taj način održati homeostazu [28].

Napretkom tehnologije sastav mikrobioma kože i njegova uloga u moduliranju imunološkog odgovora bolje su istraženi. U posljednje vrijeme na mikrobiom kože često se gleda kao na potencijalno dijagnostičko, prognostičko i/ili terapijsko oruđe. Recentnim metodama DNA sekvenciranja može se preciznije i relativno brzo analizirati sastav mikrobioma kože. Pojednostavljeno, sekvenciraju se male podjedinice mikrobnog 16S ribosomskog RNA gena, a onda se specifične sekvence pojedine vrste uspoređuju sa referentnom bazom podataka kako bi se utvrdila vrsta bakterije (slično sekvenciranje vrši se i na gljivicama ali na 18S i 5,8S ribosomskom RNA genu) [29,30].

*Actinobacteroides*, *Proteobacteroides*, *Firmicutes* i *Bacteroidetes* četiri su najdominantnija roda bakterija koja obitavaju na našoj koži dok su *Propionibacterium*, *Staphylococcus* i *Corynebacterium* rodovi bakterija čija je zastupljenost na pojedinom djelu kože promjenjiva s obzirom na uvjete uzrokovane radom žlijezda znojnica i lojnica.

Tako su pojedina područja kože bogata sebumom (lice, leđa, područje iza ušiju) sklonija koloniziranju lipofilnih *Propionibacterium* vrsta. Na vlažnom području kože i vanjskom djelu lakta i stopala dominiraju *Corynebacterium* i *Staphylococcus* vrste. Gljivice *Malassezia* vrste prevladavaju na trupu tijela kao i na rukama, dok je kolonizacija kože stopala raznolikija i uključuje kombinaciju nekoliko vrsta gljivica roda *Malassezia*, *Aspergillus*, *Cryptococcus*. Kako bi preživjela uvjete na koži, rezidentna mikrobiota se prilagodila koristeći proteine i lipide dostupne iz znoja, sebuma i rožnatog sloja kože. *Propionibacterium acnes* pomoću proteaze razgrađuje proteine prisutne u koži i dovodi do oslobađanja aminokiselina dok pomoću lipaze razgrađuje sebum i posljedično povećava razine kratkolančanih masnih kiselina. *Malassezia* i *Corynebacterium* vrste nemaju sposobnost da proizvode svoje lipide pa ih iskorištavaju iz sebuma i rožnatog sloja kože. *Staphylococcus* vrste razvile su otpornost na

povećanu koncentraciju soli tako da mogu iskoristiti ureu, sastavni dio znoja kao izvor dušika [30].

„*In utero*“ koža je sterilna, ali nakon rođenja dolazi do kolonizacije mikroorganizama kako bi se razvio jedan kompleksni mikrobní ekosustav u homeostazi sa domaćinom. Kožu novorođenčadi rođene vaginalnim putem koloniziraju će bakterije prisutne u vagini dok će kožu novorođenčadi rođene carskim rezom kolonizirati bakterije prisutne na koži majke.

Do značajne promjene u mikrobiomu kože dolazi tokom puberteta kada se zbog povećanih razina hormona žlijezde lojnice stimuliraju i proizvode veću koncentraciju sebuma što dovodi do povećane kolonizacije lipofilnih mikroorganizama u odnosu na mikrobiom kože djece u pred pubertetskom razdoblju gdje dominiraju *Firmicutes*, *Bacteroidetes* i *Proteobacteria* vrste.

Na stabilnost i funkciju mikrobioma kože osim faktora domaćina utječe i interakcija između mikroorganizama. Mikroorganizmi mogu djelovati sinergistički te ostvariti zajedničku dobrobit ili natjecateljski kako bi jedan drugog isključili.

#### **4.1.1. PROMJENA MIKROBIOMA KOŽE U ATOPIJSKOM DERMATITISU**

Atopijski dermatitis česta je upalna bolest kože koja pogađa 15-20% djece i 1-3% odrasle populacije diljem svijeta [31]. Atopijski dermatitis kompleksna je i heterogena bolest koju karakteriziraju promjene u sastavu kožne barijere i narušen imunitet kože, a manifestira se intenzivnom suhoćom kože, pruritisom, eritemom i nastankom ljuskavih lezija na pregibima. Bolest je multifaktorijalna, a nastanku doprinose različiti faktori okoliša (izlaganje specifičnim patogenima, pretjerana higijena, primjena antibiotika itd.) i genetska predispozicija. Atopijski dermatitis karakterizira disbalans imunološkog odgovora kojeg karakterizira pomak prema Th2 (eng. T helper type 2) imunološkom odgovoru te posljedično pojačanom odgovoru IgE (Imunoglobulin E) prema alergenima. U posljednje vrijeme, pojavnost atopijskog dermatitisa povezuje se sa zdravljem crijevnog mikrobioma. Pogoršanje bolesti može biti potaknuto virusnim infekcijama, alergijom na određenu vrstu hrane (jaja, mlijeko, kikiriki, soja, orašasti plodovi, školjkaši, riba, pšenica), korištenjem kozmetičkih proizvoda i promjenom godišnjeg doba.

„Atopijski marš“ pojam je koji se često veže uz atopijski dermatitis, a označava tendenciju razvoja ostalih atopijskih bolesti kao što su alergije na hranu, astma i alergijski rinitis kod pacijenata koji boluju od atopijskog dermatitisa [31].

Primjena antibiotika, pretjerana higijena, promjene u pH vrijednosti kože samo su neki od faktora koji mogu narušiti ravnotežu mikrobioma kože. Disbioza u mikrobiomu kože pogoduje kolonizaciji patogenih bakterija i smanjuje raznolikost bakterijskih vrsta. U gornjem sloju kože atopičara utvrđena je korelacija između kratkolančanih slobodnih masnih kiselina i povećane kolonizacije bakterija *Cutibacterium* i *Corynebacterium* vrsta (dugolančane masne kiseline prepoznate su kao potencijalni inhibitor bakterijskog rasta u in vitro studijama) [32].

Koža atopičara visoko je kolonizirana *S. aureusom* što smanjuje bakterijsku raznolikost na samoj površini kože, a time se mjenja i sama patogeneza bolesti te njen fenotip [33]. Sam patogen promovira upalne i alergijske promjene na koži putem nekoliko mehanizama. Otpušta  $\alpha$ -toksin koji u epidermi formira pore u keratinocitima, proteaze koje „otapaju“ rožnati sloj kože i fenol-topljive module (PSM- $\alpha$  i PSM- $\beta$ ) koji potenciraju aktivaciju neutrofila i mastocita. U konačnici *S. aureus* ometa proteolitički balans u koži producirajući različite ekstracelularne proteaze i povećavajući produkciju serin proteaza u keratinocitima te produkciju metaloproteaza u dermalnim fibroblastima što dovodi do ometanja barijere kože. Filagrin je gradivni protein bitan za razvoj i održavanje fizičke barijere kože. Nedostatak filagrina, kao jedan od potencijalnih uzroka ove bolesti, dovodi do deformacije korneocita i povišenja pH kože koji pogoduju rastu *S. aureus*. Na koži atopičara potvrđena je aktivnost serin proteaza koje mjenjaju obradu filagrina i povećavaju aktivnost proteaza aktiviranog receptora 2 (PAR-2) in vitro što dodatno dovodi do narušavanja barijere kože. Nedavne studije ukazale su na pojedine sojeve koagulaza-negativnog stafilokoka koji proizvodnjom antimikrobnih tvari može biti koristan za domaćina i očuvati ravnotežu u mikrobiomu kože [33,34,35].

*Staphylococcus epidermidis* i *Staphylococcus hominis* bakterije su koje sintetiziranjem antimikrobnih tvari sudjeluju u inhibiciji rasta *S. aureus*. Određeni sojevi *Staphylococcus epidermidis* mogu proizvesti serin proteaze koje uništavaju biofilm *S. aureus* koji se često nalazi na lezijama kože. Trenutačni dokazi ukazuju da pojedini sojevi prisutni u mikrobiomu kože mogu zaštititi domaćina od štetnog djelovanja mikrobnih patogena [35].

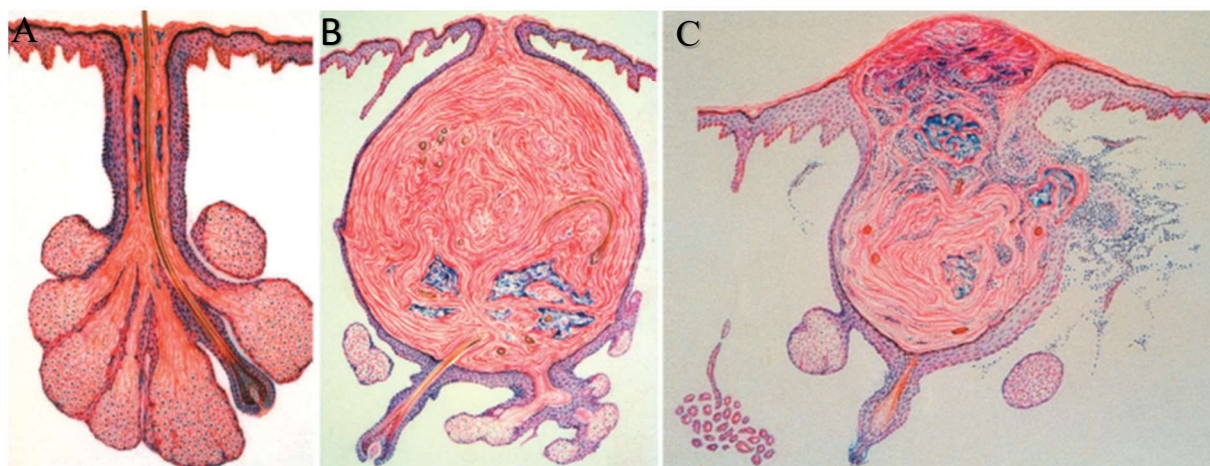
#### 4.1.2. PROMJENA MIKROBIOMA KOŽE KOD AKNI

Akne su kronična upalna bolest kože koja obuhvaća pilosebacealnu jedinicu, a prisutna je u više od 90% tinejdžera i rezultira brojnim negativnim psihološkim (anksioznost, sram, psihosomatski simptomi) i fiziološkim učincima (svrbež, bol) [36]. Rasprostranjenost akni u korelaciji je sa gustoćom rasporeda pilosebacealnih jedinica stoga je najveći broj akni smješten po licu, vratu, gornjem djelu prsa, ramenima i leđima.

Četiri su glavna mehanizma nastanka akni:

- a) inflamatorni medijatori prisutni u stanicama kože,
- b) proces keratinizacije koji vodi do stvaranja komedona,
- c) povećana produkcija sebuma pod kontrolom androgena,
- d) folikularna kolonizacija *Propionibacterium acnes*.

Klinička slika rezultira seborejom, neinflamatornim (mikrokomedoni, komedoni) i inflamatornim lezijama (papule, pustule, nodule i ciste) (Slika 3), a u nekim slučajevima nastaju i ožiljci.



**Slika 3:** Zdrav sebacealni folikul (A) i komedon (B), i upaljena lezija akne sa rupturom folikularnog zida i sekundarnom upalom (C). (prilagođeno prema [36])

Genetika, emotivno stanje, i menstrualni ciklus samo su neki od faktora koji mogu pogoršati/uzrokovati akne. Stanja emotivnog stresa utječu na fiziologiju i bakteriologiju

gastrointestinalnog trakta te posljedično uzrokuju povećanje permeabilnosti crijeva koje može dovesti do sistemskih i lokalnih kožnih upala.

Povećana produkcija sebuma i inflamatornih medijatora kože te folikularna keratinizacija pilosebacealnih vodova dovode do nastanka akni te pogodovanja u kolonizaciji *Cutibacterium acnes* i *Staphylococcus epidermidis*. *Cutibacterium acnes* čini više od 90% mikrobiote na područjima kože bogate sebumom, posebice u razdoblju od puberteta do odrasle dobi, a nakon pedesete godine ta razina opada. Iako uloga *Cutibacterium acnes* u patofiziologiji nastanka akni ostaje nerazjašnjena, kao komenzal mikrobioma kože održava niski pH kože i sprječava koloniziranje kože patogenima. *C. acnes* mogu djelovati kao patogen ovisno o soju i okolini te je predloženo nekoliko modela prema kojima bi ta vrsta mogla izazvati pogoršanje navedene bolesti:

- a) povećana lipogeneza (stimulacija sebocita na sintezu lipidnih kapljica i triglicerida),
- b) formiranje komedona (aktivacija IGF-1/IGF-1 (eng. Insulin-like growth factor) receptora signalizirajućeg puta koji reguliraju ekspresiju filagrina, a posljedično proliferaciju i diferencijaciju keratinocita te formiranje komedona),
- c) upalni proces kod domaćina (aktivacija TLR-2 i TLR-4 (eng. Toll-like receptors) na keratinocitima što dovodi do aktivacije MAPK (eng. Mitogen-activated protein kinase) i NF $\kappa$ B signalnih puteva).

