Primjena oralnih probiotika u parodontologiji

Vihnanek, Nikolina

Master's thesis / Diplomski rad

2015

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, School of Dental Medicine / Sveučilište u Zagrebu, Stomatološki fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:127:378941

Rights / Prava: Attribution-NonCommercial-NoDerivs 3.0 Unported/Imenovanje-Nekomercijalno-Bez prerada 3.0

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

Repository / Repozitorij:

University of Zagreb School of Dental Medicine Repository

STOMATOLOŠKI FAKULTET
SVEUČILIŠTE U ZAGREBU

Nikolina Vihnanek

PRIMJENA ORALNIH PROBIOTIKA U PARODONTOLOGIJI

DIPLOMSKI RAD

Zagreb, srpanj 2015.

Rad je ostvaren na Zavodu za parodontologiju Stomatološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu.

Voditelj rada: Dr.sc. Ivan Puhar, Stomatološki fakultet Sveučilišta u Zagrebu

Lektor hrvatskog jezika: Ana Pančiško, profesor hrvatskog i češkog jezika i književnosti

Lektor engleskog jezika: Maša Kohut, profesor engleskog i njemačkog jezika i književnosti

Rad sadrži: 47 stranica

4 tablice

18 slika

1 CD

Zahvaljujem se svom mentoru dr.sc. Ivanu Puharu na stručnoj pomoći i sugestijama pri izradi rada.

Veliko hvala mojim roditeljima, dečku i prijateljima koji su mi bili podrška tijekom svih godina studija i tijekom izrade ovog rada.

SADRŽAJ

1.0. UVOD.....1

2.0. PARODONTITIS.....3

2.1. ETIOLOGIJA I KLASIFIKACIJA.....3

2.2. BIOFILM.....5

2.3. LIJEČENJE.....9

3.0. PROBIOTICI.....11

3.1. OTKRIĆE I PROBIR PROBIOTIKA.....11

3.2. MEHANIZAM DJELOVANJA.....13

3.3. PRIMJENA PROBIOTIKA I PROBIOTIČKI PROIZVODI.....17

4.0. PROBIOTICI KAO DIO ADJUVANTNE TERAPIJE PARODONTITISA.....21

4.1. PRIMJENA PROBIOTIKA U OSTALIM GRANAMA STOMATOLOGIJE.....32

5.0. RASPRAVA.....35

6.0. ZAKLJUČAK.....39

7.0. SAŽETAK.....41

8.0. SUMMARY.....42

9.0. LITERATURA.....43

10.0. ŽIVOTOPIS.....47

POPIS OZNAKA I KRATICA

Aa – Aggregatibacter actinomycetemcomitans

Pg – Porphyromonas gingivalis

Ig – imunoglobulin

IL – interleukin

CFB - *Cytophaga – Flavobacterium – Bacteroides*

MMP – matriksne metaloproteinaze

Pi – Prevotella intermedia

TNF-α – faktor nekroze tumora α

SRP – struganje i poliranje korjenova

PI – plak indeks

GI – gingivni indeks

BOP – krvarenje pri sondiranju

PPD – dubina džepova

CAL – gubitak kliničkog pričvrstka

PG – prostaglandin

1.0. UVOD

Najmanje će se svaka druga osoba u odrasloj dobi susresti sa simptomima gingivitisa, dok se taj postotak u adolescenata penje i na oko 80 % (1). Važnost prepoznavanja ranih znakova gingivitisa sastoji se u prevenciji razvoja parodontitisa koji vodi do gubitka kosti i zuba (2).

Danas se smatra kako je parodontitis multifaktorska bolest kod koje su patogeni mikroorganizmi primarni etiološki faktor. Oni sami po sebi nisu dovoljni, ali su nužni za razvoj bolesti. Parodontopatogena flora svojim produktima dovodi do upale i imunološkog odgovora domaćina, koji će naposljetku uzrokovati destrukciju kosti (3,4).

