Primjena probiotika u dermatofarmaciji

Đurek, Mirjana

Master's thesis / Diplomski rad

2019

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://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:163:044982

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-29**

Repository / Repozitorij:

Repository of Faculty of Pharmacy and Biochemistry University of Zagreb

zir.nsk.hr

dabar
DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJI

Mirjana Đurek

Primjena probiotika u dermatofarmaciji

DIPLOMSKI RAD

Predan Sveučilištu u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskom fakultetu

Zagreb, 2019.

Ovaj diplomski rad prijavljen je na kolegiju Kozmetologija Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta i izrađen na Zavodu za farmaceutsku tehnologiju pod stručnim vodstvom izv. prof. dr. sc. Ivana Pepića.

Zahvaljujem se mentoru izv. prof. dr. sc. Ivanu Pepiću na stručnom vodstvu, velikoj pomoći i savjetima tijekom izrade ovog diplomskog rada.

Najveću zahvalnost dugujem mami, tati, braći Dominiku i Branimiru te sestrama Barbari i Marti na nesebičnom razumijevanju i bezuvjetnoj potpori tijekom studija. Ovaj diplomski rad posvećujem vama kao mali znak zahvale za strpljenje tijekom svih ovih godina. Hvala Vam!

Također, zahvaljujem svim svojim prijateljima koji su mi na bilo koji način uljepšali sve ove godine moga studiranja.

SADRŽAJ

1. UVOD 1
1.1. DEFINICIJA PROBIOTIKA 1
1.2. MIKROBIOTA 3
1.2.1. Mikrobiota kože 3
1.3. MEHANIZAM DJELOVANJA 5
1.4. PRIMJENA PROBIOTIKA 8
1.5. SIGURNOST PRIMJENE PROBIOTIKA 9
2. OBRAZLOŽENJE TEME 11
3. MATERIJALI I METODE 12
4. REZULTATI I RASPRAVA 13
4.1. UČINAK PROBIOTIKA NA ZDRAVLJE I IZGLED KOŽE 13
4.1.1. Akne 13
4.1.2. Rosacea 15
4.1.3. Atopijski dermatitis 17
4.1.4. Psorijaza 18
4.2. POTENCIJALNA ULOGA PROBIOTIKA U DERMATOLOGIJI 19
4.2.1. Starenje kože i zaštita od ultraljubičastog zračenja 19
4.2.2. Opekline i zacjeljivanje rana 21
5. ZAKLJUČAK 22
6. LITERATURA 23
7. SAŽETAK / SUMMARY 28
Temeljna dokumentacijska kartica / Basic Documentation Card

1. UVOD

1.1. DEFINICIJA PROBIOTIKA

Probiotici su živi mikroorganizmi koji značajno pridonose zdravstvenoj dobrobiti organizma. Naziv "probiotik" dolazi od grčkih riječi "pro" (za) i "bios" (život) što upućuje na povoljan utjecaj probiotika u svakodnevnom životu. Godine 1907., kada je ruski znanstvenik Elie Metchnikoff uočio pozitivan učinak bakterija mliječne kiseline na zdravlje i životni vijek ljudi, započela je era daljnjeg istraživanja mnogostrukog pozitivnog djelovanja probiotika. Najčešće oblikovani kao fermentacijski proizvodi, probiotici se uspješno suprotstavljaju patogenim bakterijama i pridonose regulaciji urođenog i stečenog imunosnog sustava (Romanian Biotechnological Letters, 2015).

Prebiotici su definirani kao neprobavljivi oligosaharidi, koji selektivno stimuliraju rast određenih bakterija u debelom crijevu te se tako postiže probiotički učinak. Najčešće korištene bakterije kao probiotici su *Lactobacillus* i *Bifidobacterium*, ali su uključeni i proizvodi koji sadrže druge organizme kao što su gram-pozitivni koki, bacili, kvasci i *E.coli*. Probiotički pripravci široko su dostupni potrošačima kao prašci, tablete, pića i fermentirani mliječni proizvodi. Prva generacija probiotika (koja se naziva i bakterijska terapija) odnosi se na prirodno nastale sojeve, dok su druge generacije bakterijskih terapeutika genski modificirane i temelje se na prirodnim sojevima laktobacila, gdje su geni koji proizvode moćne antivirusne spojeve (na primjer, jednolančana protutijela ili antivirusni spojevi poput cijanovirina) umetnuti u *Lactobacillus* genom. Razvoj definicije probiotika iz onoga koji se fokusira na crijeva prema sadašnjim „živim mikroorganizmima koji kada se daju u odgovarajućim količinama daju zdravstvenu dobrobit domaćinu", odražava širu primjenjivost mikroba domaćinu.

Tablica 1. Primjeri probiotičkih sojeva

Rod	**Vrsta**
Lactobacillus	*Lact. acidophilus* *Lact. brevis* *Lact. casei* *Lact. curvatus* *Lact. fermentum* *Lact. gasseri* *Lact. johnsonii* *Lact. reuteri* *Lact. rhamnosus* *Lact. salivarius*
Bifidobacteruim	*Bif. adolescentis* *Bif. animalis* *Bif. breve* *Bif. infantis* *Bif. longum* *Bif. thermophilus*
Enterococcus	*Ent. faecalis* *Ent. faecium*
Streptococcus	*Strep. thermophilus*
Lactobacillus	*L. lactis subsp. cremoris* *L. lactis subsp. lactis*
Propionibacterium	*P. freudenreichii* *P. freudenreichii subsp. shermanii* *P. jensenii*
Kvasci	*Kluyveromyces lactis* *Saccharomyces boulardii* *Saccharomyces cerevisiae*
Ostali	*Leuconostoc mesenteroides* *Pediococcus acidilactici*

1.2. MIKROBIOTA

Razumijevanje ljudske mikrobiote, kao mikrobne zajednice koja se nalazi u ljudskom tijelu, znatno je poraslo kao rezultat projekta ljudskog mikrobioma (eng. Human Microbiome Project, HMP). Shvativši da mikrobne populacije nadmašuju ljudske stanice za deset puta u našem tijelu, Nacionalni institut zdravlja (NIH) pokrenuo je HMP 2007. godine kako bi istražili mikrobiotu raznih dijelova ljudskog tijela. Napredak u genskim tehnologijama i računalnim metodologijama omogućuje sveobuhvatnu karakterizaciju mikrobnih sastava, uključujući one koji se ne mogu uzgajati na mikrobiološkim medijima (Gill i sur., 2006). Mikrobiota se mijenja s procesom starenja kroz život te na nju utječu unutarnji (zdravlje domaćina) i vanjski (okolišni) čimbenici. Općenito, razlike u mikrobnoj zajednici unutar pojedinca manje su od onih između pojedinaca. Među ciljevima HMP-a, razumijevanje uloge mikrobiote u zdravstvenom statusu domaćina nesumnjivo je jedan od glavnih prioriteta. U prošlosti su se mikrobne bolesti usredotočile na pojedinačne patogene, dok noviji pristup procjenjuje mikrobne zajednice i njihove interakcije s domaćinom kako bi se bolje razumjelo zdravstveno stanje pojedinca. Brojne su studije otkrile da je disbioza, poremećaj u mikrobiološkom ekosustavu, odgovorna za razne bolesti i poremećaje. Probavni sustav je najbolje istraženo mjesto u HMP-u i dao je vrijedne znanstvene spoznaje. Metagenomske analize mikrobioma crijeva pokazale su mnoge incidencije koje povezuju pomak populacija s bolestima i poremećajima; to uključuje različite tipove proljeva (npr. akutne, putničke i povezane s antibioticima), sindroma iritabilnog crijeva, Crohnove bolesti, pretilosti i drugih stanja (Belizario i Napolitano, 2015).