*C. acnes* potiče upalu tako što indukcijom humanog  $\beta$ -defenzina 2 preko neutrofila aktivira imunološki odgovor Th1 stanica. Kolonizacija *C. acnes* dovodi do povećane proizvodnje TLR2 u keratinocitima kao i povećanu produkciju proinflamatornih citokina i antimicrobnih peptida. Keratinociti proizvode interleukin-1, interleukin-6, interleukin-8, TNF- $\alpha$  (eng. Tumor necrosis factor), GM-CSF (eng. Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor), humani  $\beta$ -defenin-2 i matriks metaloproteinaze. CD-36 prepoznaje *C. acnes* i stimulira keratinocite na proizvodnju reaktivnih kisikovih spojeva kako bi došlo do uništenja patogena, a posljedično i do upalnog odgovora. Sebocitni i monocitno/makrofagni TLR-2 također prepoznaje *C. acnes* i aktivira NF $\kappa$ B signalni put, proizvodnju inflamatornih citokina interleukina-8 i interleukina-12. *C. acnes* inducira adaptivni imunološki odgovor koji potiče CD4<sup>+</sup> T limfocite i mononuklearne stanice periferne krvi na sekreciju interleukina-6, interleukina-1 $\beta$  i, TGF- $\beta$ , a kao posljedica navedenih procesa javlja se nadreguliranost interleukina-17 i interferona- $\gamma$  [37,38].



Analizom mikroflore kože pacijenata koji boluju od akni utvrđena je smanjena biosinteza vitamina B12 kod *C. acnes* što dovodi do povećane produkcije proinflamatornih metabolita porfirina u odnosu na sojeve *C. acnes* koji su prisutni u mikroflori zdrave kože. Dominantni sojevi *C. acnes* prisutni na koži pacijenata koji boluju od akni izražene su virulencije i otpornosti na antibiotsku terapiju. Jedan od patogenih mehanizama djelovanja je i stvaranje biofilma na površini kože, sastavljenog od ekstracelularnih polimeričnih supstancija čija strukturalna svojstva pružaju otpor antibiotskoj terapiji i upalnim stanicama domaćina.

Iako je najviše istraživanja usmjereno prema *C. acnes* kao najpoznatijem uzročniku nastanka akni, mikrobiom kože koloniziran je i ostalim bakterijama koje mogu indirektno doprinjeti upalnom procesu (Tablica 3.) Neke studije ukazuju na *Staphylococcus epidermidis* kao bakterijsku vrstu koja ne sudjeluje samo u infekcijama već i štiti od potencijalnih patogena svojom antimikrobnom aktivnošću. *S. epidermidis* sudjeluje u sprečavanju nastanka akni proizvodnjom antimikrobnih peptida, sukcinčne kiseline, polimorfnih toksina i lipoteikoične kiseline. Sukcinična kiselina i polimorfni toksini inhibiraju rast *C. acnes*. dok lipoteikoična kiselina posljedično blokira TLR-2 ekspresiju u keratinocitima.

**Tablica 3:** Mikrobiota kože i crijeva pacijenata koji boluju od akni u usporedbi sa kontrolama zdravih osoba (prilagođeno prema [37])

ZNAČAJNE PROMJENE U MIKROFLORI KOŽE	ZNAČAJNE PROMJENE U MIKROBIOTI CRIJEVA
↑ <i>Cutibacterium acnes</i>	↑ <i>Bacteroides</i>
↑ <i>Cutibacterium granulosum</i>	
↑ <i>Staphylococcus epidermidis</i>	
↑ <i>Proteobacteria</i> i <i>Firmicutes</i>	
↑ <i>Actinobacteria</i>	
↑ <i>Streptococcus</i> (pre-adolescenti)	
↑ <i>Malassezia</i> vrste	

U pacijenata koji boluju od akni pronađena je vrsta *Cutibacterium granulosum* koja je u većoj količini prisutna u komedonima i pustulama. Radi se o vrsti bakterije koja ima jače izraženu virulenciju u odnosu na *C. acnes*, no potrebna su daljnja istraživanja kako bi se utvrdila njena točna uloga u nastanku akni kao i u održavanju homeostaze mikrobioma. *Malassezia* vrste (*M. restricta*, *M. globosa*) pojavljuju se u većoj količini kod refraktornih akni. Njihova aktivnost

lipaze sto puta je veća u odnosu na lipazu *C. acnes*. *Malassezia* vrste povećanom hidrolizom sebuma uzrokuju hiper-keratinizaciju folikula dlake i formaciju komedona kao i otpuštanje pro inflamatornih citokina iz monocita i keranocita [39,40].

#### 4.1.3. PROMJENA MIKROBIOMA KOŽE U PSORIJAZI

Psorijaza je kronična upalna bolest kože čija je patogeneza nedovoljno razjašnjena. Disbalans u imunološkom sustavu, povećana produkcija medijatora upale, genetska predispozicija i faktori okoline glavni su uzročnici navedene bolesti. Na koži psorijatičara prisutni su uzdignuti eritematozni plakovi najčešće smješteni na koljenima, laktu i vlasištu. Psorijaza može biti inducirana i patogenima kao što su bakterije (*Streptococcus pyogenes*, *Staphylococcus aureus*), virusima (HPV, endogeni virusi) i gljivicama (*Candida albicans*, *Malassezia* vrste). Razvoj psorijaze povezan je sa razvojem kroničnih bolesti primjerice gastrointestinalnim upalama, artritisom, srčanim bolestima, dijabetesom, metaboličkim sindromom i celijakijom što se može povezati sa disbiozom mikrobiote crijeva [41,42].

Teško je utvrditi jesu li promjene u mikrobiomu uzrok psorijaze ili su posljedica upalnih promjena koje se reflektiraju na sastav mikrobioma. Usporedbom mikrobioma kože psorijatičara i zdravih pojedinaca, mikrobiom kože psorijatičara odlikuje se manjom raznolikošću vrsta mikroorganizama no nisu utvrđene značajne razlike u samoj vrsti prisutnih mikroorganizama. Bakterije roda *Streptococcus* i *Staphylococcus* u većoj su količini zastupljene na koži psorijatičara u odnosu na bakterije roda *Corynebacterium* i *Cutibacterium*. Povećana kolonizacija *Streptococcus pyogenes* istraživana je u kapljičnoj i kroničnoj plak psorijazi. Streptokokni superantigeni zajedno sa aktiviranim T stanicama uzrokuju otpuštanje IL-1 i TNF $\alpha$  što može doprinjeti pogoršanju psorijaze. Analizom psorijatičnih lezija utvrđena je prisutnost četiri specifična soja *Staphylococcus epidermidis* čiji superantigeni vjerojatno sudjeluju u formiranju psorijatičnih lezija. Stafilokokni enterotoksin B i TSST-1 (eng. Toxic shock syndrome toxin) mogu također pojačati razvoj upalnih reakcija u koži psorijatičara. *Malassezia* vrste potiču migraciju imunoloških stanica i hiperproliferaciju keratinocita te se njihova povećana koncentracija na lezijama kože psorijatičara može povezati sa pogoršanjem psorijaze [43,44,45].

#### 4.1.4. PROMJENA MIKROBIOMA KOŽE U ROZACEI

Rozacea je kronična upalna bolest kože koja se javlja najčešće između 30. i 50. godine života te češće pogađa žene i osobe svjetlije puti. Neki od potencijalnih uzroka nastanka ove bolesti su oslabljen imunitet, vaskularne promjene, disfunkcija neurona, izloženost UV zračenju, gastrointestinalni problemi, genetička predispozicija i infekcija mikroorganizmima. Rozacea primarno zahvaća obraze, bradu, nos i čelo. Očituje se perzistentnim crvenilom lica, papulama, pustulama i teleangiektazijama. Barijerna funkcija kože prilično je narušena što rezultira povećanim transepidermalnim gubitkom vode pa, koža postaje suha, sklona ljuštenju i osjetljiva. Alkohol, pušenje, vruća pića, začinjena hrana, stres i UV zračenje neki su od faktora koji mogu pogoršati postojeće stanje bolesti [46].

Prve studije koje su bile usmjerene na otkrivanje uloge mikroorganizama u patogenezi rozacee proučavale su infekciju pacijenata sa *Helicobacter pylori* no rezultati su bili kontradiktorni [39]. Koža pacijenata koji boluju od papulopustularne rozacee suha je i niske pH vrijednosti sa normalnom razinom sebuma, ali različitim omjerom masnih kiselina. Takva koža sklona je epizodama crvenila što dovodi do povećanja temperature na koži, a posljedično i do promjene u mikrobiomu kože. Navedeni uvjeti pogoduju kolonizaciji *Staphylococcus epidermidis* vrste koja iz komenzalne bakterije prelazi u patogenu producirajući određene proteine pod utjecajem visoke temperature.

Pretpostavlja se da je u samu patogenezu bolesti uključena i *Demodex* grinja koja je inače prisutna u mikrobiomu kože. Povećanom brojnošću *Demodex folliculorum* vrste u papulopustularnom tipu rozaceje dolazi do rupture folikula i posljedično lokalne upale. Bakterija vrste *Bacillus oleronius*, prisutna u probavnom sustavu *Demodex* grinje također bi mogla biti povezana sa aktivacijom upalnih promjena prisutnih u pacijenata koji boluju od rozacee [39,47].

## **4.2. ORALNA PRIMJENA PROBIOTIKA KOD KOŽNIH BOLESTI**

S obzirom na sigurnost i djelotvornost probiotičkih pripravaka, budućnost oralne probiotičke terapije u dermatologiji je obećavajuća iako je, za sada, primjena ograničena. Većina do sada provedenih istraživanja usmjerena je na prevenciju i liječenje atopijskog dermatitisa, a u nešto manjoj količini na ostale upalne bolesti kao što su psorijaza, akne i rozacea. Primjenu probiotika u navedenim bolestima potrebno je dodatno istražiti što kvalitetnijim kliničkim studijama.

Najčešće indikacije za primjenu oralnih probiotičkih pripravaka u dermatologiji, prema postojećim smjernicama, su prevencija ekcema i ublažavanje simptoma/liječenje atopijskog dermatitisa u pedijatrijskoj populaciji [48,49]. Razine dokaza o učinkovitosti u prevenciji navedenih bolesti su zadovoljavajuće, dok se indikacija za liječenje mora utvrditi dodatnim studijama.

### **4.2.1. ORALNA PRIMJENA PROBIOTIKA KOD ATOPIJSKOG DERMATITISA**

Brojna istraživanja ukazala su na promjenu sastava crijevne mikrobiote kao na jedan od uzroka nastanka atopijskog dermatitisa i alergijskih reakcija. Glavnim uzrokom nastanka atopijskog dermatitisa smatra se pretjerana higijena koja narušava ravnotežu mikrobioma kože što dovodi do pomaka u imunološkom sustavu prema Th2-tipu alergijskog odgovora [50,51].

*Lactobacillus* i *Bifidobacterium* sojevi najčešće su korišteni u studijama u kojima se ispituje njihovo djelovanje u prevenciji nastanka i liječenju atopijskog dermatitisa (Tablica 4.). Većina studija odnosi se na pedijatrijsku populaciju, a nešto manji broj na odrasle pacijente. Brojni faktori uključeni u kliničke studije (kriteriji za uključivanje pacijenata, trajanje studije, korišteni sojevi, doza) mogu utjecati na različite rezultate pojedinih studija.

U nekoliko studija istraživana je učinkovitost kombinacija prenatalne i postnatalne suplementacije probioticima u svrhu prevencije nastanka/liječenja atopijskog dermatitisa u dojenčadi i djece. Rezultati studija potvrdili su kako korištenje probiotičkih pripravaka u prvih šest mjeseci života značajno smanjuje pojavnost atopijskog dermatitisa u dojenčadi dok uzimanje probiotika nakon prve godine djetetova života dovodi do smanjenja djelotvornosti

probiotičkog pripravka u prevenciji [52-56]. Probiotički pripravci najčešće su sadržavali kombinacije bakterija *Lactobacillus* i *Bifidobacterium* roda. Iako sam mehanizam nastanka bolesti nije do kraja razjašnjen, smatra se da *Lactobacillus* i *Bifidobacterium* vrste utječu na imunološki sustav preko TLR koji su identificirani kao bitan faktor u redukciji rizika imunološki povezanih bolesti i održavaju ravnotežu crijevne mikroflore [52-56]. *Lactobacillus rhamnosus* i *Lactobacillus paracasei* pokazali su se učinkovitijima u usporedbi sa *Lactobacillus reuteri* i *Lactobacillus acidophilus* u prevenciji nastanka atopijskog dermatitisa kod dojenčadi i djece [52-56].

Enomoto i sur. [52] u svoju su studiju uključili trudnice i njihovu dojenčad do šestog mjeseca starosti. Trudnice su uzimale probiotik mjesec dana prije poroda, a njihova dojenčad od prvog tjedna pa do šestog mjeseca života. Izbor probiotika temeljio se na prijašnjim studijama koje su proučavale njihovo antialergijsko djelovanje na animalnim modelima. Korištena kombinacija probiotika sastojala se od kombinacije *Bifidobacterium longum* BB536 i *Bifidobacterium breve* M-16V. Rezultat provedene studije potvrdio je značajno smanjen rizik u razvoju ekcema/atopijskog dermatitisa dok se taj rezultat nije mogao primjeniti za alergijsku astmu, alergijski konjunktivitis i alergijski rinitis jer je mogućnost nastanka ovih bolesti u toj dobi veoma mala. Primjećena je i razlika u sastavu mikrobiote crijeva u trudnica prije i nakon poroda koja je u korelaciji sa njihovom dojenčadi [53-55]. Slična studija provedena na trudnicama i njihovoj dojenčadi do šestog mjeseca starosti nije potvrdila preventivni učinak probiotika u nastajanju ekcema ili reduciranju njegovih simptoma [56]. Divergentna mikrobiota i karakteristično više razine *Bifidobacterium dentium* detektirane su u novorođenčadi starosti deset dana koja su razvila atopijski dermatitis iako su uzimala probiotik [57-60]. Perinatalna suplementacija probioticima pokazala se dobrim izborom u redukciji kumulativne incidencije AD, ali ne i ostalih povezanih alergijskih bolesti u predškolskom razdoblju djeteta. Nekoliko studija uspoređivalo je djelotvornost svakog soja posebno, a zatim kombinaciju više sojeva radi boljeg učinka same terapije [58]. Najbolji učinak probiotika u svrhu prevenciju pojave atopijskog dermatitisa postiže se primjenom od najranije dobi djeteta iako neke studije ukazuju da učinak probiotika ovisi i o mikrobioti samog domaćina.