Zbog ključne uloge bakterija u nastanku gingivitisa i parodontitisa nameće se pitanje kojim sredstvima na njih djelovati. Antibakterijsko djelovanje probiotika prvi je uočio nobelovac Elie Metchinkoff 1907. godine i opisao ga u svojoj knjizi „Prolongation of life“. Otkrio je kako bakterije u fermentiranim proizvodima mogu zamijeniti ili smanjiti broj loših mikroba u crijevima, produžiti život i poboljšati zdravlje. Danas, nakon više od 100 godina od njegove ideje, znamo da su probiotici živi mikroorganizmi koji, konzumirani u dovoljnoj mjeri, imaju korisno djelovanje na ljudsko zdravlje. U posljednjih 10 godina, mnogo je truda uloženo u otkrivanje novih probiotičkih sojeva, a sve više istraživanja dokazuje njihove nove pozitivne učinke. Molekularne i genetičke studije pomogle su u razotkrivanju mehanizama djelovanja probiotika (5).

U oralnoj mikroflori nalazimo više stotina sojeva bakterija od kojih su mnoge korisne za čovjeka i drže patogene bakterije pod kontrolom. Neke od njih nazivamo

probioticima. Naziv dolazi od grčkog „pro bios“ što znači „za život“. Probioticima pripadaju i plijesni i kvasci, međutim većinu probiotičkih vrsta čine bakterije. Pripadaju im i *Lactobacillus spp.* koje prirodno nalazimo u usnoj šupljini i crijevima već u prvim danima života. Moderni higijenski standardi i promjena prehrambenih navika, doveli su do smanjenja broja tih bakterija, dok kod nekih ljudi posve nedostaju. Uzimanjem oralnih probiotika moguće je ponovno postići prirodnu ravnotežu i modificirati biofilm. Takvu terapiju nazivamo bakterioterapijom (2,6).

Kada govorimo o probioticima, bitno je spomenuti i prebiotike. Prebiotici su definirani kao neprobavljivi ugljikohidrati koji služe kao hrana odabranim „dobrim“ bakterijama koje tada iskazuju probiotičke učinke. Studije su do sada uglavnom bile usmjerene na gastrointestinalnu mikrofloru pa je njihova mogućnost poticanja rasta laktobacila i bifidobakterija dobro dokumentirana. Kombinaciju probiotika i prebiotika nazivamo sinbioticima (6,7).

Probiotici su pokazali veliki potencijal u terapiji halitoze, smanjenju kolonizacije anaerobnih bakterija, smanjenju dubine džepova (PPD) i gubitka kliničkog pričvrstka (CAL), stoga predstavljaju budućnost u modernoj parodontnoj terapiji (8).

Godinama se probiotici uspješno koriste u kontroli gastrointestinalnih bolesti. Čini se da mogu ublažiti i simptome alergija i bolesti s imunološkom podlogom. Zbog rastućeg globalnog problema u vidu antimikrobne rezistencije, koncept probiotičke terapije čini se zanimljiv i značajan. Unatoč mnogim prikupljenim podacima o prednostima probiotika u parodontologiji, znanstvenici se slažu kako su potrebna daljnja istraživanja na polju dentalne medicine (9).

Svrha je ovog rada pregledno prikazati prednosti i mogućnosti oralnih probiotika i povezati ih s učincima na parodontno zdravlje.