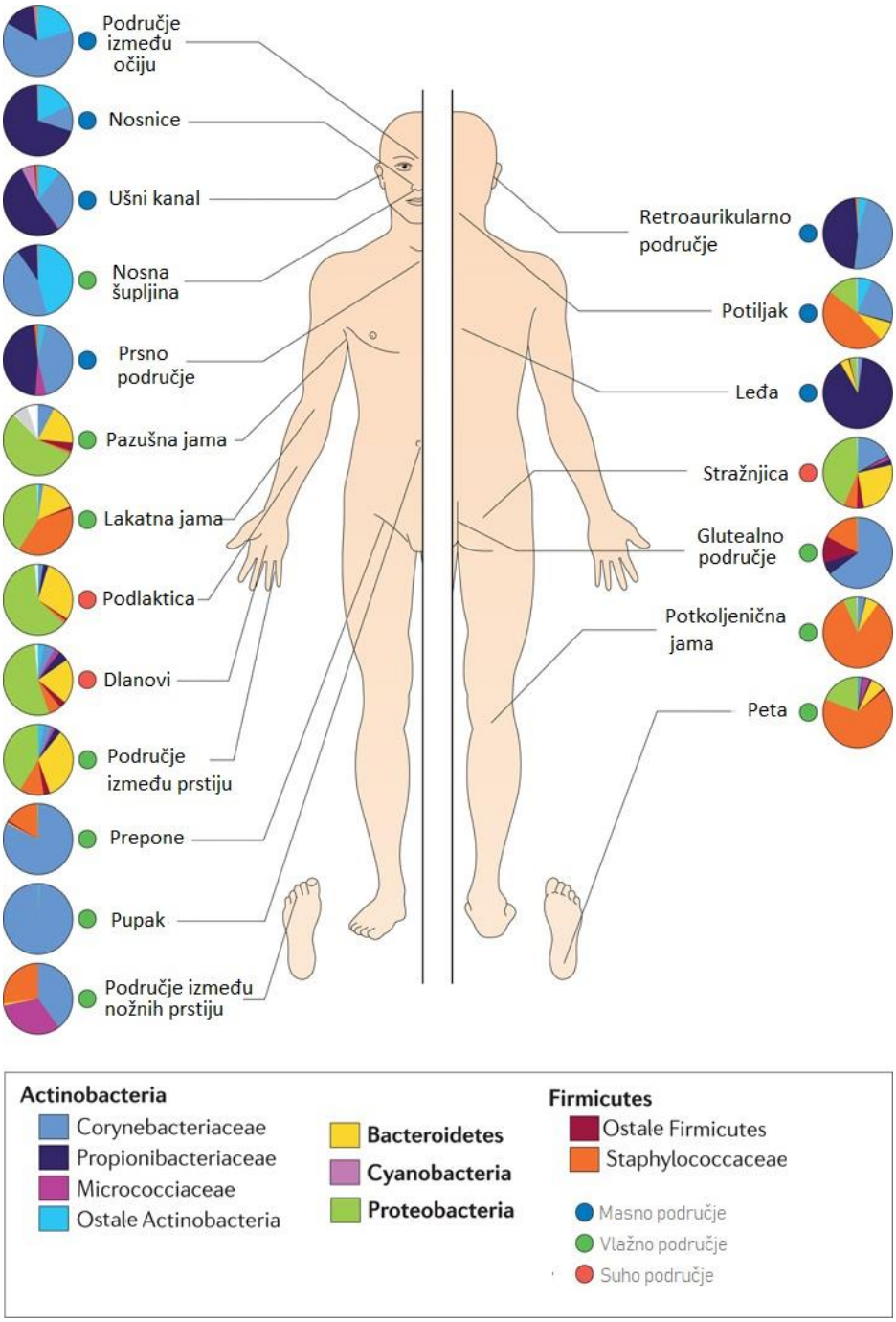
1.2.1. Mikrobiota kože

Koža je najveći organ u ljudskom tijelu čija je primarna funkcija zaštita tijela od vanjskih utjecaja djelujući kao fizička barijera s dodatnim ulogama koje uključuju regulaciju tjelesne temperature, kontrolu isparavanja te skladištenje lipida i vode (Grice i sur., 2011). Kao barijera između unutarnjih organa i vanjskog okoliša, koža je uvijek u kontaktu s različitim tvarima.

Mikroorganizmi, uključujući bakterije, gljivice i viruse koji se nalaze posvuda, često koloniziraju kožu te daju koži zdravstvene koristi tako što izlučuju antibakterijske tvari, sprječavaju kolonizaciju patogena i utječu na imunosni odgovor domaćina. S druge strane, takvi mikroorganizmi mogu uzrokovati bolesti i infekcije ako je fizička barijera kompromitirana zbog traume ili ozljeda (Grice i sur., 2009). Neki se smatraju oportunističkim

patogenima koji postaju infektivni agensi u slučaju kada je domaćin imunokompromitiran zbog operacija, liječenja ili drugih čimbenika.

Sebacealna područja imaju najnižu raznolikost, a vrste *Propionibacterium* su dominantni organizmi. S druge strane, vlažna područja predstavljaju veću raznolikost mikrobiote, s prevladavajućim vrstama *Staphylococcus* i *Corynebacterium*, dok mjesta na koži s većom bakterijskom raznolikošću (npr. podlaktica, šaka) mogu sadržavati raznolikost višu od mikrobioma crijeva. Kiselo stanje koje je posljedica razgradnje sebuma sprječava kolonizaciju patogena na koži (Grice i sur., 2011). Osobna je higijena još jedan čimbenik okoliša koji ima izravan učinak na mikrofloru kože. Sapuni, šminka i proizvodi za njegu kože (npr. hidratacijska sredstva) mijenjaju stanje koje može utjecati na vrste mikroba koji se nalaze na koži. Mikrobiota kože je različita u različitim dobnim skupinama sa značajno različitim bakterijskim zajednicama između najmlađih i najstarijih skupina. Novorođenče dobiva rezidentne bakterije na koži ubrzo nakon rođenja, a na njihov sastav utječe i vrsta poroda. Hormonske promjene tijekom puberteta stimuliraju rast lipofilnih bakterija zbog proizvodnje sebuma. Fiziološke promjene i anatomske razlike također doprinose varijaciji mikrobne zajednice među spolovima. Kako te bakterije dobivaju energiju iz metabolizma masnih kiselina u sebumu, izlučuju se različiti enzimi koji oštećuju tkivo lojnih žlijezda. U kombinaciji s aktiviranim imunosnim odgovorima, to rezultira stanjem kože nazvanim *acne vulgaris*. Osim toga, istraživači su uočili da mlađa djeca imaju veću brojnost *Staphylococcus aureus*, koji su kasnije zamijenjeni lipofilnim i drugim bakterijama. Takav nalaz može imati važne implikacije za kožne poremećaje, kao što je atopijski dermatitis (ili ekcem), koji su češći među djecom, ali često rastu do adolescencije i odrasle dobi (Huang i Tang, 2015).



Slika 1. Mikrobiota kože (prilagođeno prema Grice i Segre, 2011)

1.3. MEHANIZAM DJELOVANJA

Jačanje epitelne barijere. Probiotici mogu utjecati na mnoge komponente epitelne barijere ili smanjenjem apoptoze crijevnih stanica ili povećanjem proizvodnje mucina. U modelima crijevnih epitelnih stanica *Lactobacillus rhamnosus GG* sprječava citokin-induciranu apoptozu inhibiranjem faktora nekroze tumora (TNF). Pokazalo se da vrste *Lactobacillus* povećavaju ekspresiju mucina *in vitro* u ljudskim epitelnim stanicama crijeva, blokirajući time patogenu invaziju *E. coli* i njezino prijanjanje. Utvrđeno je da *Lactobacillus*

rhamnosus GG sprječava upale i programiranu staničnu smrt epitelnih stanica te potiče stanice na dijeljenje i regeneraciju sluznice (Bermudez-Brito i sur., 2012).

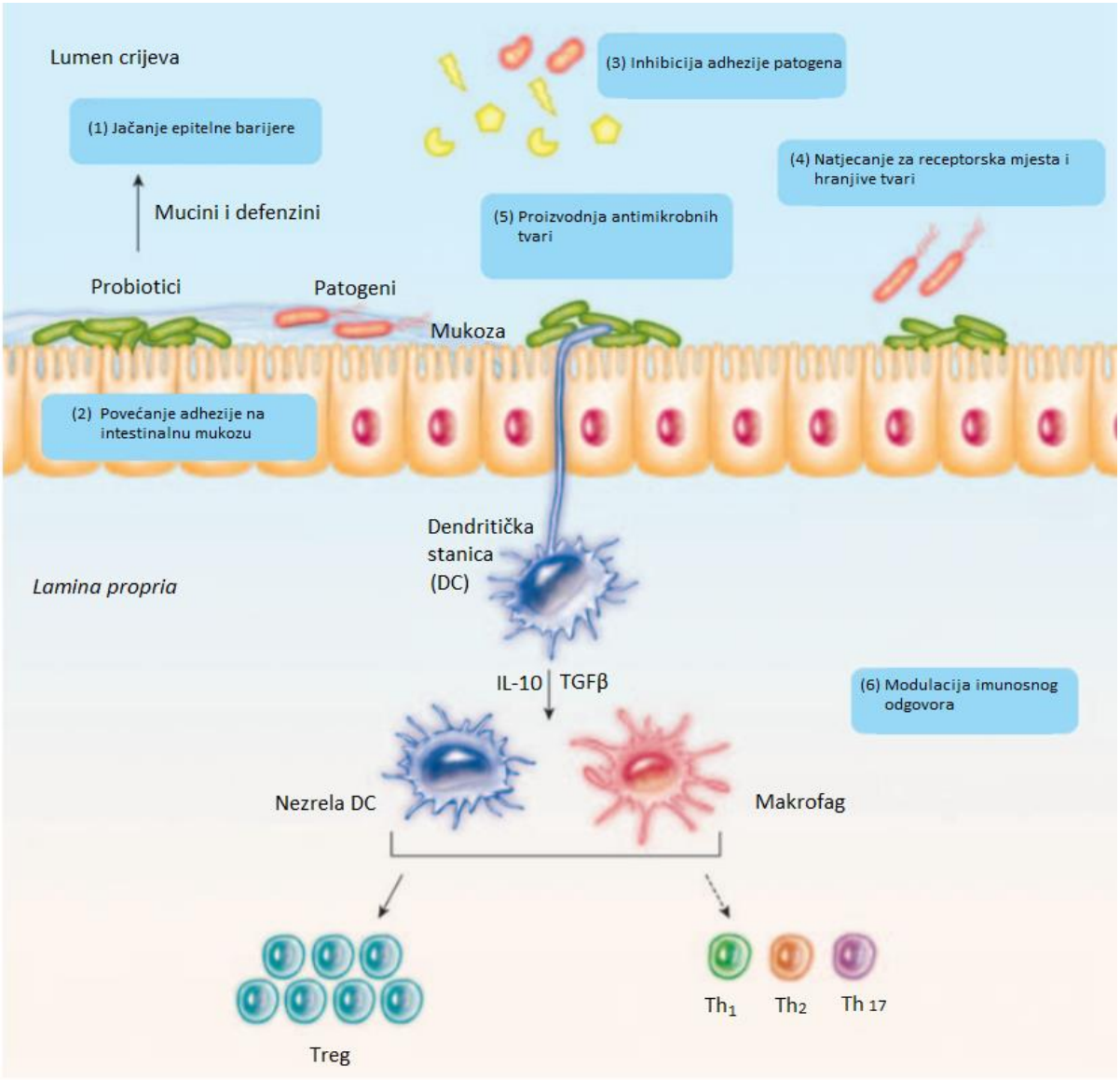
Proizvodnja antimikrobnih tvari. Probiotici potiču stanice domaćina na proizvodnju peptida interferiraju s patogenima i sprječavaju epitelnu invaziju. Defenzini i kathelicidini su antimikrobni peptidi koji se izlučuju iz epitelnih stanica crijeva i pokazuju antimikrobno djelovanje protiv velikog broja bakterija, gljivica i nekih virusa. Neki probiotički sojevi kao što je *E. coli* soj DSM 17252 G2 i nekoliko vrsta laktobacila pokazali su da određene defenzine (Möndel i sur., 2009). Probiotici onemogućavaju rast patogena kroz oslobađanje raznih antimikrobnih čimbenika poput defenzina, bakteriocina, vodikovog peroksida, dušikovog oksida i kratkolančanih masnih kiselina (SCFA), kao što su mliječna i octena kiselina koje smanjuju pH lumena. SCFA može poremetiti vanjske membrane Gram-negativnih patogena što uzrokuje inhibiciju rasta patogena. Bakteriocini povećavaju permeabilnost unutarnje membrane Gram-negativnih bakterija, što dovodi do poremećaja i stvaranja pora. S druge strane, mikrocini (proizvedeni gram negativnim bakterijama) mogu ciljati unutarnju membranu, enzime koji sudjeluju u sintezi DNA, RNA ili proteina (Duquesne i sur., 2007).