U gotovo svim studijama koje su proučavale djelotvornost probiotičkih pripravaka u liječenju atopijskog dermatitisa djece i odraslih, došlo je do poboljšanja u vrijednosti SCORAD (eng. Score of atopic dermatitis) indeksa, ali nije potvrđena njihova djelotvornost u liječenju same bolesti. Kombinacija različitih sojeva roda *Lactobacillus* pokazala se boljim izborom negoli

prepravci sa sojevima roda *Bifidobacterium* kod kojih je djelotvornost izostala [59]. Potencijalna djelotvornost probiotika u liječenju atopijskog dermatitisa iskazala se boljim izborom u odrasloj populaciji i u djece između druge i trinaeste godine života, dok je u dobi djece od rođenja do druge godine života taj učinak izostao.

*Lactobacillus salivarius* prepoznat je kao soj čiji unos smanjuje simptome alergijskih reakcija kod djece koja boluju od AD djelujući na Th1 odgovor, povećava produkciju CD4+ limfocita, IL-12 i IL-10 te mjenja sastav mikrobiote crijeva [61-63]. Drago i sur. [61] proveli su studiju u dvije faze kojom su dokazali pozitivan učinak *L. salivarius* LS01 na klinički i imunološki status atopičara kao i na sam rebalans crijevne mikroflore. U studiji su sudjelovale odrasle osobe sa umjereno do jače izraženim simptomima atopijskog dermatitisa. U ispitivanju su korištena tri soja *L. salivarius* (*BNL1059*, *LDR0723* i *RGS1746*) izolirana iz fecesa zdravih osoba. Tokom studije utvrđeno je da soj *LDR0723* znatnije potencira produkciju IFN- $\gamma$  i IL-12 u odnosu na ostala dva soja, dok smanjuje produkciju IL-4. Nakon četiri mjeseca primjene probiotičkog pripravka, kod ispitanika dolazi do smanjenja vrijednosti u SCORAD indeksu kao i do promjene sastava crijevne mikrobiote, naime smanjena je prisutnost stafilokoka u stolici.

Odgovarajuća doza probiotika uz prikladan prebiotik trebala bi doprinjeti još boljoj učinkovitosti. U tu svrhu, Passeron i sur. [64] u svojoj su studiji primjenili kombinaciju *Lactobacillus rhamnosus* *Lcr35* sa prebiotikom koji se sastojao od praha obranog mlijeka, goveđeg proteina, laktoze, krumpirovog škroba i laktoze na pacijentima u dobi od 2-12 godina koji boluju od atopijskog dermatitisa. Utvrđeno je poboljšanje simptoma u obje grupe iako nije dokazana superiornost sinbiotika u odnosu na prebiotik koji je u ovoj studiji služio kao kontrolna grupa.

Iako su se probiotici pokazali djelotvornima u smanjenju učestalosti pojave atopijskog dermatitisa [65-70], potrebna su daljnja istraživanja kako bi se utvrdilo njihovo djelovanje na samu težinu bolesti. Primjena probiotika pokazala se djelotvornijom u prevenciji negoli u liječenju atopijskog dermatitisa.

**Tablica 4.** Prikaz kliničkih studija o učinkovitosti oralno primjenjenih probiotika u prevenciji/liječenju atopijskog dermatitisa

	SUDIONICI	PROBIOTIK/DOZIRANJE	VRSTA STUDIJE	TRAJANJE STUDIJE	REZULTAT
<b>PREVENCIJA ATOPIJSKOG DERMATITISA</b>					
[52]	166 trudnica i njihova dojenčad do 6. mjeseca starosti	<p><b>Perinatalna suplementacija</b>  <i>Bifidobacterium longum</i> BB536 +  <i>Bifidobacterium breve M-16V</i> =                      5x10<sup>9</sup> CFU                      2x dnevno</p> <p><b>Postnatalna suplementacija</b>  <i>Bifidobacterium longum</i> BB536 +  <i>Bifidobacterium breve M-16V</i> =                      5x10<sup>9</sup> CFU                      1x dnevno</p>	R-DS-PK	7 mjeseci (1 mjesec perinatalna suplementacija + 6 mjeseci postnatalna suplementacija)	Pozitivan učinak u primarnoj prevenciji alergijskih bolesti
[53]	232 trudnice i 188 dojenčadi do 12. mjeseca starosti	<p><b>Perinatalna/postnatalna suplementacija</b>  <i>Lactobacillus reuteri</i>                      1x dnevno                      1x10<sup>8</sup>CFU</p>	R-DS-PK	13 mjeseci (1 mjesec perinatalna suplementacija+12 mjeseci postnatalna suplementacija)	Slična učestalost pojave AD u obje grupe, smanjena konc. IgE povezana s AD u grupi koja je uzimala probiotik
[54]	454 trudnice i njihova dojenčad do 6. mjeseca starosti	<p><b>Perinatalna/postnatalna suplementacija</b>  <i>Lactobacillus salivarius</i> CUL61                      6,25x10<sup>9</sup> CFU +  <i>Lactobacillus paracasei</i> CUL08                      1,25x10<sup>9</sup> CFU +  <i>Bifidobacterium animalis</i> subsp. lactis CUL34                      1,25x10<sup>9</sup> CFU +  <i>Bifidobacterium bifidum</i> CUL20                      1,25x10<sup>9</sup> CFU 1x dnevno</p>	R-DS-PK	7 mjeseci (1 mjesec perinatalna suplementacija + 6 mjeseci postnatalna suplementacija)	Preventivan učinak na atopijsku senzibilizacij u alergenima hrane, a time i smanjenje incidencije atopijskog ekcema u ranom djetinjstvu

[56]	159 trudnica i 132 dojenčadi do 6.mjeseca starosti	<b>Perinatalna/postnatalna suplementacija</b> <i>Lactobacillus rhamnosus GG</i> 1x dnevno 2x10 <sup>10</sup> CFU	R-DS-PK	7 mjeseci (1 mjesec perinatalna suplementacija + 6 mjeseci postnatalna suplementacija)	Učestalost AD duplo je smanjena u liječenoj grupi, ukupna konc. IgE slična je u obje grupe
[57]	171 dojenčad	<i>Lactobacillus paracasei F19</i> 1X dnevno 1x10 <sup>8</sup> CFU	R-DS-PK	9 mjeseci	Kumulativna pojavnost AD znatno niža u liječenoj grupi
[58]	415 trudnica	<i>Lactobacillus rhamnosus GG</i> (LGG) + <i>Bifidobacterium animalis</i> <i>subsp. lactis Bb-12</i> = 5x10 <sup>10</sup> CFU/250 ml + <i>Lactobacillus acidophilus</i> 5x10 <sup>9</sup> CFU/250 ml 1x dnevno	R-DS-PK	4 mjeseca	Perinatalna suplementacij a probiotikom može biti dovoljna za dugotrajniju redukciju kumulativne incidencije AD, ali ne i ostalih alergijskih bolesti
[60]	226 trudnica i 175 dojenčadi do 6.mjeseca starosti	<b>Postnatalna suplementacija</b> <i>Lactobacillus acidophilus</i> <i>LAVRI-A1</i> 1X dnevno 3x10 <sup>9</sup> CFU	R-DS-PK	6 mjeseci	Nema razlike u pojavnosti AD između grupa, veća pojavnost IgE povezanog AD u grupi koja se liječila



LIJEČENJE ATOPIJSKOG DERMATITISA					
[61]	38 pacijenata u dobi između 18 i 46 godina sa dijagnozom umjerenog do teškog oblika AD	<i>Lactobacillus salivarius LS01</i> 1X dnevno 1x10 <sup>9</sup> CFU	R-DS-PK	16 tjedana	Poboljšana klinička manifestacija AD
[63]	25 pacijenata u dobi između 25. i 63. godine sa dijagnozom AD, hrapave i napukle kože izraženog svrbeža	<i>Lactobacillus salivarius LS01</i> 5x10 <sup>9</sup> CFU/vreć + <i>Streptococcus Thermophilus ST10</i> 2x10 <sup>9</sup> CFU 1x dnevno	Pilot studija	1 mjesec	Potencijalno liječenje AD
[64]	48 djece u dobi između 2 i 12 godina sa dijagnozom AD, minimalne vrijednosti SCORAD 15	<i>Lactobacillus rhamnosus Lcr35</i> 3x dnevno 1,2x10 <sup>9</sup> CFU	R-DS-PK	3 mjeseca	Značajno poboljšanje simptoma AD u djece
[65]	49 pacijenata starijih od 16 godina sa dijagnozom AD	<i>Lactobacillus acidophilus L-92</i> (toplinski obrađen) 20,7mg	R-DS-PK	8 tjedana	Efektivan u smanjenju simptoma AD
[66]	44 odrasla pacijenta sa dijagnozom umjerenog do teškog oblika AD	<i>Bifidobacterium animalis subsp. lactis LKM512</i> 6x10 <sup>9</sup> CFU/ kps 1x dnevno	R-DS-PK	8 tjedana	Reducira osjećaj svrbeža na koži atopičara
[67]	50 pacijenata u dobi između 4 i 17 godina sa dijagnozom umjerenog AD	<i>Bifidobacterium lactis CECT8145</i> + <i>Bifidobacterium longum CECT 7347</i> + <i>Lactobacillus casei CECT 9104</i> = 1x10 <sup>9</sup> CFU 1x dnevno	R-DS-PK	12 tjedana	Poboljšanje u reduciranju SCORAD indeksa i smanjena primjena topikalnih steroida

[68]	54 djece u dobi 1-55 mjeseci sa dijagnozom umjerenog do teškog oblika AD	<i>Lactobacillus rhamnosus GG (LGG)</i> 2x dnevno 5X10 <sup>9</sup> CFU	R-DS-PK	8 tjedana	LGG nije potvrđen kao efektivna terapija kod AD u djece
[69]	220 djece u dobi između 1 i 18 godine sa dijagnozom umjerenog do teškog oblika AD	<i>Lactobacillus paracasei GMNL-133</i> 2x10 <sup>9</sup> CFU + <i>Lactobacillus fermentum GM090</i> 2x10 <sup>9</sup> CFU 1x dnevno	R-DS-PK	3 mjeseca	Kliničko poboljšanje simptoma AD
[70]	22 pacijenta pedijatrijske populacije sa dijagnozom umjerenog do teškog oblika AD	<i>Lactobacillus plantarum IS-10506</i> 1x10 <sup>9</sup> CFU/kps 1x dnevno 1 kps	R-DS-PK	12 tjedana	Potencijalno liječenje AD

*R-randomizirana, DS-duplo slijepa, PK-placebo kontrolirana, AD-atopijski dermatitis, SCORAD-eng. Score of Atopic Dermatitis*

#### 4.2.2. ORALNA PRIMJENA PROBIOTIKA KOD AKNI

U liječenju akni sa izraženim upalnim promjenama najčešće se koristi antibiotska terapija. Protuupalno djelovanje antibiotika bazira se na modulaciji citokina, redukciji reaktivnih kisikovih spojeva i kemotaksiji leukocita. Nuspojave oralno primjenjenih antibiotika kao što su gastrointestinalne smetnje, kandidijaza, mučnine i fototoksične reakcije smanjuju suradljivost pacijenata i pravilnu primjenu antibiotske terapije. Povećana rezistencija bakterija na antibiotsku terapiju također predstavlja sve veći problem u liječenju akni [71].

Oralna primjena probiotika mogla bi biti potencijalan izbor u liječenju akni zbog njihovih specifičnih učinaka kao što je smanjenje sistemske upale, oksidativnog stresa, održavanja zdravlja i funkcionalnosti crijevne barijere i utječe na apsorpciju hranjivih tvari (omega 3) [72]. Djelotvornost probiotika u liječenju akni slabo je istražena (Tablica 5.). Prve kliničke studije objavljene su šezdesetih godina dvadesetog stoljeća. U studiji koju je proveo Robert H. Siver, sudjelovalo je 300 pacijenata sa potvrđenom dijagnozom akni te su oralno primjenjivali probiotički pripravak kombinacije *Lactobacillus acidophilus* i *Lactobacillus bulgaricus* vrsta.

Poboljšanje kliničkih simptoma bilo je prisutno u 80% pacijenata te više izraženo u upalnim aknama [73].