2.0. PARODONTITIS

2.1. ETIOLOGIJA I KLASIFIKACIJA

Nekada se smatralo kako su isključivo bakterije uzrok parodontitisa. Međutim, pokazalo se kako njihovo postojanje i rasprostranjenost, nisu uvijek bili u skladu s razvojem i napredovanjem bolesti. Tako su prikupljeni dokazi o multifaktorskoj etiologiji parodontitisa, gdje okoliš džepa igra bitnu ulogu. Primarnim etiološkim faktorom i dalje se smatraju patogeni mikroorganizmi subgingivnog biofilma („bez bakterija nema parodontitisa“). Iako je njihova uloga neosporna, sama njihova prisutnost ne znači nužno da će bolest nastati. Glavnim parodontopatogenim mikroorganizmima smatramo *Aggregatibacter actinomycetemcomitans (Aa), Porphyromonas gingivalis (Pg), Tannerella forsythensis i Treponema denticola* (3). Cijeli niz ostalih, sekundarnih etioloških faktora ovisi o domaćinu. Možemo ih podijeliti na nepromjenjive i promjenjive faktore rizika. Nepromjenjivi faktori rizika genetske su prirode, a neki su od njih imunološki nedostaci, poput defekta polimorfonuklearnih granulocita, snižena razina imunoglobulina (Ig) G2 u krvi, pozitivan interleukin (IL) 1 genotip i pozitivna ciklooksigenaza 1 genotip. Kod promjenjivih faktora rizika razlikujemo sistemske i lokalne. U sistemske se ubrajaju sistemske bolesti (šećerna bolest, HIV-infekcija, hormonski poremećaji), pušenje, stres, lijekovi, odnos prema zdravlju i stil života. Lokalne faktore čine količina i sastav sline, disanje na usta, egzogeni podražaji, okluzalne traume i parafunkcije (3).

Istraživanja koja opisuju rasprostranjenost gingivitisa i parodontitisa među stanovništvom u svijetu daju veoma različite rezultate. Međutim pregledom mnogih

istraživanja može se uzeti kako se prevalencija gingivitisa kreće od oko 50-100 %, a teških slučajeva parodontitisa 10-15 %. Gingivitis se može, ali i ne mora, razviti u parodontitis. Još nisu sasvim poznati razlozi zbog kojih dolazi do ove promjene. Vjeruje se da su odlučujući faktori umnožavanje patogena i njihovo prodiranje u tkiva te osjetljivost domaćina na infekt. Dok je gingivitis reverzibilan, parodontitis je reverzibilan samo u ograničenim slučajevima (3).

Nova klasifikacija parodontnih bolesti iz 1999. godine dijeli ih u osam glavnih tipova, a svaki od njih sadrži i svoje pripadajuće potpodjele. Temeljna podjela prikazana je u Tablici 1. (3).

Tablica 1. Klasifikacija parodontnih bolesti iz 1999. godine. Preuzeto: (3).

TIP	OPIS KLASIFIKACIJE PARODONTNIH BOLESTI IZ 1999. GODINE
I	Gingivne bolesti
II	Kronični parodontitis
III	Agresivni parodontitis
IV	Parodontitis kao manifestacija sistemskih bolesti
V	Nekrotizirajuće parodontne bolesti
VI	Parodontni apscesi
VII	Parodontitis uz endodontske lezije
VIII	Razvojne i stečene deformacije i stanja