Natjecanje za receptorska mjesta i hranjive tvari. Probiotičke bakterije natječu se s invazivnim patogenima za vezna mjesta na epitelnim stanicama na način koji je specifičan za soj. Proteini površinskog sloja izolirani iz soja *L. helveticus* R0052 inhibirali su enterohemoragičnu adherenciju *E.coli* i naknadno povećanje permeabilnosti, ne mijenjajući rast patogena. *S. boulardii* izlučuje termoosjetljivi faktor koji se pokazao odgovornim za smanjenu adherenciju bakterija (Wu i sur., 2008).

Modulacija imunosnog sustava. Probiotici imunomodulacijom utječu na sistemsko zdravlje i zdravlje crijeva. Glavne imunomodulacijske funkcije probiotika odnose se na aktivaciju stanica prirodnih ubojica (NK) stanica, dendritičnih stanica (DC), intraepitelnih γδ T limfocita i makrofaga, koji su efektorske stanice urođene imunosti važne za obnavljanje barijere kože i probavnog sustava (Pagnini i sur., 2010). Međutim, imunomodulacijski učinci probiotika razlikuju se od vrste do vrste. Pokazalo se da *Lactobacillus sakei* i *Lactobacillus rhamnosus* stimulira makrofagnu aktivnost, dok *Lactobacillus plantarum* povećava fagocitnu aktivnost peritonejskih makrofaga *in vivo*. Takve su funkcije uglavnom povezane sa stimulacijom lučenja IL-22, TNFa, IL-6, IL-8 i IL-12. Sojevi *Lb. reuteri* i *Lb. johnsonii* također mogu inducirati izlučivanje citokina IL-22, koji se uglavnom proizvodi intraepitelnim T limfocitima. Metaboliti takvih probiotičkih sojeva imaju sposobnost vezanja i aktiviranja arilnog ugljikovodičnog receptora (AhR) izraženog na makrofagima i DC, što rezultira

naknadnom aktivacijom epitelnih stanica (Rutherford i sur., 2012). Drugi citokin za koji se zna da je induciran sustavnom primjenom probiotika je TNFα, najvažniji citokin u urođenom imunološkom odgovoru koji se proizvodi uglavnom od monocita i makrofaga, ali i od epitelnih stanica. Castillo i sur. pokazali su indukciju proizvodnje TNFα, zajedno s IFNγ i IL-10 u zdravih miševa hranjenih s *Lb. casei*. Liječenje fermentumom također je rezultiralo povećanom ekspresijom TNFα povezanom s povećanom infiltracijom neutrofila (Lukić i sur., 2013) koja može pridonijeti rješavanju infekcije. Izlučivanje IL-8, ključnog kemokina za regrutiranje neutrofila, također je povezano s primjenom laktobacila. Osim utjecaja na prirodne citokine imunih stanica, pokazalo se da laktobacili induciraju izlučivanje IL-10 i IL-12, koji su na raskrižju urođenih i adaptivnih imunoloških odgovora, što dovodi do ekspanzije T regulatornih limfocita (T_{reg}) ili Th_1 stanica u način specifičan za soj. U skladu s tim, IFNγ sekrecija aktiviranim Th_l stanicama je opažena nakon sistemskog liječenja miševa s laktobacilima. Iako su IL-12 i IFNγ citokini koji obilježavaju adaptivni Th_1 stanični odgovor, i IL-12 i IFNγ su važni za aktiviranje NK stanica, urođenih citotoksičnih limfocita. Aktivacija NK stanica promatrana je in vitro nakon primjene više probiotičkih sojeva i potvrđena *in vivo*. S obzirom na važnu ulogu NK stanica u borbi protiv patogena, uključujući i zajednički kožni patogen *S. aureus*, potrebna su daljnja istraživanja o zaštitnoj ulozi probiotika u liječenju i infekcija crijeva i kože (Ren i sur., 2013).

Ukratko, laktobacili stimuliraju aktivaciju intraepitelnih T limfocita, NK stanica i makrofaga, dok su njihovi učinci na indukciju T_{reg} i Th_1 stanica vrlo specifični za soj. Pri tome, neki izolati laktobacila pokazuju protuupalno i imunosupresivno djelovanje, dok drugi imaju proupalni učinak te potiču stimulaciju imunosnog odgovora koji pomaže pri uklanjanju patogena.



Slika 2. Mehanizam djelovanja probiotika (prilagođeno prema Bermudez-Brito i sur., 2012)

1.4. PRIMJENA PROBIOTIKA

Posljednjih godina identificirane su brojne medicinske i farmaceutske primjene probiotika koji su u početku bili deklarirani kao proizvodi s "blagotvornim zdravstvenim učinkom". Na temelju različitih mikrobnih svojstava razvijaju se razni oblici formulacija za različita klinička stanja. Različite vrste s varijabilnim svojstvima su naznačene u različitim kliničkim stanjima. Nažalost, znanstvenici koji su koristili probiotike kao intervenciju u liječenju bolesti često nisu koristili istu vrstu bakterija. Nadalje, koristili su različite kombinacije organizama, različite količine i različitu duljinu terapije. To je često rezultiralo sukobljenim rezultatima i poteškoćama u tumačenju stupnja koristi za zdravlje. Pri odabiru probiotika koji bi mogao biti prikladan za određeno stanje, važno je nekoliko kriterija:

1) Preživljavanje konzumiranih korisnih bakterija ovisi o stupnju tolerancije na želučane i žučne kiseline.

2) Preživljavanje štetnih bakterija ovisi o sposobnosti bakterije da probavlja nutrijente koje domaćin nije probavio i o boljoj sposobnosti vezanja za crijevni epitel.

3) Preživljavanje u okolišu u kojem vlada kompeticija ovisi o tome koji probiotici proizvode bakteriocine, proteinske antimikrobne spojeve koje štite od patogena i o tome koja bakterija je bolji čistač željeza i time može lišiti druge bakterije tog vitalnog minerala.

Sve je veći naglasak na pozitivnom djelovanju probiotika na kožu. Industrije koje se bave proizvodima za osobnu njegu procjenjuju probiotike kao "bioaktivne sastojke" koji pomažu u ljepoti i funkciji kože. Ti se proizvodi kreću od lokalnih primjena (losion za tijelo, serum protiv starenja, sapun, losioni poslije brijanja...) do prehrambenih proizvoda (probiotička pića). Zaključno, različiti probiotici su primjenjivani pod kontroliranim uvjetima velikom broju bolesnika, i odraslih i dojenčadi, koji pate od različitih bolesti i dokazano je da nema ikakvog povezanog rizika. U medicinskoj su literaturi objavljena mnoga istraživanja o potencijalnom terapijskom učinku probiotika i općenito obećavaju. Međutim, svi istraživači slažu se da nema dovoljno dokaza za pouzdano procjenjivanje moguće uloge probiotika u liječenju svih zdravstvenih poremećaja i daljnje studije trebaju biti provedene s većim brojem bolesnika kako bi dobili dobre i pouzdanije rezultate.

1.5. SIGURNOST PRIMJENE PROBIOTIKA

Probiotici, kao dodaci prehrani, koriste se više od stotinu godina te se njihova primjena, u načelu, smatra sigurnom. Teoretski, probiotici bi mogli uzrokovati četiri tipa štetnih učinaka kao što su sistemske infekcije, štetna metabolička aktivnost, pretjerana imunosna stimulacija i prijenos gena (plazmida) (Marteau, 2001). Međutim, primjena probiotika se ne preporučuje kod visokorizičnih pacijenata koji uključuju imunokompromitiranu novorođenčad, dojenčad i djecu te djecu s centralnim venskim kateterom ili bilo kojim drugim stranim tijelom jer kod takvih pacijenata može doći do pojave inducirane sepse, bakterijemije, endokarditisa, te prijenosa gena za rezistenciju na antibiotike s probiotika na bakterije crijevne mikroflore (Castelazzi i sur., 2013). Jedine zabilježene nuspojave kod zdravih pacijenata su prolazne probavne smetnje, najčešće nadutost. Ipak, svojstvo probiotika da skreću Th1/Th2 ravnotežu prema Th1 odgovoru nije uvijek poželjno. Tako se u trudnica dominacija Th2 odgovora smatra bitnom za majčino-fetalnu imunosnu toleranciju. Stimulacija Th1 odgovora također nije poželjna u osoba koje boluju od autoimunih bolesti, budući da su one posredovane upravo Th1 citokinima (Fiocchi i sur., 2015). S obzirom na široku primjenu probiotika u prevenciji,

liječenju ili poboljšanju određenih bolesti, od ključne je važnosti poznavati stanja u kojima primjena probiotika nije preporučljiva te uzeti u obzir sigurnost njihove primjene.