Slično istraživanje provedeno je u Italiji 1987. gdje istraživana učinkovitost probiotičkog pripravka kombinacije *Lactobacillus acidophilus* i *Bifidobacterium bifidum* vrsta kao pomoćne terapije u sistemskom liječenju akni, te je potvrđen pozitivan učinak na lezije na koži kao i bolja podnošljivost antibiotske terapije [74].

Jung i sur. [75] proveli su studiju na pacijenticama koje boluju od blagih do umjereno izraženih simptoma akni. Probiotik je sadržavao kombinaciju *Lactobacillus acidophilus* NAS, *Lactobacillus delbrueckii subspecies bulgaricus* i *Bifidobacterium bifidum* vrsta mikrokapsuliranu u uljnom matriksu u obliku tvrdih želatinoznih kapsula. Studija je potvrdila pozitivan učinak navedene kombinacije probiotika. Zabilježeno je poboljšanje kod upalnih i neupalnih lezija kože (jače izraženo u grupi koja je uzimala antibiotik i probiotik) i poboljšana je tolerabilnost kože (smanjeno crvenilo, pigmentacija, upala, iritacije). Probiotici su smanjili potencijalne nuspojave antibiotika, ali i djelovali protuupalno, sinergistički u kombinaciji s antibiotskom terapijom.

Iako su potrebna daljnja istraživanja, dosadašnje studije ukazuju na potencijalnu primjenu oralnih probiotika kao pomoć u liječenju akni.

**Tablica 5.** Prikaz kliničkih studija o učinkovitosti oralno primjenjenih probiotika kod akni

	SUDIONICI	PROBIOTIK/DOZIRANJE	VRSTA STUDIJE	TRAJANJE STUDIJE	REZULTAT
[73]	300 pacijenata sa dijagnozom akni	<i>Lactobacillus acidophilus</i> + <i>Lactobacillus bulgaricus</i>	Interventna grupa	8 dana, 2 tjedna pauza, 8 dana	Kliničko poboljšanje u 80% pacijenata, posebno kod onih sa upaljenim aknama
[74]	20 odraslih pacijenata sa dijagnozom akni	<i>Lactobacillus rhamnosus SP1</i> 3X10 <sup>9</sup> CFU 1X dnevno	R-DS-PK	12 tjedana	Poboljšani izgled akni, normalizirana kožna ekspresija gena koji sudjeluju u signaliziranju inzulina
[75]	44 pacijentice u dobi između 18 i 35 godina sa dijagnozom umjerenih do teških oblika akni	<i>Lactobacillus acidophilus</i> NAS 5x10 <sup>12</sup> CFU + <i>Lactobacillus delbrueckii</i> <i>subsp. bulgaricus LB-51</i> 5x10 <sup>12</sup> CFU + <i>Bifidobacterium</i> <i>bifidum</i> 20x10 <sup>12</sup> CFU 2x dnevno	R-DS-PK	12 tjedana	Pozitivan sinergistički učinak uz terapiju s antibiotikom

*R-randomizirana, DS-duplo slijepa, PK-placebo kontrolirana*

#### 4.2.3. ORALNA PRIMJENA PROBIOTIKA KOD PSORIJAZE

Mikroflora crijeva zadužena je, između ostalog, za održavanje ravnoteže regulatornih i efektornih T stanica te za indukciju imunoglobulina A. Narušena ravnoteža mikroflore crijeva jedan je od potencijalnih uzroka psorijaze kao kronične upalne bolesti stoga se sve više istražuje utjecaj različitih probiotičkih sojeva na regulaciju crijevne mikroflore, a samim time i njihov potencijalan terapijski učinak u liječenju psorijaze. Za liječenje blagog do umjerenog oblika psorijaze većinom se primjenjuju lokalni pripravci kortikosteroida, vitamina A ili D dok teži oblici zahtijevaju primjenu lijekova koji djeluju sistemski sa izraženim nuspojavama [76,77].

Iako dosadašnja istraživanja nisu pružila dovoljno informacija, smatra se da bi probiotici preko svojih potencijalnih imunoregulatornih mehanizama mogli reducirati upalu kod kroničnih upalnih bolesti kao što je primjerice psorijaza. Studije provedene in vivo dokazale su inhibiciju upalnog odgovora oralnom primjenom probiotika (Tablica 6.). Oralna primjena *Lactobacillus pentosus* GMNL-77 značajno je suprimirala upalne promjene na koži miša, kojem su primjenom imunomodulatornog lijeka izazvane upalne promjene na koži slične onima u psorijazi. Navedeni soj inhibira povećanu keratinizaciju i eritematozne lezije na koži miša sa induciranim simptomima psorijaze. Inhibitorno djelovanje *L. pentosus* GMNL-77 na aktivaciju T stanica može se povezati sa dva mehanizma djelovanja kao što su redukcija funkcije crijevnih dendritičkih stanica (utjecaj na diferencijaciju i proliferaciju stanica imunološkog sustava) te direktan učinak na diferencijaciju i/ili proliferaciju T limfocita [78].

Studijom slučaja prikazano je liječenje psorijaze *Lactobacillus sporogenes* vrstom. Pacijentici je dijagnosticirana pustularna psorijaza koja nije reagirala na klasično liječenje sa izraženim nuspojavama kortikosteroidne terapije. Ukinuta joj je klasična terapija te je liječenje probioticima trajalo petnaest dana. Klinički simptomi su se poboljšali nakon dva tjedna, a nakon četiri tjedna došlo je do skoro kompletne remisije [79].

Djelotvornost probiotika u liječenju psorijaze proučavana je i na 26 pacijenata oboljelih od blagog do umjerenog oblika psorijaze sa kroničnim plakovima. Oralno su primjenjivali *Bifidobacterium infantis* 35624 u trajanju od šest do osam tjedana što je dovelo do ublažavanja upale u psorijatičnoj koži pacijenata smanjenjem inflamatornih markera u plazmi [80].

90 psorijatičnih pacijenata u dobi od 18-70 godina sudjelovalo je u studiji koja je trajala 12 tjedana. Pacijenti u probiotičkoj grupi dnevno su uzimali jednu tvrdu želatinsku kapsulu koja je sadržavala tri soja probiotika u omjeru 1:1:1. Mješavina probiotika sastojala se od *Bifidobacterium longum* CECT 7347, *Bifidobacterium lactis* CECT 8145 i *Lactobacillus rhamnosus* CECT 8361. Nakon završetka studije utvrđeno je poboljšanje kliničkih simptoma u pacijenata. Utjecaj probiotičkog pripravka na razinu inflamatornih markera u krvi nije zabilježen, ali zato su zabilježene promjene u mikrobioti. U probiotičkoj grupi došlo je do povećanja *Collinsella* i *Lactobacillus* vrsta dok su *Micromonospora* i *Rhodococcus* vrste nestale [81].

**Tablica 6.** Prikaz kliničkih studija o učinkovitosti oralno primjenjenih probiotika kod psorijaze

	SUDIONICI	PROBIOTIK/DOZIRANJE	VRSTA STUDIJE	TRAJANJE STUDIJE	REZULTAT
[79]	Pacijentica, 47 godina sa dijagnozom pustularne psorijaze	<i>Lactobacillus sporogenes</i> 1x10 <sup>10</sup> CFU 3X dnevno	Slučaj	6 mjeseci	Smanjenje temperature, poboljšanje lezija
[80]	26 pacijenata sa dijagnozom blage do umjerene kronične psorijatične lezije	<i>Lactobacillus acidophilus</i> 5x10 <sup>12</sup> CFU + <i>Lactobacillus delbrueckii</i> 5x10 <sup>12</sup> CFU + <i>Bifidobacterium bifidum</i> 20x10 <sup>12</sup> CFU 1X dnevno	R-DS-PK	6-8 tjedana	Ublažena upala psorijatične kože, redukcija sistemskih pro-inflamatornih biomarkera
[81]	90 pacijenata između 18 i 70 godina sa dijagnozom plak psorijaze	<i>Bifidobacterium longum</i> <i>CECT 7347</i> + <i>Bifidobacterium lactis</i> <i>CECT8145</i> + <i>Lactobacillus rhamnosus</i> <i>CECT 8361</i> = 1x10 <sup>9</sup> CFU 1X dnevno	R-DS-PK	12 tjedana	Smanjen rizik relapsa bolesti, modulacija sastava mikrobiote, poboljšanje kliničkih simptoma

*R-randomizirana, DS-duplo slijepa, PK-placebo kontrolirana*

#### 4.2.4. ORALNA PRIMJENA PROBIOTIKA KOD ROZACEE

Trenutačno nema dostupnih podataka koji bi ukazivali na oralnu primjenu probiotika u liječenju rozacee. Pacijenti koji boluju od rozacee imaju prekomjerno naglašenu ekspresiju TLR2 receptora u epidermi što posljedično dovodi do pojačanog upalnog odgovora, prekomjerne produkcije katelicidina kao i povećane aktivnosti serin proteaze kalikrein. U nekoliko provedenih studija dokazan je i izmijenjen sastav mikroflore crijeva pacijenata koji boluju od rozacee u odnosu na mikrofloru crijeva zdravih osoba [82]. Fortuna i sur. [83] 2016. proveli su uspješno liječenje rozacee vlasišta sa niskom dozom doksiciklina i oralnom probiotskom terapijom koja se sastojala od *Bifidobacterium breve* BR03 i *Lactobacillus salivarius* LS01 u trajanju od osam tjedana. Smatra se da je spomenuta dvojna terapija

djelovala sinergistički. Antibiotik je djelovao na rast patogenih bakterija dok je kombinacija probiotika doprinjela kolonizaciji komenzalnih bakterija u mikroflori crijeva. Potrebne su dodatne studije koje bi istražile protuupalno djelovanje oralne probiotske terapije kao i nadomještanje patogenih bakterija probiotičkim sojevima u svrhu održavanja mikroflora crijeva.

#### **4.2.5. OSTALE DERMATOLOŠKE INDIKACIJE ZA ORALNU PRIMJENU PROBIOTIKA**

##### **4.2.5.1. ORALNA PRIMJENA PROBIOTIKA KOD CIJELJENJA RANA**

Kronične duboke rane čest su problem u dermatologiji. Njihovo cijeljenje otežano je poremećajem u sastavu mikrobioma kože i upalnom odgovoru. Oštećena koža može biti posljedica određene bolesti, operacije ili pak opekline. Kako bi rana što prije zacijelila važno je spriječiti infekciju, ubrzati zacjeljivanje i spriječiti nastajanje ožiljka [84]. Površina rane veoma brzo kolonizira se patogenima kao što su *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* i *Streptococcus pyogenes*. Patogeni stvaraju biofilm koji je prilično otporan na antibiotike, antiseptike i imunološki odgovor domaćina [84].

Nekoliko studija utvrdilo je kako bi probiotici mogli pomoći u cijeljenju rana smanjujući kolonizaciju patogena i djelujući na upalni odgovor.

Većina kliničkih studija oralno primjenjivanih probiotika provedena je na pacijentima sa ranama koje su bila posljedica abdominalnih operacija (Tablica 7.). Glavni razlog korištenja probiotika bilo je poboljšanje zacjeljivanja rane, prevencija sistemske infekcije kao i prevencija infekcije same rane. Najčešće korišteni probiotici u ispitivanim kliničkim studijama različiti su sojevi *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus casei* i *Lactobacillus acidophilus* vrsta. *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus fermentum*, *Bifidobacterium breve* i *Bifidobacterium longum* vrsta nešto su rjeđe korišteni sojevi [84]. Oralna primjena probiotika nakon operativnog zahvata poboljšala je imunološki odgovor organizma, reducirala broj postoperativnih infekcija, vrijeme hospitalizacije kao i količinu propisane antibiotske terapije [85-87]. Oralna primjena probiotika proučavalo se i na cijeljenju rana dijabetičkog stopala. 60 pacijenata sa dijagnozom dubokog ulkusa dijabetičkog stopala sudjelovalo je u studiji trajanja 12 tjedana. Probiotički pripravak koji su uzimali sastojao se od kombinacije

probiotika: *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus fermentum* i *Bifidobacterium bifidum*. Korištenje navedene kombinacije probiotika povoljno je djelovalo na smanjenje veličine ulkusa, glikemijsku kontrola, ukupnu količinu kolesterola i ukupan antioksidativni kapacitet [88].

**Tablica 7.** Rezultati kliničkih studija o učinkovitosti oralno primjenjenih probiotika kod cijeljenja rana

	SUDIONICI	PROBIOTIK/DOZIRANJE	VRSTA STUDIJE	TRAJANJE STUDIJE	REZULTAT
[85]	100 pacijenata sa operacijom raka debelog crijeva	<i>Lactobacillus plantarum</i> <i>CGMCC 1258</i> + <i>Lactobacillus acidophilus</i> <i>LA-11</i> + <i>Bifidobacterium longum</i> LB-88 = 2,6X10 <sup>14</sup> CFU 1X dnevno	R-DS-PK	16 dana (6 dana preoperativno + 10 dana postoperativno)	Niža stopa infekcije rane, iako nije statističke značajnosti. Nema statistički značajne razlike u duljini trajanja terapije
[86]	60 pacijenata sa operacijom raka debelog crijeva	<i>Bifidobacterium longum</i> + <i>Lactobacillus acidophilus</i> + <i>Enterococcus faecalis</i> = 3x10 <sup>8</sup> CFU 1X dnevno	R-DS-PK	3-5 dana prije operacije	Niža infekcija rane u probiotičkoj grupi, iako nije statističke značajnosti
[87]	60 pacijenata sa operacijom raka debelog crijeva	<i>Bifidobacterium longum</i> + <i>Lactobacillus acidophilus</i> + <i>Enterococcus faecalis</i> = 3x10 <sup>7</sup> CFU 1x dnevno	R-DS	12 dana ( 5 dana prije i 7 dana nakon operacije)	Nema statističke značajne razlike u postotku infekcije rane. Nešto niže trajanje postoperativne antibiotske terapije u probiotičkoj grupi.