2.2. BIOFILM

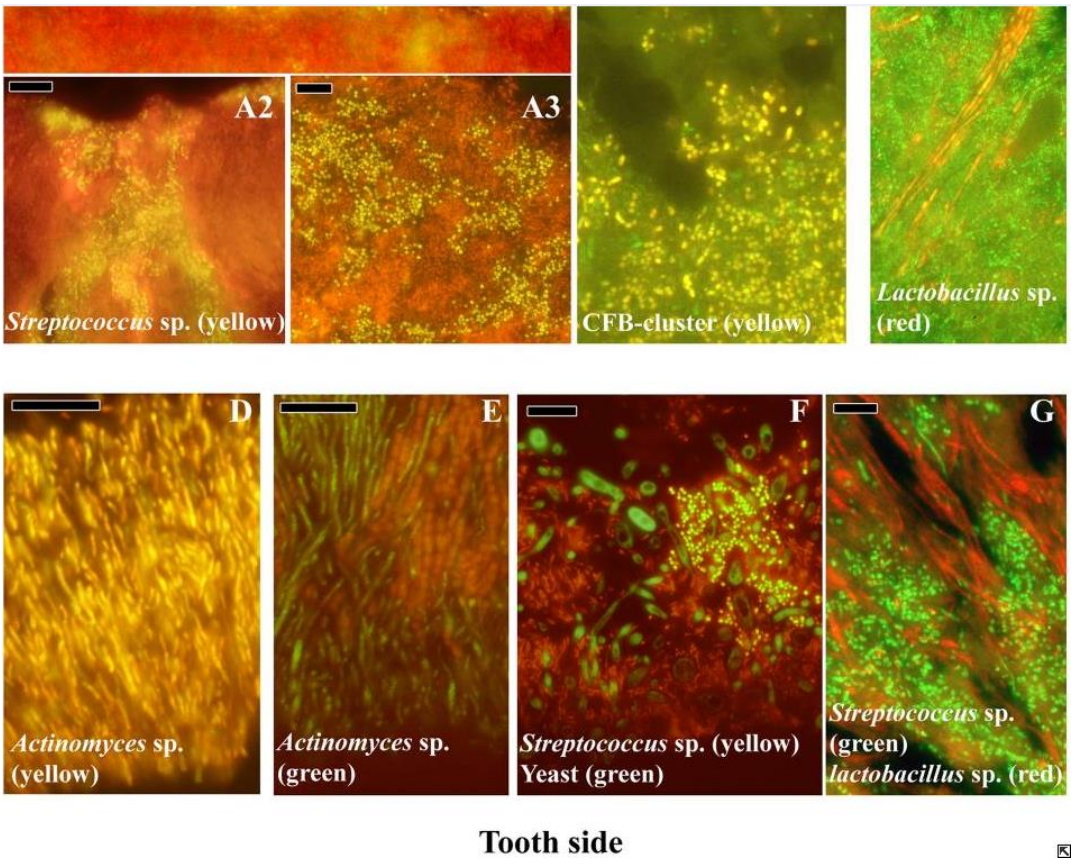
U usnoj šupljini nalazimo više od 800 različitih vrsta bakterija, što je čini jednom od najsloženijih mikrobnih populacija u tijelu. Takve trodimenzionalno strukturirane bakterijske zajednice, uklopljene u matriks polisaharida i pričvršćene na tvrda zubna tkiva, poput cakline ili površine korijena, nazivamo oralnim biofilmom (2,10).

Najranija mikroflora koja kolonizira usnu šupljinu novorođenčeta, potječe iz majčinog genitalnog trakta, usne šupljine i kože. S obzirom da novorođenče nema zuba, prvi mikrobni kolonizatori bit će oni koji su sposobni kolonizirati epitel. Jedan od njih, *Streptococcus salivarius*, nastanjuje usnu šupljinu već prvi dan života. Jedni od prvih kolonizatora su i *Lactobacillus spp.*, a predominantno Gram pozitivnoj mikroflori se pridružuju i malobrojne Gram negativne bakterije. Sveukupno se bakterije nalaze u manjim količinama, sve do nicanja zuba koji potiču njihovu retenciju (11).

Stvaranje plaka započinje odlaganjem salivarnih proteina i glikoproteina u obliku pelikule na površini zuba. Adhezini na površini bakterijskih stanica prepoznaju proteine pelikule i na taj način dolazi do adhezije planktonskih stanica ili agregata na pelikulu (10).