2. OBRAZLOŽENJE TEME

Primjena probiotika se povećava sukladno povećanju broja antibiotičkih rezistencija. Zbog toga mehanizam i koncept korištenja probiotika kao prirodan put do zdravstvene dobrobiti organizma izaziva sve veći interes. Eksponencijalni rast zanimanja za mikroorganizme s povoljnim učincima na zdravlje rezultirao je povećanom potražnjom probiotika na tržištu farmaceutskih i prehrambenih proizvoda.

Koža je najveći ljudski organ i u izravnom je kontaktu s okolinom te je samim time kontinuirano izložena izravnom kontaktu s mikroorganizmima iz okoliša. Rezidentna mikrobiota kože djeluje u interakciji s drugim mikroorganizmima, ljudskim stanicama i ljudskim imunosnim sustavom na više načina koji posreduju u riziku od bolesti. Pokazalo se da se promjene kod rezidentnih mikrobnih zajednica povezuju s kožnim stanjima kao što su akne, atopijski dermatitis i psorijaza. Stres, zagađenost okoliša i nepravilna njega mogu rezultirati oštećenjem primarne zaštitne funkcije kože. Inovativne terapije su obećavajuće jer dokazano obnavljaju nedostatke kožne barijere, štite od mikrobiološke kolonizacije i vraćaju imunosnu ravnotežu.

Dermatofarmacija se tijekom proteklih godina znatno razvila, posebice zahvaljujući brzom tehnološkom razvoju analitičkih i dijagnostičkih postupaka. Osim toga, genske i molekularno-biološke metode donijele su inovacije u sustavnoj i u lokalnoj primjeni biološki aktivnih tvari. S detaljnim poznavanjem strukture i funkcije kože, kao i regulacije metaboličkih procesa, povećava se spajanje bioloških procesa s farmakološko-terapijskim djelovanjima.

Probiotička uporaba kao dodatna terapija u praksi dermatofarmacije je u usponu što znači da postoji veliki prostor za napredak u daljnjim istraživanjima. Cilj ovog diplomskog rada je razjasniti ulogu probiotika u području dermatofarmacije koji preko različitih mehanizama utječu na prevenciju i terapiju različitih kožnih obolijenja. To uključuje utjecaj probiotika na kožne bolesti povezane sa suhom kožom kao što su atopijski dermatitis i psorijaza te utjecaj probiotika na akne i rosaceu kao i ulogu probiotika na fotostarenje i zaštitu od ultraljubičastog zračenja. Također, intenzivno se proučava topikalna primjena probiotika u obliku krema ili drugih tehnoloških oblika kozmetičkih proizvoda.

3. MATERIJALI I METODE

Kao materijal za izradu ovog teorijskog diplomskog rada pregledani su i obrađeni relevantni znanstveni članci i ostala literatura koja je izabrana prema temi, predmetu istraživanja, autorima i časopisu. U pretrazi navedene literature najprije su obrađeni opći, a zatim i specijalizirani članci koji su relevantni za područje istraživanja ovog diplomskog rada. Članci su proučeni na analitički i kritički način te su izdvojeni najvažniji rezultati, rasprave i zaključci. Na temelju proučavanih članaka izvedena su vlastita razmatranja proučavanog područja koji su sastavni dio rasprave rada.

Ciljana pretraga provedena je na bazama MEDLINE/PubMed, Science Direct, Google pretraživaču putem znanstvenih članaka. Literaturni pregled obuhvaća razdoblje do veljače 2019. te se oslanja na javnodostupne baze podataka.

4. REZULTATI I RASPRAVA

4.1. UČINAK PROBIOTIKA NA ZDRAVLJE I IZGLED KOŽE

Laktobacili i bifidobakterije kao najviše proučavani probiotici, ali i ostali nekonvencionalni mikroorganizmi koji su povezani s mikrobiomom zdrave kože, pokazali su blagotvorne učinke na zdravlje i izgled kože. Dokazano je da povećavaju količinu ceramida i fosforilkolina u keratinocitima na način ovisan o vremenu, kroz proizvodnju sfingomijelinaze (Di Marzio i sur., 1999). Ceramidi igraju ključnu ulogu u stvaranju i organizaciji izvanstaničnog lipidnog matriksa i time poboljšavaju lipidnu barijeru kože, a njihova topikalna primjena rezultirala je povišenim razinama ceramida u rožnatom sloju zdrave kože. Smanjene razine ceramida povezano je s barijernom disfunkcijom epidermisa, uključujući nedostatak zaštite protiv antigena i bakterija (Mizutani i sur., 2009). Stoga, primjena probiotika koji ciljaju na ceramid ima potencijal poboljšati funkciju barijere kože tijekom procesa zacjeljivanja rana. Još jedan dobro proučen kožni probiotik je *S. epidermis*. Komensal kože, *S. epidermis* izlučuje izvanstaničnu serinsku proteazu koja može inhibirati kolonizaciju *S. aureus* kroz više mehanizama. Također može spriječiti stvaranje biofilma razgradnjom njegovog matriksa, ali i cijepanjem proteina receptora domaćina koji su važni za vezanje i infekciju *S. aureus*, uključujući protein A, fibronektin, fibrinogen i vitronektin. *S. epidermis* je također pokazao ulogu u reguliranju homeostaze kože i potiskivanje upale izazvane *Propionibacterium acnes*, anaerobnim gram-pozitivnim patogenom povezanim s patogenezom akni putem različitih mehanizama. Iako je *S. epidermidis* uključen kao koristan mikroorganizam za liječenje atopijskog dermatitisa i upale povezane s aknama, njezina se primjena u kontekstu cijeljenja rana tek treba istražiti. Pored komensalnog stafilokoka, druge nepatogene bakterije kao što je *Vitreoscilla filiformis* pokazale su sposobnost smanjenja upale kože stimulacijom regulacijskih T stanica i dendritičnih stanica kože.

Važnost kožnih komensala otvara pitanje rasprostranjenog korištenja antimikrobnih sapuna i proizvoda te njihovih potencijalno štetnih učinaka na uklanjanje korisnog kožnog mikrobioma. Dok se koriste za uklanjanje patogenih bakterija, često korištena sredstva za čišćenje kože i rana pokazala su toksični učinak na keratinocite i fibroblaste (Wilson i sur., 2005) te mogu doprinijeti smanjenoj raznolikosti kožnog mikrobioma koji potiče zdravlje kože.

4.1.1. Akne

Acne vulgaris jest kronična bolest kože koja zahvaća seborejičke predjele (lice i gornji dio trupa), a očituje se pojavom komedona, upalnih lezija (papula, pustula, nodusa) i ožiljaka.

Oblik akni ovisi o nekoliko procesa koji uključuju folikularnu hiperkeratinizaciju, povećanu količinu sebuma, kolonizaciju *Propiobacterium acnes* što dovodi do upalnih promjena (Baquerizo Nole i sur., 2014). Uobičajeni proizvodi za liječenje akni uzrokuju poremećaj barijere kože što dovodi do iritacije i suhoće kože. Prema tome, smirivanje upale, obnavljanje i održavanje kože vlažnom od primarne su važnosti u terapiji akni.

Probiotici mijenjaju nekoliko čimbenika u patofiziologiji razvoja akni, a jedan od načina je da izravno inhibiraju *P. acnes* proizvodnjom antibakterijskih proteina. *In vitro* je utvrđeno da *Streptococcus salivarius* kao istaknuta komponenta orofarinksa, inhibira rast *P. acnes* proizvodeći bakteriocinu slične inhibitorne tvari (eng. BLIS-like supstance). Slično tome, neke vrste *Lactococcus* pokazuju antimikrobno djelovanje inhibirajući rast *Staphylococcus epidermidis, Staphylococcus aureus, Streptococcus pyogenes* i *P. acnes* lučenjem bakteriocina.

Klinički je također prikazana lokalna primjena probiotika kako bi se poboljšala funkcija barijere kože sekundarnim povećanjem antimikrobnih svojstava kože. Konkretno, *Streptococcus thermophiles,* koji se primjenjivao u obliku kreme kroz 7 dana, pokazalo se da povećava proizvodnju ceramida, kako *in vitro* tako i *in vivo* (Di Marzio i sur., 1999). Ceramidi, ne samo da sprječavaju isušivanje kože, već određeni ceramidski sfingolipidi poput fitosfingozina (PS), pokazuju izravnu antimikrobnu aktivnost protiv *P. acnes*. Klinička primjena PS dodatno je potkrijepljena dvomjesečnom pilot studijom koja je pokazala da nakon primjene 0,2% PS, akneformne papule i pustule smanjuju se za 89% (Pavičić i sur., 2007). Smanjenjem broja *P.acnes* na površini kože, probiotici su usmjereni na jedan faktor koji pridonosi formiranju akni. Potičući proizvodnju zdravih ceramida, pomaže u obnavljanju zdravih masnoća, što može izravno spriječiti nuspojave koje nastaju primjenom uobičajenih proizvoda za terapiju akni.

Imunomodulacijski učinci probiotika na keratinocite i stanice epitela ukazuju na fiziološki mehanizam koji podupire uporabu probiotika kao adjuvantnog liječenja akni. Soj K12 iz *S. salivarius* inhibirao je proizvodnju protuupalnog citokina IL-8 u epitelnim stanicama i keratinocitima, vjerojatno inhibicijom NK-κB puta (Cosseau i sur., 2008).

Inhibicija brojnih upalnih puteva sugerira da *S. salivarius* djeluje kao imunomodulator kada se primjenjuje izravno na epitel. Kulture ljudske kože tretirane s *L. paracasei* pokazale su smanjenje upale kože uzrokovane supstancom P, mjereno smanjenjem vazodilatacije, edema, degranulacijom mastocita i faktorom nekroze tumora alfa (TNF-alfa). Budući da supstanca-P može pojačati upalu i proizvodnju sebuma, njena inhibicija također ima ulogu terapiji akni (Cosseau i sur., 2008).