[88]	60 pacijenata sa dijagnozom ulkusa dijabetičkog stopala	<i>Lactobacillus acidophilus</i> 2x10 <sup>9</sup> CFU + <i>Lactobacillus casei</i> 2x10 <sup>9</sup> CFU + <i>Lactobacillus fermentum</i> 2x10 <sup>9</sup> CFU + <i>Bifidobacterium bifidum</i> 2x10 <sup>9</sup> CFU 1x dnevno	R-DS-PK	12 tjedana	Značajna redukcija veličine i dubine ulkusa, ukupne količine kolesterola kao i koncentracije inzulina u serumu
------	---	--	---------	------------	--

*R-randomizirana, DS-duplo slijepa, PK-placebo kontrolirana*

#### 4.2.5.2. ORALNA PRIMJENA PROBIOTIKA KOD REAKTIVNE KOŽE

Epidemiološke studije utvrdile su značajan porast osoba sa problemom reaktivne kože u visoko industrijaliziranim zemljama, 50-61% žena i 30-44% muškaraca [89].

Upala prisutna u reaktivnoj koži mogla bi biti rezultat otpuštanja pro-inflamatornih neuromedijatora (supstance P) i posljedica narušene kožne barijere. Narušena kožna barijera omogućuje povećanu penetraciju potencijalnih iritansa kao i povećan transepitelni gubitak vode. Pacijenti reaktivnu kožu opisuju kao osjećaj nelagode na licu praćen vrućinom, svrbežom, peckanjem. Reaktivna koža posebno je osjetljiva na primjenu kozmetičkih pripravaka i uvjete okoliša (vjetar, vrućina, hladnoća) [89].

Predloženo je nekoliko potencijalnih mehanizama kojim probiotici utječu na osjetljivost kože:

- a) direktno inhibiraju otpuštanje neuromedijatora uključenih u reakciju osjetljivosti,
- b) smanjuju neurogenu upalu i
- c) pozitivno djeluju na barijernu funkciju kože [90].

*Lactobacillus paracasei* NCC 2461 oralno je primjenjivan u studiji kod pacijentica sa reaktivnom kožom. Rezultat studije potvrdio je smanjenu osjetljivost kože, povećan oporavak kožne barijere kao i održavanje koncentracije prirodnih ovlaživača kože [90] (Tablica 8.).

**Tablica 8.** Kliničke studije učinkovitosti oralne primjene probiotika kod reaktivne kože

	<b>SUDIONICI</b>	<b>PROBIOTIK/DOZIRANJE</b>	<b>VRSTA STUDIJE</b>	<b>TRAJANJE STUDIJE</b>	<b>REZULTAT</b>
[90]	64 pacijentice sa reaktivnom kožom	<i>Lactobacillus paracasei</i> NCC 2461 1x10 <sup>10</sup> CFU 1x dnevno	R-DS-PK	2 mjeseca	Smanjena osjetljivost kože, povećana razina oporavka kožne barijere

*R-randomizirana, DS-duplo slijepa, PK-placebo kontrolirana*

### **4.3. TOPIKALNA PRIMJENA PROBIOTIKA KOD KOŽNIH BOLESTI**

Djelotvornost topikalne primjene probiotika dokazana je u manjem broju studija. Unatoč velikom interesu, još uvijek nije razjašnjen mehanizam međudjelovanja probiotika i patogene bakterije, sigurnosni profil i samo terapeutsko svojstvo topikalnih probiotičkih pripravaka [91]. Mikrobiom kože jedinstven je za svaku osobu i podložan je promjenama na dnevnoj bazi zbog utjecaja egzogenih i endogenih faktora što dodatno utječe na sam izbor topikalnog probiotičkog pripravka. Topikalna primjena probiotika morala bi omogućiti održavanje ravnoteže u mikrobiomu kože u korist dobrih bakterija kao i raznoliku bakterijsku populaciju. Još uvijek nije utvrđeno kako pacijenti sa različitim sastavom mikrobioma kože reagiraju na pojedine topikalne probiotičke pripravke stoga je važno utvrditi optimalno doziranje i soj probiotika za pojedino stanje kože [92].

#### **4.3.1. TOPIKALNA PRIMJENA PROBIOTIKA KOD ATOPIJSKOG DERMATITISA**

Koža pacijenata koji boluju od atopijskog dermatitisa odlikuje se povećanom kolonizacijom *Staphylococcus aureus* vrstom koja dodatno pogoršava stanje kože promovirajući upalu. Narušena fizička barijera kože kao i disbalans u mikrobiomu kože atopičara pogoduju kolonizaciji patogenih bakterija. Zajednica bakterija koja je prisutna na zdravoj koži trebala bi reducirati kolonizaciju *S. aureus* produkcijom svojih antimikrobnih supstanci. Još uvijek nije razjašnjeno zašto je kod atopijskog dermatitisa ta ravnoteža narušena, da li je to posljedica bolesti ili se radi o utjecaju vanjskih faktora koji negativno djeluju na dobre bakterije i onemogućavaju njihovu obranu od potencijalnih patogena [93,94]. Provedene kliničke studije ukazale su na djelotvornost topikalne primjene probiotika u ublažavanju simptoma atopijskog dermatitisa (Tablica 9.).

U jednoj od studija izoliran je koagulaza-negativan stafilokok (CoNS) iz kože zdravih osoba i iz kože atopičara. Daljnjom obradom utvrđeno je kako su sojevi CoNS svojom antimikrobnom aktivnošću uobičajeno prisutni na zdravoj koži, ali na koži atopičara njihova prisutnost je rijetka. Klonirani i aktivirani CoNS (*Staphylococcus hominis* i *Staphylococcus epidermidis* vrsta) primjenjivali su se u obliku topikalnog pripravka te dokazali potencijalnu učinkovitost u liječenju. U probiotičkoj grupi došlo je do značajnog smanjenja u kolonizaciji *S. aureus* sa samo jednom primjenom probiotičkog pripravka [94].

*Roseomonas mucosa*, Gram (-) komenzalna bakterija izolirana iz kože zdravih pacijenata, u obliku topikalnog pripravka primjenjena je na koži atopičara pedijatrijske i odrasle populacije. Rezultat studije je značajno smanjenje pruritisa, SCORAD indeksa, primjene kortikosteroida u obje populacije bez ikakvih neželjenih nuspojava [95].

Nekoliko studija istražilo je primjenu crijevnih komenzala u topikalnim pripravcima kao što su *Lactobacillus johnsonii* i *Streptococcus thermophilus* [96-98].

Utvrđeno je da toplinski obrađen *L. johnsonii* NCC 533 djeluje na imunološki sustav domaćina povećavajući ekspresiju gena i sintezu proteina antimikrobnih peptida kao što je  $\beta$ -defenzin 2 i time reducira vezanje *S. aureus* na keratinocite [96]. Topikalno primijenjen na lezijama kože atopičara doveo je do značajnog smanjenja u kolonizaciji *S. aureus* a posljedično i do smanjenja SCORAD indeksa. Koža atopičara narušene je barijerne funkcije, izražene suhoće te je karakterizira povećan transepidermalni gubitak vode. Neke studije navode kako je jedan od razloga povećana kolonizacija kože bakterijama koje luče ceramidaze i narušavaju sastav ceramida (*Pseudomonas aeruginosa* i/ili slični sojevi). Primjena topikalnog probiotičkog pripravka koji se sastojao od lizata *Streptococcus thermophilus* vrste nakon dva tjedna terapije, značajno je povećala razine ceramida u rožnatom sloju kože atopičara te dovela do smanjenja eritema, osjećaja svrbeža i ljuškanja kože [97,98].

Direktna aplikacija lizata nepatogene bakterije *Vitreoscilla filiformis* mogla bi biti jedna od obećavajućih terapija u liječenju atopijskog dermatitisa kao i održavanju stabilnosti. Primjena kreme sa 5% lizatom navedene bakterije pokazala se učinkovitom u poboljšanju SCORAD indeksa, smanjenju pruritisa kao i poboljšanju kvalitete sna. Osim indukcije antimikrobnih supstanca, smatra se da bakterijski lizat na lezije atopijskog dermatitisa djeluje i putem svojih imunomodulatornih i imunoregulatornih mehanizama, ali potrebne su dodatne studije koje će istražiti točan mehanizam djelovanja [99,100].

**Tablica 9.** Rezultati kliničkih studija o učinkovitosti topikalno primjenjenih probiotika kod atopijskog dermatitisa

	SUDIONICI	PROBIOTIK/DOZIRANJE	VRSTA STUDIJE	TRAJANJE	REZULTAT
[94]	9 odraslih pacijenata (pozitivni na kulturu <i>S. aureus</i> )	5 pacijenata liječeno je autolognom transplantacijom <i>S. epidermidis</i> i/ili <i>S. hominis</i> u kremi	R-DS-PK	24 sata	Značajno smanjenje kolonizacije <i>S. aureus</i>
[96]	31 pacijent sa dijagnozom AD	<i>Lactobacillus johnsonii</i> NCC 533 Inicijalna konc. 3,1x10 <sup>11</sup> CFU/g (sprej) 0,3% losion 2x dnevno	R-DS-PK	21(±1) dan	Redukcija <i>S. aureus</i> , opće poboljšanje kožnih simptoma
[98]	11 pacijenata sa dijagnozom AD između 18 i 24 godine + 10 zdravih pacijenata između 17 i 27 godina	<i>Streptococcus thermophilus</i> lizat 1,7g/5ml / 20ml bazne kreme 2x dnevno	R-DS-PK	2 tjedna	Značajno povećana razina ceramida u koži, poboljšanje simptoma kod AD pacijenata
[100]	75 pacijenata između 6 i 70 godina sa dijagnozom AD	<i>Vitreoscilla filiformis</i> ekstrakt, 5% krema 1x dnevno	R-DS-PK	30 dana	Smanjen SCORAD indeks i pruritis, poboljšana kvaliteta sna

*R-randomizirana, DS-duplo slijepa, PK-placebo kontrolirana, AD-atopijski dermatitis, SCORAD-eng. Score of Atopic Dermatitis*

#### 4.3.2. TOPIKALNA PRIMJENA PROBIOTIKA KOD AKNI

Lezije akni karakterizira povećana kolonizacija *Propionibacterium acnes* koja je inače komenzalna bakterija u mikrobiomu kože. In vitro i in vivo studije predložile su topikalnu primjenu probiotika kao pomoćnu terapiju u liječenju akni zbog njihova utjecaja na rast oportunističkih bakterija putem antibakterijskih proteina i BLIS (eng. Bacteriocin-Like Inhibitory Substance) i njihovih imunomodulatornih učinaka na keratinocyte i epitelne stanice [101]. Rast *P. acnes* stoga može biti inhibiran antimikrobnim spojevima i organskim kiselinama koje proizvode pojedini sojevi. Primjerice, *Staphylococcus epidermidis* fermentiranjem glicerola producira sukciničnu kiselinu i time stvara zonu koja je nepovoljna

za kolonizaciju *P. acnes* čija povećana koncentracija dovodi do pogoršanja akni dok *Streptococcus salivarius* producira BLIS, ali i inhibira produkciju pro-inflamatornih citokina IL-8 u epitelnim stanicama i keratinocitima, vjerojatno inhibicijom NFκB signalnog puta [102,103].

Dva klinička istraživanja potvrdila su učinkovitost topikalnih probiotika u liječenju akni (Tablica 10.).

Kang i sur. [104] koristili su *Enterococcus faecalis* SL-5 soj izoliran iz humanog fecesa i dokazane antimikrobne aktivnosti protiv Gram (+) patogena u studiji koja je obuhvatila pacijente sa dijagnozom blažeg do umjerenog oblika akni. Nakon završetka studije ustanovilo se da je ispitivani soj smanjio postotak izraženih neinflamatornih lezija, ali sam rezultat statistički nije bio značajne vrijednosti. Kod inflamatornih lezija došlo je do statistički značajnih rezultata u smislu poboljšanja u odnosu na placebo grupu. Dobiveni rezultat može se povezati sa direktnom supresijom upale i stvaranjem antimikrobnih peptida.

Drugo kliničko istraživanje preporučilo je primjenu topikalnog probiotika u koncentraciji 5% *Lactobacillus plantarum* za liječenje blažih oblika akni. Kod svih ispitanika primjećena je redukcija lezija i eritema blažih oblika akni kao i poboljšan oporavak kožne barijere [105].