Prve mikrobne vrste koje nastanjuju zubne površine su *Actinomyces spp., Streptococcus spp., Lactobacillus spp. i Candida spp.* Ovisno o tome koje od spomenutih bakterija dominiraju u početnom naseljavanju površine zuba, razlikujemo četiri tipa bazalnog sloja biofilma. Prvi je tip biofilm sastavljen od štapićastih stanica

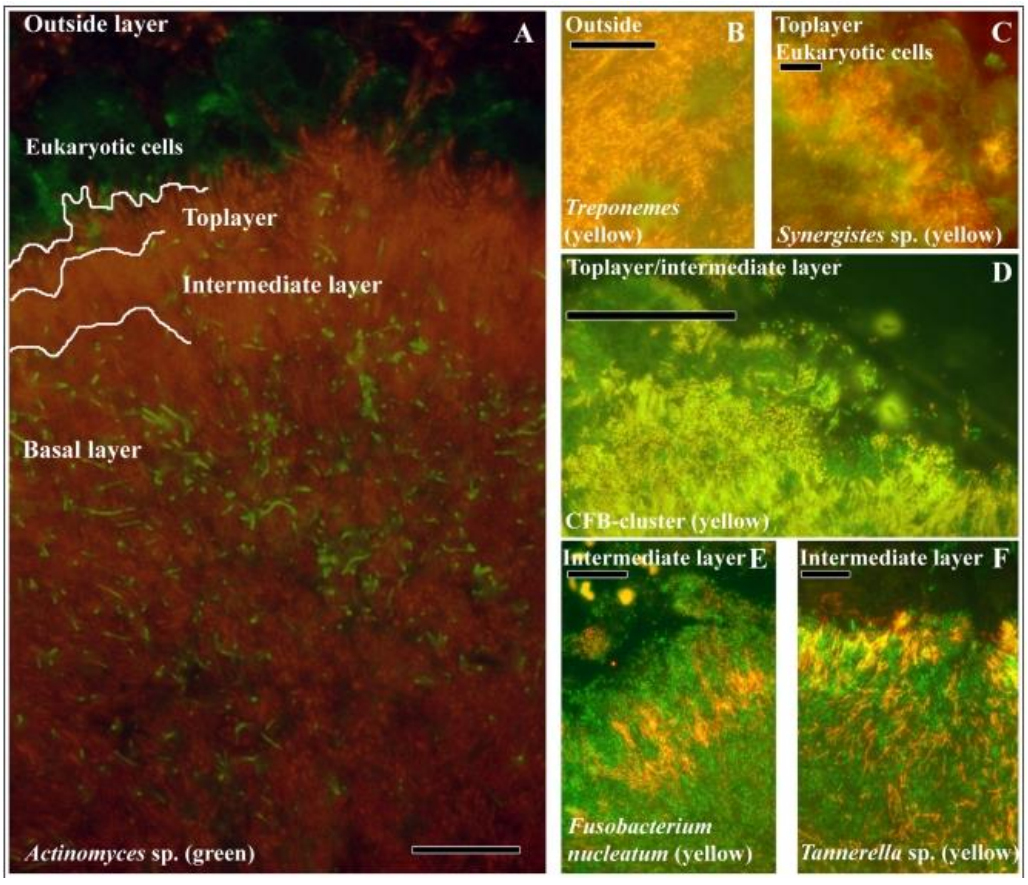
aktinomiceta, okomito postavljenih na površinu zuba. Drugi tip čini kombinacija aktinomiceta i lanaca koka, također okomito orijentiranih. Treći tip pokazuje biofilm s filamentoznim bakterijama, streptokokima i gljivama, gdje streptokoki tvore jasne kolonije oko stanica gljiva. Četvrti je tip biofilm većinom sastavljen od streptokoka u čijoj blizini rastu vertikalno orijentirani laktobacili. U gornjem sloju nalazimo raspršene streptokoke, bez jasne organizacije ili mogu biti poredani na vrhu poput tankog pokrova. Također, oni koloniziraju pukotine unutar biofilma. Bakterijske stanice *Cytophaga – Flavobacterium – Bacteroides* (CFB) nakupine su heterogeno raspršene bez definirane strukture. Laktobacili tvore duge niti u gornjem sloju i orijentirani su suprotno od površine zuba (Slika 1.) (10).



Slika 1. Lokalizacija najbrojnijih vrsta supragingivnog biofilma. Preuzeto: (10).