Pokazalo se da inzulinu sličan faktor rasta 1 (IGF-1) ima ulogu u patogenezi akni. To sugerira da određena hrana ili probiotički sojevi igraju ulogu u aknama kroz njihovu modulaciju IGF-1. Prehrana s niskim udjelom vlakana pogoduje razvoju akni, vjerojatno zahvaljujući porastu (IGF-1). Dodatak probiotičke bakterije *Lactobacillus* u proces fermentacije mlijeka pokazao je četverostruko nižu razinu IGF-1 u usporedbi s nefermentiranim obranim mlijekom. Dakle, smanjujući sistemsku razinu IGF-1, probiotici pokazuju korisna svojstva u liječenju akni na sustavnoj i mehaničkoj razini (Adebamowo i sur., 2006).

Liječnik Robert H. Siver proveo je prvo kliničko ispitivanje koje je procjenjivalo učinke probiotika na akne 1960-ih. Proučavao je učinke oralnog, komercijalno dostupnog probiotika (Lactinex uklopljen s *L. acidophilus* i *L. bulgaricus*) u 300 bolesnika. Iako je režim koji je propisao nekonvencionalan, a sastoji se od oralnog probiotika tijekom 8 dana, nakon čega slijedi dvotjedna pauza, a zatim se ponavlja, primijetio je da je 80% pacijenata imalo poboljšanje, prvenstveno u upalnim lezijama. Međutim, glavno ograničenje njegove studije je nedostatak placebo kontrolne skupine. Unatoč tom velikom ograničenju, zaključio je da može postojati interakcija između metaboličkih procesa crijeva i manifestacija na koži (Pavičić i sur., 2007).

Dakle, oralni i toplikalni probiotici pokazuju povoljne učinke na liječenje akni. Iako je potrebno provesti dodatna istraživanja, klinička ispitivanja provedena do sada potvrdila su da probiotici povoljno utječu na akne i ostale upalne poremećaja, s minimalnim štetnim učincima. Daljnja istraživanja će pokazati imaju li probiotičke formulacije potencijal postati temeljna komponenta liječenja akni te mogu li povećati učinkovitost današnjih terapijskih protokola.

4.1.2. Rosacea

Rosacea je kronična upala kože koja prvenstveno zahvaća lice, u nekim slučajevima zahvaća i područje oko očiju, ali i druge dijelove tijela. Pravi uzrok bolesti nije još pronađen, ali s obzirom na sve veću učestalost pojave bolesti kod ljudi, smatra se da su geni odgovorni za nastanak bolesti, iako specifični gen još nije otkriven. Poznato je da rozacea nastaje zbog nereguliranog imunsonog sustava, prekomjernog neurološkog i vaskularnog signaliziranja, disbioze mikrobioma što u konačnici dovodi do osjetljivosti kože i nastanka upale.

Poremećaj urođenog imunosnog sustava kod bolesnika s rosaceom dovodi do prekomjernog oslobađanja upalnih citokina te potiče stvaranje antimikrobnih peptida (AMP). U usporedbi s normalnom kožom, koža koja je zahvaćena rosaceom ima znatno više katelicidina, AMP proteina koji je eksprimiran pomoću leukocita i epitelnih stanica, te je

važna obrambena molekula. Katelicidin se cijepa u svoj aktivni oblik, LL-37, serin proteazom kalikrein 5 (KLK5) (Yamaski i sur., 2007). U bolesnika s rosaceom, molekule LL-37 i KLK5 su različite od onih u normalnoj koži. Te razlike uzrokuju leukocitnu kemotaksiju, vazodilataciju, angiogenezu i taloženje izvanstaničnog matriksa.

Abnormalno neurološko signaliziranje također igra ulogu u patogenezi rosacee. Toplina i drugi čimbenici, uključujući prehrambene čimbenike, stimuliraju prijelazne receptorske potencijalne kationske kanale (Two i sur., 2015). Poticanje tih kanala djeluje na iniciranje proupalnih kaskada. TRP receptori eksprimiraju osjetilni živci kao i keratinociti. Oni igraju ulogu u vazoregulaciji, percepciji boli i upali, te su regulirani u bolesnika s rosaceom.

Osim toga, smatra se da mikroorganizmi imaju važnu ulogu u etiopatogenezi rosacee, iako njihova uloga još nije jasno definirana. Nekoliko studija je dokumentiralo razlike u mikrobiološkom sastavu kože rosacea pacijenata u usporedbi s onima bez. Konkretno, pacijenti s rosaceom imaju veće koncentracije Demodex folliculorum, saprofita koji se normalno nalazi u žlijezdama lojnica. Pretpostavlja se da membranske komponente Demodex grinja aktiviraju Toll-like receptora 2 (TLR2), što povećava ekspresiju i aktivnost KLK5 (Ferrer i sur., 2015).

Budući da se antibiotici koriste u liječenju rosacee, smatra se da bakterije mogu biti uzročnik. Prikazan je *Bacillus oleronius,* gram-negativna bakterija izolirana iz Demodex grinja. Pokazalo se je da inducira antigene proteine kod bolesnika s specifičnim podtipovima rosacea. Kada su izloženi *B. oleroniusu*, neutrofili su povećali proizvodnju matriks metaloproteinaze (MMP) -9, faktora nekroze tumora i IL-8, potičući upalni odgovor čak i kod osoba koje nisu pod utjecajem rosacea. Druge su studije istraživale ulogu *Staphylococcus epidermidis*, komensalne bakterije. U normalnoj koži, *S. epidermidis* proizvodi AMP koji pomažu u sprečavanju bolesti uzrokovanih patogenim bakterijama. Međutim, kada se stavljaju na kožu s rosaceama, studije su pokazale da *S. epidermidis* proizvodi specifične čimbenike virulencije koji rezultiraju aktivacijom TLR2 i katekilidin-KLK5 upalnom kaskadom (Yamasaki i sur., 2009).

Pretpostavlja se da i sastav crijevne mikrobiote igra ulogu u patogenezi rosacee. Teoretski, disbioza crijevnih bakterija rezultira aktivacijom puteva kalikrein-kinin u plazmi, što dovodi do brojnih upala. Dok mikrobiom predstavlja važan terapeutski cilj, važno je prepoznati značajnu varijaciju ljudskog crijevnog mikrobioma među pojedincima. Čimbenici koji mogu uzeti u obzir ove razlike uključuju genetiku, prehranu, izloženosti na okoliš, higijenu i druge varijable. Značajne zemljopisne varijacije vidljive su u sastavu

mikroorganizama u želucu, što potvrđuje daljnje istraživanje sastava crijeva u globalnim zajednicama.

Zbog nedostatka kliničkih studija nije moguće utvrditi mogu li se probiotici koristiti u terapijske svrhe te su potrebna daljnja istraživanja kako bi se odredile optimalne doze i sojevi mikroba koji bi se koristili u terapiji rosacee. Istraženo je nekoliko potencijalnih mehanizama probiotika koji uključuju mijenjanje crijevne mikrobiote, smanjenje upale kože posredovane T-stanicama, sprječavanje nastajanja reaktivnih kisikovih spojeva (ROS) induciranih stresom te u konačnici poboljšavanje barijerne funkcije kože što dovodi do smanjenja osjetljivosti kože kod ljudi.

4.1.3. Atopijski dermatitis

Atopijski dermatitis je kronična upalna kožna bolest obilježena svrbežom i suhoćom kože. Prve kliničke manifestacije mogu nastati prije navršene prve godine života, a sami simptomi bolesti imaju tendenciju spontanog poboljšanja tijekom djetinjstva, dok u razdoblju adolescencije često dolazi do blažeg relapsa. Takva djeca izložena su povećanom riziku kasnijeg oboljevanja od alergijskog rinitisa i astme. Iako genetski čimbenici imaju značajnu ulogu u nastanku ove bolesti, neke studije pokazuju da su promjene u okolišnim čimbenicima bitan faktor u etiopatogenezi. Mehanizam nastanka ove bolesti temelji se na neravnoteži Th1/Th2, međutim ostaje nedovoljno razjašnjeno što dovodi do predominacije Th2 limfocita. Budući da crijevne bakterije imaju veliku ulogu u sazrijevanju imunosnog sustava jer predstavljaju prvi i najveći izvor mikrobnog opterećenja i time inicijalni poticaj za uspostavu Th1/Th2 ravnoteže, probiotici se smatraju obećavajućom mjerom prevencije, ali i terapije atopijskog dermatitisa.

Smatra se da raznolikost i sastav crijevne mikrobiote uvelike utječu na patogenezu atopijskog dermatitisa te je u skladu s tim provedeno istraživanja u kojemu su uspoređivane mikrobiote crijeva dojenčadi s AD ili alergijom na hranu sa zdravim novorođenčadima pa je uočeno da kod dojenčadi s AD smanjen broj laktobacila i bifidobakterija u crijevima, ali je uočena i smanjena ukupna raznolikost crijevne mikrobiote. Prije nešto više od desetljeća objavljena su prva istraživanja koja testiraju hipotezu da bi probiotička intervencija ili u pred- ili postnatalnom razdoblju (trudnice, potomci ili oboje) mogla utjecati na učestalost AD u ranim godinama života te je dokazano da suplementacija s *L. rhamnosus* GG kod žena u posljednja 2-4 tjedna trudnoće, a potom dojenčadi od rođenja do 6 mjeseci života, značajno su smanjili učestalost AD (Kalliomaki i sur., 2001). Isti autori proveli su praćenje ispitanika do 4 i 7 godina i pojavu drugih alergijskih poremećaja (alergijski rinitis, astma) uz dugoročnu

primjenu probiotika na incidenciju AD te su došli do zaključka da je, kod osoba koje su primale probiotike, pojavnost atopijskog dermatitisa manja. Za razliku od prethodne, naknadna studija koja je procjenjivala soj *L. rhamnosus* GG u sličnim kliničkim ispitivanjima nije pokazala preventivni učinak na razvoj AD u dobi od 2 godine. te su potrebna daljnja istraživanja kako bi se otkrila povezanost primjene probiotika i incidencija atopijskih bolesti (Kopp i sur., 2008).