**Tablica 10.** Rezultati kliničkih studija o učinkovitosti topikalno primjenjenih probiotika kod akni

	SUDIONICI	PROBIOTIK/DOZIRANJE	VRSTA STUDIJE	TRAJANJE	REZULTAT
[104]	70 pacijenata sa dijagnozom Acne vulgaris, stariji od 12 godina	<i>Enterococcus faecalis</i> SL-5 „cell-free“ supernatant 6400 AU 2x dnevno	R-DS-PK	8 tjedana	Smanjuje broj lezija na koži, djeluje protuupalno
[105]	10 pacijenata sa dijagnozom Acne vulgaris između 18 i 50 godina	<i>Lactobacillus plantarum</i> 1% losion 5% losion 1x dnevno	Pilot studija	2 mjeseca	Redukcija eritema, oporavak kožne barijere

*R-randomizirana, DS-duplo slijepa, PK-placebo kontrolirana*

### 4.3.3. TOPIKALNA PRIMJENA PROBIOTIKA KOD PSORIJAZE

Unatoč potvrđenoj disbiozi mikrobioma kože u psorijazi, primjena topikalnih probiotika u liječenju te bolesti nije dovoljno istražena.

Rather i sur. [106] u svojoj su studiji procijenili protektivni efekt *Lactobacillus sakei proBio-6*. Topikalno primijenjen etanolni ekstrakt *L. sakei proBio65* smanjio je eritem i druge histokliničke simptome na modelu miša imikvimod-induciranom psorijazom. Smanjena je infiltracija upalnih stanica u dermi kao i ekspresija proinflamatornih citokina (IL-17A, IL-19, IL-23) povezanih sa psorijazom i samim time, *L. sakei proBio65* potencijalna je imunomodulatorna terapija u liječenju psorijaze [106].

### 4.3.4. TOPIKALNA PRIMJENA PROBIOTIKA U OSTALIM DERMATOLOŠKIM INDIKACIJAMA

#### 4.3.4.1. TOPIKALNA PRIMJENA PROBIOTIKA KOD CIJELJENJA RANA

Djelotvornost topikalnih probiotika u cijeljenju rana potvrđena je u studijama provedenim na ljudima (Tablica 11.). Iako sam mehanizam djelovanja još nije utvrđen, smatra se da povećanim stvaranjem granulacijskog tkiva, poboljšanom koncentracijom kolagena i stimulacijom angiogeneze probiotici doprinose cijeljenju rane. Na životinjskim modelima opekline, primjena topikalnih probiotika i kefira smanjila je produkciju upalnih markera i pridruženu septikemiju u inficiranim ranama dok je na životinjskim modelima inficiranih rana poboljšala imunološki odgovor [107-109].

*Lactobacillus plantarum* pokazao se djelotvornim u ranim i odgođenim stadijima opekline drugog i trećeg stupnja smanjujući broj bakterija, potičući granulaciju tkiva i cijeljenje same rane u usporedbi sa djelovanjem srebrne sulfadiazin kreme [110,111].

Djelovanje topikalnih probiotika proučavalo se i na ranama prisutnim u usnoj šupljini. Određeni sojevi *Lactobacillus reuteri* djelovanjem na neuropeptidni hormon oksitocin preko signalnog puta posredovanog vagusnim živcem mogu utjecati na cijeljenje rana. *Lactobacillus reuteri DSM 17938* i *ATCC PTA 5289* primjenjivali su se topikalno u obliku pastila i u uljnom mediju u svrhu cijeljenja rane nastale u usnoj šupljini. Studijom je potvrđen smanjen upalni odgovor u usnoj šupljini kao i edem te je rana brže pokrivena fibrinom i ostao je izložen manji dio vezivnog tkiva [112].

**Tablica 11.** Rezultati kliničkih studija o učinkovitosti topikalno primjenjenih probiotika kod cijeljenja rana

	SUDIONICI	PROBIOTIK/DOZIRANJE	VRSTA STUDIJE	TRAJANJE	REZULTAT
[111]	80 pacijenata između 18 i 55 godina sa opeklinama	<i>Lactobacillus plantarum NR</i> 1x10 <sup>8</sup> CFU Primjena na gazu 1ml/cm <sup>2</sup> 1x dnevno	R-DS-PK	10 dana	Poboljšana granulacija tkiva i cijeljenje rana, smanjena količina bakterija prisutnih na rani
[112]	10 zdravih pacijenata	<i>Lactobacillus reuteri DSM 17938</i> 5x10 <sup>8</sup> CFU/pastila <i>Lactobacillus reuteri ATCC PTA 5289</i> 5x10 <sup>8</sup> CFU/pastila Ili uljni medij 2x10 <sup>8</sup> CFU/ml svakog soja 2x dnevno 1 pastila ili 1x dnevno 1 kap ulja	Pilot studija	7 dana	Upalne promjene poput eritema i edema manje izražene, rane su brže prekrivene fibrinom i vezivno tkivo manje je izloženo

*R-randomizirana, DS-duplo slijepa, PK-placebo kontrolirana*

#### 4.3.4.2. TOPIKALNA PRIMJENA PROBIOTIKA KOD REAKTIVNE KOŽE

U *ex vivo* istraživanjima provedenim na ljudskoj koži, dokazano je anti-inflamatorno djelovanje lizata bakterije *Bifidobacterium longum* smanjenjem vazodilatacije, edema, degranulacijom mastocita i otpuštanjem TNF- $\alpha$  [113].

Topikalna primjena bakterijskog lizata testirana je u kliničkom istraživanju na 66 pacijentica sa reaktivnom kožom (Tablica 12.). Primjena navedenog pripravka utjecala je na smanjenje osjetljivosti kože kao i na povećanje njene otpornosti prema vanjskim faktorima. Primjećena je i značajna redukcija crvenila prisutnog na koži lica i suhoće kože na nogama [113].

Bakterijski lizati mogli bi postati jedan od izbora u prevenciji/terapiji simptoma reaktivne kože.



**Tablica 12.** Rezultati kliničkih studija o učinkovitosti topikalno primjenjenog probiotika kod reaktivne kože

	SUDIONICI	PROBIOTIK/DOZIRANJE	VRSTA STUDIJE	TRAJANJE	REZULTAT
[113]	66 pacijentica sa reaktivnom kožom	<i>Bifidobacterium longum</i> lizat 10% krema 2x dnevno	R-DS-PK	2 mjeseca	Smanjena reaktivnost kože

*R-randomizirana, DS-duplo slijepa, PK-placebo kontrolirana*

#### 4.4. PROBIOTICI KAO POTENCIJALNA „ANTI-AGE“ TERAPIJA

Koža je glavna barijera našeg tijela u kontaktu sa okolišem, svakodnevno izložena vanjskim faktorima koji mogu dovesti do njenog oštećenja. Primjena neodgovarajućih kozmetičkih proizvoda, pušenje, nepravilna prehrana, UV zračenje, hormonalni disbalans također su čimbenici koji određuju zdravlje kože. Koži se starenjem narušava njena zaštitna barijera, sposobnost zacjeljivanja, smanjuje se njena elastičnost, pojavljuju prve bore, gubi se ton kože i dolazi do promjena u pigmentaciji.

Debljina rožnatog sloja kože mijenja se kroz život kao posljedica vanjskih faktora i upalnih promjena. Kako koža stari, rožnati sloj sve se više ukružuje zbog povećane stanične kohezije između izmjenjenih lipidnih struktura, smanjene koncentracije intracelularnih lipida kao i smanjenog prolaska vode. Starenjem kože epidermalni keratinociti poprimaju izmjenjen oblik u usporedbi sa keratinocitima iz kože mlađih osoba, smanjuje se broj dermalnih papila što posljedično dovodi do stanjivanja spojeva između epiderme i derme kao i smanjenja same vaskulature kože koja je odgovorna za opskrbljivanje epiderme različitim nutrijentima. Količina kolagena i elastina kao građivnih elemenata derme sa vremenom se također mijenja. Proizvodnja kolagena nedostatna je zbog smanjene proliferacije fibroblasta i povećane produkcije matriks metaloproteinaza. Fragmenti kolagena koji nastaju djelovanjem matriks metaloproteinaza oštećuju fibroblaste i doprinose starenju kože. Razgradnjom kolagena i elastina koža gubi svoju čvrstoću i elastičnost što dovodi do stvaranja prvih bora i opuštena kože. Osim promjena u slojevima kože koja stari, nadziru se promjene u funkciji i veličini kožnih privjesaka. Iako broj žlijezda lojnica ostaje konstantan tokom života, veličina sebacealne jedinice mijenja se ovisno o mikrookolišu pa je tako najveća u razdoblju puberteta, a opada nakon sedamdesete godine. Kako se razine sebuma smanjuju, tako i žlijezde lojnice gube svoju funkciju što doprinosi suhoći kože. Starenjem koža postaje suha, sklona crvenilu i svrbežu što je posljedica brojnih enzimatskih procesa koji dovode do smanjenog sadržaja vode u rožnatom sloju kože kao i do promjene u pH vrijednosti kože [114].

Spomenute promjene na razini epiderme i derme uzrok su kronološkog starenja kože većinom neovisno o izloženosti kože UV zračenju. Za kožu koja je tokom života u većoj mjeri bila izložena UV zračenju karakteristična je slika patološki izmijenjenog elastina koji se nakuplja unutar površinske derme. Povećano izlaganje kože UV zračenju može dovesti do fotostarenja i stvaranja oksidativnog stresa. ROS nastaju kao produkt staničnog oksidativnog metabolizma, čija se produkcija može povećati izlaganjem UV zrakama. Njihova povećana produkcija može dovesti do oštećenja DNA, proteina, lipida i redukcije razine antioksidansa prisutnih u koži.

Povećanjem produkcije slobodnih radikala smanjuje se broj keratinocita, fibroblasta i kolagena te dolazi do atrofije a kasnije i do fibroze kože [114,115].

Oksidativni stres jedan je od primarnih uzroka fotostarenja kože uzrokovan UV zračenjem koji može dovesti do oštećenja DNA, upale i imunosupresije. Upala izazvana UV zračenjem dovodi do oksidacije lipida koji su sastavni dio membrana i produkciju arahidonske kiseline. Ciklooksigenaze pretvaraju arahidonsku kiselinu u prostaglandine i time regrutiraju upalne stanice. ROS inducira aktivaciju TNF- $\alpha$  (eng. Tumor Necrosis Factor), ekspresiju NF- $\kappa$ B i aktivaciju MAPK (eng. Mitogen-Activated Protein Kinase) što posljedično dovodi do degradacije kolagena i elastina [115].

Starenjem kože javljaju se promjene u mikrobiomu kože. Primjerice, tokom puberteta žlijezde lojnice rade pojačano i stvaraju uvjete koji pogoduju povećanoj koncentraciji lipofilnih bakterija roda *Propionibacterium*. Suprotno tome, u starijih osoba rad žlijezda lojnica je smanjen što pogoduje kolonizaciji drugih vrsta mikroorganizama. Analizom mikrobioma kože starijih osoba utvrđena je značajno niža prisutnost roda *Propionibacterium*. Metagenomskim studijama, usporedbom mikrobioma kože mlađih i starijih osoba, utvrđena je smanjena prisutnost roda *Actinobacteria* i povećana raznolikost mikrobioma kože starijih osoba. Smatra se kako je raznolikost mikrobioma kože starijih osoba povezana sa mikroflorom usne šupljine (kao i kod pacijenata s dijagnozom atopijskog dermatitisa) što bi moglo rezultirati narušavanjem ravnoteže između samog mikrobioma, kože i imunološkog sustava [116].

Probiotici zbog svojih potencijalnih mehanizama djelovanja čine obećavajuću „anti-age“ terapiju. Dosadašnjim istraživanjima utvrđeno je da mogu djelovati na sastav crijevne mikroflore, producirati antimikrobne supstance i stimulirati imunološki odgovor. Kliničkom studijom koju su provodili Bouilly-Gauthier i sur. [117] dokazan je protektivni efekt *Lactobacillus johnsonii* u zaštiti od UV induciranog smanjenja epidermalnih Langerhansovih stanica kao i ubrzani oporavak imunološkog sustava kože. Neki sojevi *Bifidobacterium* vrsta također su iskazali svoje protuupalno djelovanje djelujući na produkciju citokina [118].

Suha koža uzrokovana disbalansom između količine vlage u rožnom sloju kože i intercelularnim lipidima jedna je od kliničkih manifestacija starenja kože. Ceramidi imaju važnu ulogu u očuvanju barijere kože kao i u zadržavanju vode u rožnom sloju kože. Topikalna primjena lizata bakterije *Streptococcus thermophilus* u trajanju od dva tjedna, rezultirala je značajnim povećanjem razine ceramida u rožnom sloju kože i povećanom hidratacijom kože što je poželjan učinak kod kseroze uzrokovane starenjem kože [119].

Nakon sedamdesete godine života dolazi do promjene u pH vrijednosti kože vjerojatno zbog oštećene cirkulacije, posljedično smanjene opskrbe kisikom. Jedan od mehanizma djelovanja probiotika je i proizvodnja molekula kojima zakiseljavaju mikrookoliš. Pojedine *Lactobacillus* vrste proizvode kratkolančane masne kiseline što može doprinjeti terapijskom efektu potencijalnog probiotičkog pripravka [120]. *Lactobacillus plantarum* HY7714 primijenjen oralno doprinosi reduciranju znakova starenja limitiranjem bora, poboljšava elastičnost i sjaj kože u žena sa suhom kožom i borama [120]. Probiotici zbog svojih potencijalnih mehanizama djelovanja čine obećavajuću „anti-age“ terapiju iako su potrebna daljnja istraživanja kako bi se utvrdila doza, soj kao i način primjene probiotičkog pripravka.