Učinak probiotika ovisi i o odabranom soju probiotskih bakterija. Wickens i suradnici usporedili su učinkovitost *L. rhamnosus,* i *B. lactis* s placebom, a rezultat takvog istraživanja pokazuje da je incidencija AD uz primjenu L. rhamnosus značajno manja za razliku od *B. lactis* kod kojeg je takav učinak izostao. Uz pretpostavku da se, višestrukim kombiniranjem probiotskih bakterija, može multiplicirati njihovo djelovanje u prevenciji atopijskih bolesti, uočeno da povećanje doze ili kombinacija sojeva ne mora nužno imati blagotvorni učinak.

Većina provedenih studija u liječenju atopijskog dermatititsa nije uspjela dokazati potencijalni učinak probiotika. Nisu pokazali učinkovistost u smanjenju simptoma kao što su svrbež i suhoća kože, dok su na SCORAD skali (eng. Severity Scoring of Atopic Dermatitis Index) pokazali tek neznatno smanjenje. Postoji mogućnost da odabrani soj, ali i kombinacija sojeva igraju ključnu ulogu u liječenju atopijskih bolesti te je potrebno provesti studije koje bi dale odgovor na brojne nepoznanice kao što je odabir optimalnog soja u odgovarajućoj dnevnoj dozi primjenjene u vremenskom periodu tijekom kojeg bi probiotici bili najučinkovitiji te u konačnici pozitivno djelovali na ishod takvih bolesti.

4.1.4. Psorijaza

Psorijaza je učestala, kronična upala kože uzrokovana mnoštvom okolišnih i genetskih čimbenika. Histološke karakteristike uključuju hiperproliferaciju keratinocita kao i povećanje vaskularnosti što omogućuje nakupljanje upalnih neutrofila, dendritičnih stanica i T limfocita. Klinički, psorijaza se obično pojavljuje kao povratne epizode dobro razgraničenih ljuskavih eritematoznih plakova, ali se rijetko može manifestirati i kao generalizirana eritroderma opasna po život (Mari i sur., 2017).

Komenzalna kožna mikrobiota igra ključnu ulogu u održavanju integriteta kože i funkcionira kao kritično izložena barijera. Istraživanja su pokazala da je sastav mikrobiote kože povezan s mnogim dermatološkim bolestima uključujući psorijazu, atopijski dermatitis i akne vulgaris. Klinički značaj interakcije između mikrobiote i imunološkog sustava je od velikog utjecaja i može pružiti nove uvide u patogenezu kroničnih upalnih bolesti kože i omogućiti razvoj terapijskih opcija koje su usmjerene na mikrobiotu.

Podaci o suplementaciji probiotikom u liječenju psorijaze su ograničeni, ali su dokumentirani obećavajući ishodi. Jedna studija koja je procijenila učinak *Lactobacillus pentosus* GMNL-77 na model miša induciranog imikvimodom pokazala je da su miševi tretirani s probiotikom imali značajno manje eritema, skaliranja i epidermalnog zadebljanja u usporedbi s netretiranim kontrolnim miševima. Oralna primjena L. pentosus GMNL-77 pokazala se da suzbija ekspresiju TNF-a, IL-6 i proupalnih citokina u IL-23 / IL-17 citokinskoj osi. Iako je mehanizam smanjene aktivnosti T stanica bio nejasan, autori studije su predložili da je ovaj efekt posredovan supresijom CD103 + dendritičnih stanica, stanica koje prezentiraju intestinalni antigen, za koje je pokazano da moduliraju regulatorne T stanice u probavnom sustavu. U zasebnom placebokontroliranom ispitivanju bolesnika s psorijazom, suplementacija *Bifidobacterium infantis* dovela je do značajno smanjene razine TNF-a u plazmi u skupini koja je liječena probiotikom. U jednom dokumentiranom slučaju teške pustularne psorijaze koja ne reagira na steroide, dapson i metotreksat, kliničko poboljšanje zabilježeno je unutar 2 tjedna od početka primjene soja *Lactobacillus* tri puta na dan, s gotovo potpunom razlučivošću postignutom nakon 4 tjedna (Vijayashankar i Raghunath, 2012).

4.2. POTENCIJALNA ULOGA PROBIOTIKA U DERMATOLOGIJI

Najčešća meta za oralne probiotike mogla bi biti reguliranje abnormalnih imunoloških odgovora u koži. Kao što je gore opisano, probiotici su već pokazali blagotvorne učinke na akne, rosaceu, ekceme i psorijazu. Daljnja istraživanja nastoje prikazati potencijalnu ulogu probiotika u zaštiti kože od fotostarenja modulirajući imunosni odgovor, ali da mogu utjecati na dermalne fibroblaste putem cirkulacije koji su odgovorni za sintezu kolagena i imaju važnu ulogu u zacjeljivanju rana.

4.2.1. Starenje kože i zaštita od ultraljubičastog zračenja

Starenje kože uključuje složenu interakciju između intrinzičnog starenja na koje utječu genetske i hormonalne promjene te ekstrinzičko starenje, koje je podložno ekološkim čimbenicima kao što su ultraljubičasto (UV) svjetlo, trauma, onečišćenje, infekcije i duhanski dim. Na molekularnoj razini, promjene u starenju kože uključuju povećanje pH kože, smanjenu sposobnost zaustavljanja reaktivnih kisikovih vrsta i povećanu aktivnost matrične metaloproteinaze (Cinque i sur., 2010). UV zračenje se smatra najjačim precipitatorom ekstrinzičnog starenja. Rane studije upućivale su na to da probiotici i njihovi metaboliti mogu mijenjati nekoliko aspekata starenja kože.

Zdrava, normalna koža pokazuje blago kiseli pH u rasponu od 4,2 do 5,6, što pomaže pri prevenciji kolonizacije patogenih bakterijskih, regulaciji enzimske aktivnosti i održavanju vlažnog okruženja. Međutim, nakon dobi od 70 godina, pH kože značajno raste, stimulirajući aktivnost proteaze. Probiotički metabolizam često proizvodi kisele molekule, snižavajući pH okoline, kao što se vidi kod vrste *Lactobacillus* koja proizvode slobodne masne kiseline (FFA) i konjugirane linoleinske kiseline (CLA) tijekom fermentacijskog procesa. Teoretski, dakle, upotrebom probiotika uspostavlja se normalni pH kože te se aktivnost proteaze smanjuje na onu razinu koja se prisutna u zdravoj, mladoj koži (Cinque i sur., 2010).

Slobodni radikali nastaju kao rezultat normalnih metaboličkih procesa, ali njihova se proizvodnja povećava kada je koža izložena UV svjetlu, zagađenju okoliša i dimu cigarete.U takvim uvjetima naš vlastiti antioksidacijski obrambeni sustav može postati preopterećen, dopuštajući tako slobodnim radikalima i ROS-u da oštećuju stanične strukture, uključujući DNA, lipide i proteine kao što je kolagen (Cinque i sur., 2010). In vitro *B. coagulans* RK-02 proizvodi ekstracelularne polisaharide, polimere visoke molekulske mase sastavljene od četiri monosaharida. Ti ekstracelularni polisaharidi pokazali su značajna antioksidativna svojstva jer imaju sposobnost uklanjanja slobodnih radikala. Također, znanstveno je dokazano da bakterije roda *Lactobacillus* mogu proizvesti superoksid dismutazu i pružiti zaštitu od slobodnih radikala peroksida (Bruno-Barcena i sur., 2004). Takve studije su dokaz da probiotici u njihovom prirodnom stanju ili nakon genetske modifikacije mogu usporiti starenje kože uspostavljajući ravnotežu između uklanjanja i stvaranja slobodnih radikala.

Pokazalo se da probiotici utječu i mijenjaju imunosni sustav. Postavlja se pitanje mogu li probiotici utjecati na kožnu homeostazu i regulaciju imunološkog sustava u uvjetima izloženosti UV svjetlu. Ultraljubičasto zračenje (UV) kao glavni čimbenik starenja kože pa se takvo starenje naziva i fotostarenje koje se manifestira pojavom bora, smanjenjem elastičnosti kože te pojavom staračkih pjega. Akutni učinci UV-a rezultat su izravnog djelovanja UV-a na DNA i modulacije imunosnog sustava putem oslobađanja upalnih citokina i, na kraju, imunosupresije (Schwarz i Schwarz, 2002).

Probiotici se pojavljuju kao terapija za ublažavanje ili sprječavanje učinaka oštećenja kože uzrokovanog UV zračenjem. U miševa bez dlake, oralna primjena *Bifidobacterium breve* spriječila je UV-inducirani transepidermalni gubitak vode u usporedbi s miševima koji su primali placebo. Dodatno, primjena *B. breve* potisnula je UV-inducirano povećanje razine vodikovog peroksida, oksidaciju proteina i aktivnost ksantin oksidaze u koži (Ishii i sur., 2014). Takvi nalazi upućuju na to da oralna primjena probiotika može barem djelomično ublažiti promjene UV zračenja i oksidacijski stres u koži.

Daljnja istraživanja potvrdila su ulogu oralnih probiotika u ublažavanju UV-induciranog starenja. Probiotički *Lactobacillus johnsonii* i 7,2 mg karotenoida davani su zdravim ženama tijekom 10 tjedana, koji su zatim bili izloženi ili simuliranoj ili prirodnoj sunčevoj svjetlosti. U usporedbi s placebom, prehrambena nadopuna spriječila je UV-inducirano smanjenje gustoće Langerhansovih stanica i ubrzala oporavak homeostaze imunog sustava nakon izlaganja UV-u (Bouilly-Gauthier i sur., 2010). Ovi rezultati upućuju da oralna probiotička suplementacija može igrati ulogu u ublažavanju štetnih učinaka UV zračenja. Međutim, bez kontrolnih skupina koje bi samostalno odredile učinke probiotika u odnosu na karotenoide, teško je pripisati rezultate istraživanja jednom spoju u dodatku prehrani. To predstavlja značajno ograničenje studije.

4.2.2. Opekline i zacjeljivanje rana

Predložena je primjena probiotika u liječenju rana i opeklina jer upala i ozljede aktiviraju keratinocite kako bi proizveli faktore rasta koji su važni za zacjeljivanje rana, ali i kod bolesti kao što su rak kože i psorijaza. U kultiviranim keratinocitima probiotici su pokazali da povećavaju proizvodnju filagrina što može potaknuti njihovu diferencijaciju. Potrebno je temeljitije razumijevanje uloge koju probiotici mogu imati u regulaciji obnove stanica i popravku barijere kože kako bi se procijenio njihov potencijal za zacjeljivanje kože. Dokazana je djelotvornost *Lactobacillus plantarum* i njegovih metabolita protiv *Pseudomonas aeruginosa*, čestog patogena opeklina i rana, što sugerira da probiotički metaboliti mogu biti korisni u lokalnom liječenju opeklina i rana. Nadalje, pokazalo se da topikalna primjena kefira (fermentiranog mliječnog proizvoda) poboljšava zacjeljivanje rana i smanjuje ožiljke u životinjskom modelu. Učinkovitost probiotika u zbrinjavanju dubokih i teških rana procijenjena je na životinjskom modelu oralnom i topikalnom primjenom probiotika. Oralna primjena temelji se na hipotezi da je u slučaju ozbiljne traume funkcija crijevne barijere disfunkcionalna i dolazi do značajne translokacije crijevnih bakterija u organizam, a ta se translokacija koristi kao put za probiotike da uđu u duboke rane, gdje inhibiraju proliferaciju patogenih organizama koji uzrokuju infekciju rana. Valja napomenuti da primjena živih bakterija na rane uključuje rizik od ulaska bakterija u krvotok i gdje može uzrokovati bakterijemiju i povećava rizik od infekcija. Inaktivirane mikrobne stanice, izolirane komponente stanica ili mikrobni metaboliti mogu ponuditi sigurniju alternativu, bez rizika od bakterijemije. Ipak, potrebno je opsežno testiranje sigurnosti probiotika i srodnih spojeva usmjerenih na njegu rana (Canesso i sur., 2014).

5. ZAKLJUČAK

Probiotici imaju značajan potencijal za preventivnu ili terapijsku primjenu u dermatofarmaciji. Otkako je otkrivena poveznica između mikrobiote crijeva i zdravlja kože te da se promjene na koži javljaju kao posljedica disbioze crijevne mikrobiote, probioticima se pridodaje važna uloga u prevenciji i liječenju takvih obolijenja. Promjenom sastava mikrobiote, ali i modulacijom imunosnog sustava probiotici ponovno uspostavljaju narušenu ravnotežu te se na temelju tih nekoliko mehanizama, kojima antagoniziraju patogene, može pretpostaviti njihov blagotvorni utjecaj na razne kožne bolesti kao što su atopijski dermatitis, psorijaza, akne i rosacea, ali i na ostala kožna stanja kao što su starenje kože, zacjeljivanje rana i opekline. Međutim, važno je napomenuti da mnoge tvrdnje o zdravstvenim prednostima probiotika na zdravlje kože još nisu potkrijepljene kliničkim dokazima. Osim toga, dokazana učinkovitost za jedan bakterijski soj ne mora nužno biti prenesena na druge probiotičke sojeve te je potrebno provesti daljnja istraživanja u smislu terapijskih mogućnosti probiotika u liječenju kožnih oboljenja.

6. LITERATURA

Adebamowo CA, Spiegelman D, Berkey CS, Bandy FW, Rockett HH, Colditz GA, et al. Milk consumption and acne in adolescent girls. *Dermatol Online*, 2006, 12, 1.

Baquerizo Nole KL, Yim E, Keri J. Probiotics and prebiotics in dermatology. *J Am Acad Dermatol*, 2014, 71, 814-821.

Bermudez-Brito M, Plaza-Díaz J, Muńoz-Quezada S, Gómez-Llorente C, Gil A. Probiotic Mechanisms of Action. *Ann Nutr Metab*, 2012, 61, 160-174.

Bouilly-Gauthier C, Maubert JY, Duteil L, Queille-Roussel C, Piccardi N, Montastier C. Clinical evidence of benefits of a dietary supplement containing probiotic and carotenoids on ultraviolet-induced skin damage. *Brit J Dermatol*, 2010, 163, 536-543.

Bruno-Barcena JM, Andrus JM, Libby SL, Klaenhammer TR, Hassan HM. Expression of a heterologous manganese superoxide dismutase gene in intestinal Lactobacilli provides protection against hydrogen peroxide toxicity. *Appl Environ Microbiol*, 2004, 70, 4702-4710.

Canesso MC, Vieira AT, Castro TB, Schirmer BG, Cisalpino D, Martins FS, et al. Skin wound healing is accelerated and scarless in the absence of commensal microbiota. *Immunol*, 2014, 193, 5171-5180.

Castellazzi AM, Valsecchi C, Caimmi S, Licari A, Marseglia A, Leoni MC, Caimmi D, Miraglia del Giudice M, Leonardi S, La Rosa M, Marseglia GL. Probiotics and food allergy. *Italian J Pediatr*, 2013, 39, 1-8.

Castillo NA, Perdigón G, Moreno de Leblanc A. Oral administration of a probiotic *Lactobacillus* modulates cytokine production and TLR expression improving the immune response against *Salmonella enterica* serovar *Typhimurium* infection in mice. *BMC Microbiol*, 2011, 11, 177.

Cinque B, Palumbo P, la Torre C, Melchiorre E, Corridoni D, Miconi G, et al. Probiotics in aging skin. In: Farage M, Miller K, Maibach H, editors. Textbook of aging skin. Berlin, Springer-Verlag, 2010, str. 811-820.

Cosseau C, Devine DA, Dullaghan E, Gardy JL, Chikatamarla A, Gellatly S. The commensal Streptococcus salivarius K12 downregulates the innate immune responses of human epithelial cells and promotes host-microbe homeostasis. *Infect Immun,* 2008, 76, 4163-4175.

Di Marzio L, Cinque B, De Simone C, Cifone MG. 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.

Duquesne S, Petit V, Peduzzi J, Rebuffat S. Structural and functional diversity of microcins, gene-encoded antibacterial peptides from enterobacteria. *Microbiol Biotechnol,* 2007, 13, 200-209.

Ferrer L, Ravera I, Silbermayr K. Immunology and pathogenesis of canine demodicosis. *Vet Dermatol,* 2014, 25, 427-465.

Fiocchi A, Pawankar R, Cuello-Garcia C, Ahn K, Al-Hammadi S, Agarwal A. World Allergy Organization- McMaster University Guidelines for Allegic Disease Prevention (GLAD-P): Probiotics. *World Allergy Organ J,* 2015, 8, 4-10.

Gill SR, Pop M, Deboy RT, Eckburg PB, Turnbaugh PJ, Samuel BS, Gordon JI, Relman DA, Fraser-Liggett CM and Nelson KE. Metagenomic analysis of the human distal gut microbiome. *Science,* 2006, 312, 1355-1359.

Grice EA, Kong HH, Conlan S, Deming CB, Davis J, Young AC, Bouffard GG, Blakesley RW, Murray PR, Green ED, Turner ML and Segre JA. Topographical and temporal diversity of the human skin microbiome. *Science,* 2009, 324, 1190-1192.

Grice EA and Segre JA. Interaction of the microbiome with the innate immune response in chronic wounds. *Adv Exp Med Biol,* 2011, 946, 55-68.

Grice EA and Segre JA. The skin microbiome. *Nat Rev Microbiol*, 2011, 9, 244-253.

Huang MC, Tang J. Probiotics in personal care products. *Microbiol Discovery,* 2015, 3, 2-6.

Belizario JE, Napolitano M. Human microbiomes and their roles in dysbiosis, common diseases and novel therapeutic approaches. *Front Microbiol*, 2015, 6, 105.

Ishii Y, Sugimoto S, Izawa N, Sone T, Chimba K, Miyazaki K. Oral administration of Bifidobacterium breve attenuates UV-induced barrier perturbation and oxidative stress in hairless mice skin. *Arch Dermatol Res,* 2014, 305, 467-473.

Jung JY, Shin JS, Lee SG, Rhee YK, Cho CW, Hong HD. *Lactobacillus sakei* K040706 evokes immunostimulatory effects on macrophages through TLR 2-mediated activation. *Int Immunopharmacol*, 2015, 28, 88-96.

Kalliomaki M, Salminen S, Arvilommi H, Kero P, Koskinen P, and Isolauri E. Probiotics in primary prevention of atopic disease: a randomised placebocontrolled trial. *Lancet,* 2001, 357, 1076-1079.

Kassinen A, Krogius-Kurikka L, Makivuokko H, Rinttila T, Paulin L, Corander J, Malinen E, Apajalahti J and Palva A. The fecal microbiota of irritable bowel syndrome patients differs significantly from that of healthy subjects. *Gastroenterology,* 2007, 133, 24-33.

Kopp MV, Hennemuth I, HeinzmannA and Urbanek R. Randomized, doubleblind, placebo-controlled trial of probiotics for primary prevention: no clinical effects of *Lactobacillus* GG supplementation. *Pediatrics,* 2008, 121, 850-856.

Lise M, Mayer I, Mauricio Silveira. Use of probiotics in atopic dermatitis. *Rev Assoc Med Bras,* 2018, 64, 997-1001.