## 5. ZAKLJUČAK

Nova saznanja o mikrobiomu kože mogu se iskoristiti u istraživanju i razvoju novih formulacija probiotičkih pripravaka u području dermatologije. Probiotici kao potencijalni pripravci u prevenciji/liječenju određenih stanja kože jednog bi dana mogli poboljšati učinkovitost ili potpuno zamjeniti kemoterapeutike koji osim terapijskog učinka ispoljavaju i svoje neželjene nuspojave.

Iako je sve veći broj istraživanja koji obuhvaća primjenu probiotika u dermatologiji, područje je još uvijek relativno neistraženo. Pojedine studije prikazale su kontradiktorne rezultate. Većina studija rađena je na manjem broju pacijenata, korišteni su različiti sojevi i doze probiotika uz različiti režim doziranja kao i vrijeme trajanja terapije. Najviše istraživanja vezano je uz oralnu primjenu probiotika kod upalnih bolesti kože kao što su atopijski dermatitis, akne, psorijaza i rozacea, a nešto manje uz njihovu primjenu u *anti-age* terapiji, reaktivnoj koži i cijeljenju rana. Mogućnosti topikalne primjene u samom su začetku. Broj studija kojima je dokazana učinkovitost primjene probiotika u određenim indikacijama ograničen je, a njihova kvaliteta varijabilna stoga su potrebna dodatna istraživanja kako bi se potvrdila opravdanost njihove kliničke primjene.

Trenutačno ne postoje smjernice za kliničku primjenu probiotika u dermatologiji stoga su potrebna daljnja istraživanja koja će definirati dozu, mehanizam djelovanja i kliničku učinkovitost pojedinih vrsta/sojeva probiotika u određenim indikacijama.

## 6. LITERATURA

1. Kolarsick PAJ, Kolarsick MA, Goodwin C. Anatomy and physiology of the skin. *Journal of the Dermatology Nurses Association* 2011;3:203-213.
2. Losquadro WD. Anatomy of the skin and the pathogenesis of nonmelanoma skin cancer. *Facial Plast Surg Clin North Am* 2015;3:283-289.
3. Monteiro-Riviere NA. Structure and function of skin. U: Riviere JE, ur. *Dermal absorption model sin toxicology and pharmacology*. CRC, Taylor and Francis, 2006;1-19.
4. Arda O, Göksügür N, Tüzün Y. Basic histological structure and functions of facial skin. *Clinics in Dermatology* 2014;32:3-13.
5. Čajkovac M. *Kozmetologija*. Naklada Slap; 2005, str. 25-53.
6. O'Neill CA, Monteleone G, McLaughlin JT, Paus R. The gut-skin axis in health and disease: a paradigm with therapeutic implications. *Bioessays* 2016;38:1167-1176.
7. Salem I, Ramser A, Isham N, Ghannoum MA. The gut microbiome as a major regulator of the gut skin axis. *Frontiers in Microbiology* 2018;9:1-14.
8. Hill C, Guarner F, Reid G i sur. The international scientific association for probiotics and prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of term probiotic. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2014;11:506-514.
9. International Probiotics Association (IPA): IPA guidelines to qualify a microorganism as probiotic.  
Available at: <http://internationalprobiotics.org/download/ipa-guidelines-qualify-microorganism-probiotic/>. Accessed October 01, 2020.
10. Kumar H, Salminen S, Probiotics. U: Caballero B, Finglas PM, Toldrá, ur. *Encyclopedia of food and health*. Academic press, 2016;510-515.
11. Ciorba AM. A gastroenterologist's guide to probiotics. *Clin Gastroenterol Hepato* 2012;9:960-968.
12. Vitali Čepo D, Prusac M, Velkovski Škopić O, Tatarević A. Preporuke o primjeni probiotika u ljekarničkoj praksi. *Medicus* 2020;29:115-134.
13. Markowiak P, Ślizewska K. Effects of probiotics, prebiotics, and synbiotics on human health. *Nutrients* 2017;9:1-30.
14. Fenster K, Freeburg B, Hollard C, Wong C, Laursen RR, Ouwehand AC. The production and delivery of probiotics: a review of a practical approach. *Microorganisms* 2019;7:83.

15. Bienenstock J, Gibson G, Klaenhammer TR, Walker WA, Neish AS. New insights into probiotic mechanisms. A harvest from functional and metagenomic studies. *Gut Microbes* 2012;4:94-100.
16. Bermudez-Brito M, Plaza-Diaz J, Muñoz-Quezada S, Gómez C, Gil A. Probiotic mechanisms of action. *Ann Nutr Metab* 2012;61:160-174.
17. Didari T, Solki S, Mozaffari S, Nikfar S, Abdollahi M. A systematic review of the safety of probiotics. *Expert Opin Drug Saf* 2014;13:227-239.
18. Doron S, Snyderman DR. Risk and safety of probiotics. *Clinical Infectious Diseases* 2015;60:129-134.
19. Davani-Davari D, Negahdaripour M, Karimzadeh i sur. Prebiotics: Definition, types, sources, mechanisms, and clinical applications. *Foods* 2019;8:1-27.
20. Binda S, Hill C, Johansen E i sur. Criteria to qualify microorganisms as „probiotic“ in foods and dietary supplements. *Frontiers in Microbiology* 2020;11:1-9.
21. International Probiotics Association (IPA): Probiotic manufacturing guidelines. Available at: <http://internationalprobiotics.org/wp-content/uploads/IPA-Probiotic-Manufacturing-Guidelines-2019.pdf>. Accessed October 01, 2020.
22. Kolaček S, Hojsak I, Canani RB i sur. Commercial probiotic products: a call for improved quality control. A position paper by the ESPGHAN working group for probiotics and prebiotics. *JPGN* 2017;65:117-124.
23. Venugopalan V, Shriner KA, Wong-Beringer A. Regulatory oversight and safety of probiotic use. *Emerging Infectious Diseases* 2010;16:1661-1665.
24. De Simone C. The unregulated probiotic market. *Clin Gastroenterol and Hepatol* 2019;17:809-817.
25. Council for Responsible Nutrition (CRN): Best practices guidelines for probiotics 2017. Available at: <https://www.crnusa.org/self-regulation/voluntary-guidelines-best-practices/best-practices-guidelines-probiotics>. Accessed June 01, 2018.
26. Grice EA, Segre JA. The skin microbiome. *Nature Reviews Microbiology* 2011;9:244-253.
27. Grice EA, Kong HH, Renaud G i sur. A diversity profile of the human skin microbiota. *Genome Res* 2008;7:1043-1050.
28. Grice EA. The skin microbiome: potential for novel diagnostic and therapeutic approaches to cutaneous disease. *Semin Cutan Med Surg* 2014;33:98-103.
29. Egert M, Simmering R. The microbiota of the human skin. *Adv Exp Med Biol* 2016;902:61-81.

30. Aagaard K, Petrosino J, Keitel W i sur. The human microbiome project strategy for comprehensive sampling of the human microbiome and why it matters. *Faseb J* 2013;3:1012-1022.
31. Woods CA. Overview of atopic dermatitis. *Am J Manag Care* 2017;23:115-123.
32. Norreslet LB, Agner T, Clausen ML. The skin microbiome in inflammatory skin diseases. *Curr Derm Rep* 2020;9:141-151.
33. Yamazaki Y, Nakamura Y, Núñez G. Role of the microbiota in skin immunity and atopic dermatitis. *Allergology International* 2017;66:539-544.
34. Nakatsuji T, Gallo RL. The role of the skin microbiome in atopic dermatitis. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2019;122:263-269.
35. Kim JE, Kim HS. Microbiome of the skin and gut in atopic dermatitis (AD): understanding the pathophysiology and finding novel management strategies. *J Clin Med* 2019;8:1-23.
36. Williams HC, Dellavalle RP, Garner S. Acne vulgaris. *Lancet* 2012;379:361-372.
37. Lee YB, Byun EJ, Kim HS. Potential role of the microbiome in acne: a comprehensive review. *J Clin Med* 2019;8:1-25.
38. Ramasamy S, Barnard E, Dawson Jr TL, Li H. The role of the skin microbiota in acne pathophysiology. *Br J Dermatol* 2019;181:691-699.
39. Murillo N, Raoult D. Skin microbiota: overview and role in the skin diseases acne vulgaris and rosacea. *Future Microbiol* 2013;8:209-222.
40. Bowe WP, Ptel NB, Logan AC. Acne vulgaris, probiotics and the gut-brain-skin axis: from anecdote to translational medicine. *Benef Microbes* 2014;5:185-199.
41. Benhadou F, Mintoff D, Schnebert B, Thio HB. Psoriasis and microbiota: a systematic review. *Diseases* 2018;6:1-9.
42. Stehlikova Z, Kostovcik M, Kostovcikova K i sur. Dysbiosis of skin microbiota in psoriatic patients: co-occurrence of fungal and bacterial communities. *Front Microbiol* 2019;10:1-13.
43. Wang W-M, Jin H-Z. Skin microbiome: An actor in the pathogenesis of psoriasis. *Chin Med J* 2018;131:95-98.
44. Lewis DJ, Chan WH, Hinojosa T, Hsu S, Feldman SR. Mechanisms of microbial pathogenesis and the role of the skin microbiome in psoriasis: a review. *Clin Dermatol* 2019;37:160-166.
45. Yerushalmi M, Elalouf O, Anderson M, Chandran V. The skin microbiome in psoriatic disease: a systematic review and critical appraisal. *J Transl Autoimmun* 2019;2:100009.



46. Van Zuuren EJ. Rosacea. *N Engl J Med* 2017;377:1754-1764.
47. Picardo M, Ottaviani M. Skin microbiome and skin disease: the example of rosacea. *J Clin Gastroenterol* 2014;48:85-86.
48. Skokovic-Sunjic D. Clinical guide to PROBIOTIC PRODUCTS AVAILABLE IN CANADA: 2017 Edition Indications, Dosage Forms, and Clinical Evidence to Date. 2017.
49. World Gastroenterology Organisation. Global Guidelines Probiotics and prebiotics (2017).  
Available at: <https://www.spg.pt/wp-content/uploads/2015/07/2017-Probiotics-and-Prebiotics.pdf>. Accessed October 24, 2020.
50. Yu Y, Dunaway S, Champer J, Kim J, Alikhan A. Changing our microbiome: probiotics in dermatology. *Br J Dermatol* 2020;182:39-46.
51. Mottin VHM, Suyenaga ES. An approach on the potential use of probiotics in the treatment of skin conditions: acne and atopic dermatitis. *Int J Dermatol* 2018;57:1425-1432.
52. Enomoto T, Sowa M, Nishimori K i sur. Effects of Bifidobacterial supplementation to pregnant women and infants in the prevention of allergy development in infants and on fecal microbiota. *Allergol Int* 2014;63:575-585.
53. Abrahamsson TR, Jakobsson T, Bottcher MF, Fredrikson M, Jenmalm MC, Bjorksten B, Oldaeus G. Probiotics in prevention of IgE-associated eczema: a double-blind, randomized, placebo-controlled trial. *J Allergy Clin Immunol* 2007;119:1174–1180.
54. Allen SJ, Jordan S, Storey M i sur. Probiotics in the prevention of eczema: a randomised controlled trial. *Arch Dis Child* 2014;99:1014-1019.
55. Avershina E, Cabrera-Rubio R, Lundgård K i sur. Effects of probiotics in prevention of atopic dermatitis is dependent on the intrinsic microbiota at early infancy. *J Allergy Clin Immunol* 2017;139:1399-1402.
56. Kalliomaki M, Salminen S, Arvilommi H, Kero P, Koskinen P, Isolauri E. Probiotics in primary prevention of atopic disease: a randomised placebo-controlled trial. *Lancet* 2001;357:1076–1079.
57. West CE, Hammarstrom ML, Hernell O. Probiotics during weaning reduce the incidence of eczema. *Pediatr Allergy Immunol.* 2009;20:430– 437.
58. Rae Simpson M, Kvikne Dotterud C, Storrø O, Johnsen R, Øien T. Perinatal probiotic supplementation in the prevention of allergy related disease: 6 year follow up of a randomised controlled trial. *BMC Dermatol* 2015;15:13.

59. Awasthi S, Wilken R, Patel F i sur. Dietary supplementation with *Bifidobacterium longum* subsp. *infantis* (*B. infantis*) in healthy breastfed infants: study protocol for a randomised controlled trial. *Trials* 2016;17:340.
60. Taylor AL, Dunstan JA, Prescott SL. Probiotic supplementation for the first 6 months of life fails to reduce the risk of atopic dermatitis and increases the risk of allergen sensitization in high-risk children: a randomized controlled trial. *J Allergy Clin Immunol* 2007;119:184-191.
61. Drago L, Iemoli E, Rodighiero V, Nicola L, De Vecchi E, Piconi S. Effects of *Lactobacillus salivarius* LS01 (DSM 22775) treatment on adult atopic dermatitis: a randomized placebo-controlled study. *Int J Immunopathol Pharmacol* 2011;24:1037-1048.
62. Drago L, Toscano M, De Vecchi E, Piconi S, Iemoli E. Changing of fecal flora and clinical effect of *L. salivarius* LS01 in adults with atopic dermatitis. *J Clin Gastroenterol* 2012;46:56-63.
63. Drago L, De Vecchi E, Toscano M, Vassena C, Altomare G, Pigatto P. Treatment of atopic dermatitis eczema with a high concentration of *Lactobacillus salivarius* LS01 associated with an innovative gelling complex, a pilot study on adults. *J Clin Gastroenterol* 2014;48:47-51.
64. Passeron T, Lacour J-P, Fontas E, Ortonne J-P. Prebiotics and synbiotics: two promising approaches for the treatment of atopic dermatitis in children above 2 years. *Allergy* 2006;61:431-437.
65. Inoue Y, Kambara T, Murata N i sur. Effects of oral administration of *Lactobacillus acidophilus* L-92 on the symptoms and serum cytokines of atopic dermatitis in Japanese adults: a double-blind, randomized, clinical trial. *Int Arch Allergy Immunol* 2014;165:247-254.
66. Matsumoto M, Ebata T, Hirooka J i sur. Antipruritic effects of the probiotic strain LKM512 in adults with atopic dermatitis. *Ann Alergy Asthma Immunol* 2014;113:209-216.
67. Navarro-López V, Ramirez-Boscá A, Ramón-Vidal D i sur. Effect of oral administration of a mixture of probiotic strains on SCORAD indeks and use of topical steroids in young patients with moderate atopic dermatitis, a randomized clinical trial. *JAMA Dermatol* 2018;154:37-43.

68. Fölster-Holst R, Müller F, Schnopp D i sur. Prospective, randomized controlled trial on *Lactobacillus rhamnosus* in infants with moderate to severe atopic dermatitis. *Br J Dermatol* 2006;155:1256-1261.
69. Wang IJ, Wang JY. Children with atopic dermatitis show clinical improvement after *Lactobacillus* exposure. *Clin Exp Allergy* 2015;45:779–787.
70. Prakoeswa CRS, Herwanto N, Prameswari R i sur. *Lactobacillus plantarum* IS-10506 supplementation reduced SCORAD in children with atopic dermatitis. *Benef Microbes* 2017;8:833-840.
71. Goodarzi A, Mozafarpour S, Bodaghabadi M, Mohamadi M. The potential of probiotics for treating acne vulgaris: a review of literature on acne and microbiota. *Dermatol Ther* 2020;33:13279.
72. Bowe WP, Patel NB, Logan AC. Acne vulgaris, probiotics and the gut-brain-skin axis: from anecdote to translational medicine. *Benef Microbes* 2014;5:185-199.
73. Siver RH. *Lactobacillus* for the control of acne. *J Med Soc N J* 1961;59:52-53.
74. Fabroccini G, Bertona M, Picazo O, Pareja-Galeano H, Monfrecola G, Emanuele E. Supplementation with *Lactobacillus rhamnosus* SP1 normalises skin expression of genes implicated in insulin signalling and improves adult acne. *Benef Microbes* 2016;7:625-630.
75. Jung GW, Tse JE, Guiha I, Rao J. Prospective, randomized, open-label trial comparing the safety, efficacy, and tolerability of an acne treatment regimen with and without a probiotic supplement and minocycline in subjects with mild to moderate acne. *J Cutan Med Surg* 2013;17:114-122.
76. Alesa DI, Alshamrani HM, Alzahrani YA, Alamssi DN, Alzahrani NS, Almohammadi ME. The role of gut microbiome in the pathogenesis of psoriasis and the therapeutic effects of probiotics. *J Family Med Prim Care* 2019;8:3496-3503.
77. Atabati H, Esmaeili S-A, Sburi E i sur. Probiotics with ameliorating effects on the severity of skin inflammation in psoriasis: Evidence from experimental and clinical studies. *J Cell Physiol* 2020;235:8925-8937.
78. Chen YH, Wu CS, Chao YH i sur. *Lactobacillus pentosus* GMNL-77 inhibits skin lesions in imiquimod-induced psoriasis-like mice. *J Food Drug Anal* 2017;25:559-566.
79. Vijayashankar M, Raghunath N. Pustular psoriasis responding to probiotics-a new insight. *Our Dermatol Online* 2012;3:326-328.
80. Groeger D, O'Mahony L, Murphy EF i sur. *Bifidobacterium infantis* 35624 modulates host inflammatory processes beyond the gut. *Gut Microbes* 2013;4:325-339.

81. Navarro-López V, Martínez-Andrés A, Ramírez-Boscà A i sur. Efficacy and safety of oral administration of a mixture of probiotic strains in patients with psoriasis: a randomized controlled clinical trial. *Acta Derm Venereol* 2019;99:1078-1084.
82. Picardo M, Ottaviani M. Skin microbiome and skin disease: the example of rosacea. *J Clin Gastroenterol* 2014;48:85-86.
83. Fortuna MC, Garelli V, Pranteda G i sur. A case of scalp rosacea treated with low dose doxycycline and probiotic therapy and literature review on therapeutic options. *Dermatol Ther* 2016;29:249-251.
84. Fijan S, Frauwallner A, Langerholc T i sur. Efficacy of using probiotics with antagonistic activity against pathogens of wound infections: an integrative review of literature. *Biomed Res Int* 2019;7585486..
85. Liu Z, Qin H, Yang Z i sur. Randomised clinical trial: the effects of perioperative probiotic treatment on barrier function and post-operative infectious complications in colorectal cancer surgery-a double-blind study. *Alim Pharm and Therap* 2011;33:50–63.
86. Zhang JW, Du P, Yang BR, Gao J, Fang WJ, Ying CM. Preoperative probiotics decrease postoperative infectious complications of colorectal cancer. *The Amer Journal of the Med Sc* 2012;343:199–205.
87. Yang Y, Xia Y, Chen H i sur. The effect of perioperative probiotics treatment for colorectal cancer: short-term outcomes of a randomized controlled trial. *Oncotarget* 2016;7:8432–8440.
88. Mohseni S, Bayani M, Bahmani F i sur. The beneficial effects of probiotic administration on wound healing and metabolic status in patients with diabetic foot ulcer: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Diabetes Metab Res Rev* 2018:34.
89. Richters R, Falcone D, Uzunbajakava N, Verkruysse W, Erp van P, Kerkhof van de P. What is sensitive skin? A systematic literature review of objective measurements. *Skin Pharmacol Physiol* 2015;28:75-83.
90. Guéniche A, Philippe D, Bastien P, Reuteler G. Randomised double-blind placebo-controlled study of the effect of *Lactobacillus paracasei* NCC 2461 on skin reactivity. *Benef Microbes* 2014;5:137-145.
91. Tavaría FK. Topical use of probiotics: The natural balance. *Porto Biomed J* 2017;2:69-70.

92. Knackstedt R, Knackstedt T, Gatherwright J. The role of topical probiotics in skin conditions: A systematic review of animal and human studies and implications for future therapies. *Exp Dermatol* 2020;29:15-21.
93. Ambrozej D, Kunkiel K, Dumycz K, Feleszko W. The use of probiotics and bacteria - derived preparations in topical treatment of atopic dermatitis - a systematic review. *J Allergy Clin Immunol Pract.* 2020.
94. Nakatsuji T, Chen TH, Narala S i sur. Antimicrobials from human skin commensal bacteria protect against *Staphylococcus aureus* and are deficient in atopic dermatitis. *Sci Transl Med* 2017;9:4680.
95. Myles IA, Earland NJ, Anderson ED i sur. First-in-human topical microbiome transplantation with *Roseomonas mucosa* for atopic dermatitis. *JCI Insight* 2018;3:120608.
96. Réthoré-Blanchet S, Bourdés V, Mercenier A, Haddar CH, O Verhoeven P, Andres P. Effect of a lotion containing the heat-treated probiotic strain *Lactobacillus johnsonii* NCC 533 on *Staphylococcus aureus* colonization in atopic dermatitis. *Clin Cosmet Investig Dermatol* 2017;10:249-257.
97. Di Marzio L, Cinque B, De Simone C, Grazia Cifone M. Effect of the lactic acid bacterium *Streptococcus thermophilus* on ceramide levels in human keratinocytes in vitro and stratum corneum in vivo. *J Invest Dermatol* 1999;113:98-106.
98. Di Marzio L, Centi C, Cinque B i sur. Effect of the lactic acid bacterium *Streptococcus thermophilus* on stratum corneum ceramide levels and signs and symptoms of atopic dermatitis patients. *Exp Dermatol* 2003;12:615-620.
99. Guéniche A, Dahel K, Bastien P, Mrtin R, Nicolas JF, Breton L. *Vitreoscilla filiformis* bacterial extract to improve the efficacy of emollient used in atopic dermatitis symptoms. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2008;22:746-747.
100. Gueniche A, Knaudt B, Schuck E i sur. Effects of nonpathogenic gram-negative bacterium *Vitreoscilla filiformis* lysate on atopic dermatitis: a prospective, randomized, double-blind, placebo-controlled clinical study. *British J of Dermatology* 2008;159:1357-1363.
101. Goodarzi A, Mozafarpour S, Bodaghabadi M, Mohamadi M. The potential of probiotics for treating acne vulgaris: A review of literature on acne and microbiota. *Dermatol Ther* 2020;33:13279.
102. Wang Y, Kuo S, Shu M i sur. *Staphylococcus epidermidis* in the human skin microbiome mediates fermentation to inhibit the growth of *Propionibacterium acnes*:

- Implications of probiotics in acne vulgaris. *Appl Microbiol Biotechnol* 2014;98:411-424.
103. Bowe WP, Filip JC, DiRienzo JM, Volgina A, Margolis DJ. Inhibition of *Propionibacterium acnes* by Bacteriocin-Like Inhibitory Substances (BLIS) produced by *Streptococcus salivarius*. *J Drugs Dermatol* 2006;5:868-870.
  104. Kang BS, Seo JG, Lee GS i sur. Antimicrobial activity of enterocins from *Enterococcus faecalis* SL-5 against *Propionibacterium acnes*, the causative agent in acne vulgaris, and its therapeutic effect. *J Microbiol* 2009;47:101-109.
  105. Muizzuddin N, Maher W, Sullivan M, Schnittger S, Mammone T. Physiologic effect of a probiotic on the skin. *J Cosmet Sci* 2012;63:385-395.
  106. Rather IA, Bajpai VK, Huh YS i sur. Probiotic *Lactobacillus sakei* proBio65 extract ameliorates the severity of imiquimod induced psoriasis-like skin inflammation in a mouse model. *Front Microbiol* 2018;9:1021.
  107. Mayes T, Gottschlich MM, James LE, Allgeier C, Weitz J, Kagan RJ. Clinical safety and efficacy of probiotic administration following burn injury. *J Burn Care Res* 2015;36:92-99.
  108. Knackstedt R, Knackstedt T, Gatherwright J. The role of topical probiotics on wound healing: A review of animal and human studies. *Exp Dermatol* 2020;1:15-21.
  109. Oryan A, Alemzadeh E, Eskandari MH. Kefir accelerates burn wound healing through inducing fibroblast cell migratoin in vitro and modulating the expression of IL-1ss, TGF-ss1, and Bfgf genes in vivo. *Probiotics Antimicrob Proteins* 2019;3:874-886.
  110. Argenta A, Satish L, Gallo P, Liu F, Kathju S. Local application of probiotic bacteria prophylaxes against sepsis and death resulting from burn wound infection. *PLoS One* 2016;11:1-16.
  111. Peral MC, Huaman Martinez MA, Valdez JC. Bacteriotherapy with *Lactobacillus plantarum* in burns. *Int Wound J* 2009;6:73-81.
  112. Twetman S, Keller MK, Lee L, Yucel-Lindberg T, Lynge Pedersen AM. Effect of probiotic lozenges containing *Lactobacillus reuteri* on oral wound healing: a pilot study. *Benef Microbes* 2018;9:691-696.
  113. Guéniche A, Bastien P, Ovigne JM i sur. *Bifidobacterium longum* lysate, a new ingredient for reactive skin. *Exp Dermatol* 2010;19:1-8.
  114. Russell Goldman E, Murphy GF. The pathobiology of skin aging New insights into an old dilemma. *Am J Pathol* 2020;190:1356-1369.

115. Parrado C, Mercado-Saenz S, Perez-Davo A, Gilaberte Y, Gonzalez S, Juarranz A. Environmental stressors on skin aging. Mechanistic insights. *Front Pharmacol* 2019;10:759.
116. Shibagaki N, Suda W, Clavaud C i sur. Aging-related changes in the diversity of women`s skin microbiomes associated with oral bacteria. *Sci Rep* 2017;7:10567.
117. Bouilly-Gauthier D, Jeannes C, Maubert Y i sur. Clinical evidence of benefits of a dietary supplement containing probiotic and carotenoids on ultraviolet-induced skin damage. *Br J Dermatol* 2010;163:536-543.
118. Cinque B, Palumbo P, La Torre C, Melchiorre E, Corridoni D, Miconi G i sur. Probiotics in aging skin. U: Farage M, Miller K, Maibach H, ur. *Textbook of aging skin*. Berlin Springer-Verlag, 2010;811-820.
119. Di Marzio L, Cinque B, Cupelli F, De Simone C, Cifone MG, Giuliani M. Increase of skin-ceramide levels in aged subjects following a short-term topical application of bacterial sphingomyelinase from *Streptococcus thermophilus*. *Int J Immunopathol Pharmacol* 2008;21:137-143.
120. Lee Eun D, Huh CS, Ra J i sur. Clinical evidence of effects of *Lactobacillus plantarum* HY7714 on skin aging: a randomized, double blind, placebo-controlled study. *J Microbiol Biotechnol* 2015;25:2160-2168.