Lukic J, Strahinic I, Milenkovic M, Golic N, Kojic M, Topisirovic L. Interaction of *Lactobacillus fermentum* BGHI14 with rat colonic mucosa: implications for colitis induction. *Appl Environ Microbiol,* 2013, 79, 5735-5744.

Mari, N. L., Simão, A. N. C., and Dichi, I. n-3 polyunsaturated fatty acids supplementation in psoriasis: a review. *Nutrire,* 2017, 42, 5-7.

Marteau P. Safety aspects of probiotic products. *Scand J Nutr/Näringsforskning,* 2001, 45, 22-30.

Mizutani Y, Mitsutake S, Tsuji K, Kihara A, Igarashi Y. Ceramide biosynthesis in keratinocyte and its role in skin function. *Biochimie*, 2009, 91, 784-790.

Möndel M, Schroeder BO, Zimmermann K, Huber H, Nuding S. Probiotic *E. coli* treatment mediates antimicrobial human beta-defensin synthesis and fecal excretion in humans. *Mucosal Immunol,* 2009, 2, 166-172.

Pagnini C, Saeed R, Bamias G, Arseneau KO, Pizarro TT, Cominelli F. Probiotics promote gut health through stimulation of epithelial innate immunity. *Proc Natl Acad Sci USA,* 2010, 107, 454-459.

Pavicic T, Wollenweber U, Farwick M, Korting HC. Antimicrobial and anti-inflammatory activity and efficacy of phytosphingosine: *in vitro* and *in vivo* study addressing *Acne vulgaris*. *Int J Cosmet Sci,* 2007, 29, 181-190.

Ren D, Li C, Qin Y, Yin R, Du S, Liu H. Evaluation of immunomodulatory activity of two potential probiotic *Lactobacillus*strains by *in vivo* tests. *Anaerobe,* 2015, 35, 22-27.

Ren DY, Li C, Qin YQ, Yin RL, Du SW, Ye F. Lactobacilli reduce chemokine IL-8 production in response to TNF-α and *Salmonella* challenge of Caco-2 cells. *Biomed Res Int,* 2013, 9, 252-259.

Romanian Biotechnological Letters, Vol. 20, No. 1 Supplement, 2015.

Roulis M, Armaka M, Manoloukos M, Apostolaki M, Kollias G. Intestinal epithelial cells as producers but not targets of chronic TNF suffice to cause murine Crohn-like pathology. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2011, 108, 5396-5401.

Rutherford ST, Bassler BL. Bacterial quorum sensing: its role in virulence and possibilities for its control. *Cold Spring Harb Perspect Med*, 2012, 2, 11-15.

Schwarz A, Schwarz T. Molecular determinants of UV-induced immunosuppression. *Exp Dermatol,* 2002, 11, 9-12.

Two AM, Wu W, Gallo RL, Hata TR. Rosacea: Part I. Introduction, categorization, histology, pathogenesis, and risk factors. *Am Acad Dermatol,* 2015, 72, 749-758.

Vijayashankar M, Raghunath N. Pustular psoriasis responding to probiotics - A new insight. *Our Dermatol,* 2012, 3, 326-329.

Wickens K, Black PN, Stanley TV, Mitchell E, Fitzharris P, Tannock GW, Purdie G and Crane J. A differential effect of 2 probiotics in the prevention of eczema and atopy: A double-blind, randomized, placebo-controlled trial. *Allergy Clin Immunol*, 2008, 48, 112-114.

Wilson JR, Mills JG, Prather ID, Dimitrijevich SD. A toxicity index of skin and wound cleansers used on *in vitro* fibroblasts and keratinocytes. *Adv Skin Wound Care*, 2005, 18, 373-378.

Wu X, Vallance BA, Boyer L, Bergstrom KS, Walker J. *Saccharomyces boulardii* ameliorates *Citrobacter rodentium*-induced colitis through actions on bacterial virulence factors. *Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2008, 294, 295-306.

Yamasaki K, Gallo RL, Li G, et al. The molecular pathology of rosacea. *Dermatol Sci*, 2009, 55, 77-81.

7. SAŽETAK

Probiotici su živi mikroorganizmi za koje je dokazano da imaju brojne pozitivne učinke na ljudsko zdravlje, prvenstveno u borbi protiv patogena. Probiotici su povezani s promjenom crijevne mikrobiote koja u konačnici utječe na poboljšanje raznih kožnih stanja. Dokazani mehanizmi kojima probiotičke bakterije pokazuju svoje korisne učinke uključuju izravno uništavanje patogena, kompeticiju za receptorska mjesta i hranjive tvari, poboljšavanje epitelne barijere, indukciju fibroblasta te migraciju i funkcioniranje epitelnih stanica. Posljedično tome, probiotici moduliraju i aktiviraju intraepitelne limfocite, prirodne stanice ubojice i makrofage kroz induciranu proizvodnju citokina te na taj način blagotvorno utječu na zdravlje i izgled kože. Diplomski rad sadrži najnovija saznanja o djelovanju probiotika na razne kožne bolesti kao što su atopijski dermatitis, psorijaza, akne i rosacea te je opisana njihova potencijalna uloga kod zacijelivanja rana, opeklina i fotostarenja kože.

SUMMARY

Probiotics are live microorganisms which are proved to have a number of positive effects on human health, primarily in the fight against pathogens. Probiotics are associated with the change of intestinal microbial which ultimately affects the improvement of various skin conditions. The proven mechanisms by which probiotic bacteria exhibit their beneficial effects include direct killing of pathogens, competence for receptor sites and nutrients, improvement of epithelial barrier, induction of fibroblasts, and migration and functioning of epithelial cells. Consequently, probiotics modulate and activate intraepithelial lymphocytes, natural killer cells, and macrophage through induced cytokine production and thus have a beneficial effect on the health and appearance of the skin. This thesis contains the latest knowledge on the effects of probiotics on various skin diseases such as atopic dermatitis, psoriasis, acne and rosacea, and their potential role in the healing of wounds, burns and aging of skin caused by UV radiation.

Temeljna dokumentacijska kartica

Sveučilište u Zagrebu
Farmaceutsko-biokemijski fakultet
Studij: Farmacija
Zavod za farmaceutsku tehnologiju
Domagojeva 2, 10000 Zagreb, Hrvatska

Diplomski rad

PRIMJENA PROBIOTIKA U DERMATOFARMACIJI

Mirjana Đurek

SAŽETAK

Probiotici su živi mikroorganizmi za koje je dokazano da imaju brojne pozitivne učinke na ljudsko zdravlje, prvenstveno u borbi protiv patogena. Probiotici su povezani s promjenom crijevne mikrobiote koja u konačnici utječe na poboljšanje raznih kožnih stanja. Dokazani mehanizmi kojima probiotičke bakterije pokazuju svoje korisne učinke uključuju izravno uništavanje patogena, kompeticiju za receptorska mjesta i hranjive tvari, poboljšavanje epitelne barijere, indukciju fibroblasta te migraciju i funkcioniranje epitelnih stanica. Posljedično tome, probiotici moduliraju i aktiviraju intraepitelne limfocite, prirodne stanice ubojice i makrofage kroz induciranu proizvodnju citokina te na taj način blagotvorno utječu na zdravlje i izgled kože. Diplomski rad sadrži najnovija saznanja o djelovanju probiotika na razne kožne bolesti kao što su atopijski dermatitis, psorijaza, akne i rosacea te je opisana njihova potencijalna uloga kod zacijelivanja rana, opeklina i fotostarenja kože.

Rad je pohranjen u Središnjoj knjižnici Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.

Rad sadrži: 29 stranica, 2 grafička prikaza, 1 tablicu i 45 literaturnih navoda. Izvornik je na hrvatskom jeziku.

Ključne riječi: probiotici, atopijski dermatitis, akne, psorijaza, fotostarenje kože

Mentor: **Dr. sc. Ivan Pepić**, *izvanredni profesor Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.*

Ocjenjivači: **Dr. sc. Ivan Pepić**, *izvanredni profesor Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.*
Dr. sc. Anita Hafner, *izvanredna profesorica Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.*
Dr. sc. Dubravka Vitali Čepo, *izvanredna profesorica Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.*

Rad prihvaćen: ožujak 2019.

Basic documentation card

University of Zagreb
Faculty of Pharmacy and Biochemistry
Study of Pharmacy
Department of pharmaceutical technology
Domagojeva 2, 10000 Zagreb, Croatia

Diploma thesis

APPLICATION OF PROBIOTICS IN DERMATOPHARMACY

Mirjana Đurek

SUMMARY

Probiotics are live microorganisms which are proved to have a number of positive effects on human health, primarily in the fight against pathogens. Probiotics are associated with the change of intestinal microbial which ultimately affects the improvement of various skin conditions. The proven mechanisms by which probiotic bacteria exhibit their beneficial effects include direct killing of pathogens, competence for receptor sites and nutrients, improvement of epithelial barrier, induction of fibroblasts, and migration and functioning of epithelial cells. Consequently, probiotics modulate and activate intraepithelial lymphocytes, natural killer cells, and macrophage through induced cytokine production and thus have a beneficial effect on the health and appearance of the skin. This thesis contains the latest knowledge on the effects of probiotics on various skin diseases such as atopic dermatitis, psoriasis, acne and rosacea, and their potential role in the healing of wounds, burns and aging of skin caused by UV radiation.

The thesis is deposited in the Central Library of the University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry.

Thesis includes: 29 pages, 2 figures, 1 table and 45 references. Original is in Croatian language.

Keywords: probiotics, atopic dermatitis, psoriasis, acne, aging skin

Mentor: **Ivan Pepić**, **Ph.D.** *Associate Professor*, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry

Reviewers: **Ivan Pepić**, **Ph.D.** *Associate Professor*, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry
Anita Hafner, **Ph.D.** *Associate Professor*, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry
Dubravka Vitali Čepo, **Ph.D.** *Associate Professor*, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry

The thesis was accepted: March 2019.