Maturaciji biofilma i stvaranju gornjeg sloja pogoduju koagregacija planktonskih stanica na već stvoreni biofilm i sam rast bakterija. Prisutnost CFB-nakupina stanica (skupini pripadaju i ostali parodontopatogeni poput *Prevotella spp.*) mogu biti znak važne tranzicije supragingivnog plaka iz dominantno Gram pozitivnog saharolitičkog plaka u Gram negativni proteolitički plak. Nakon tri tjedna, netaknuti supragingivni plak poprima morfološke značajke subgingivnog (10).

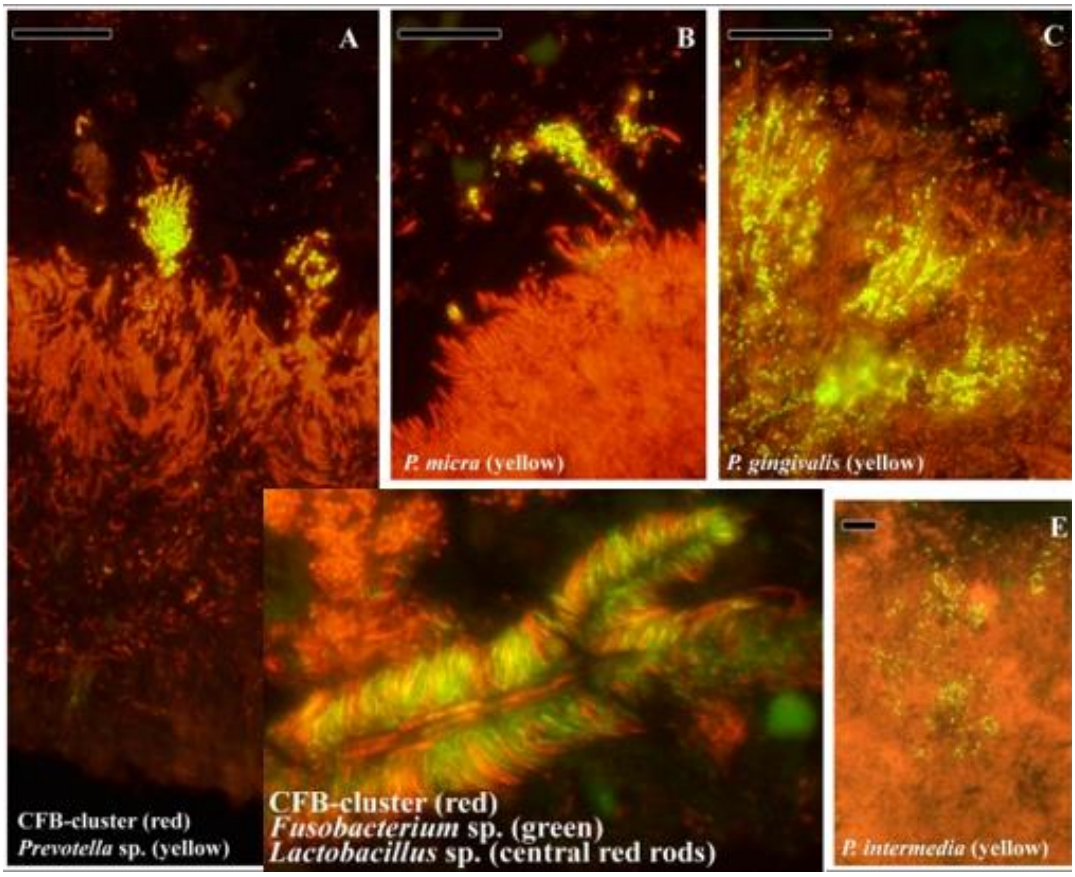
U subgingivnom plaku razlikujemo četiri sloja. Prvi čine *Actinomyces spp*., srednji vretenaste stanice *F. nucleatum, T. forsythia i Tannerella spp*., a gornji i dio srednjeg sloja tvore uglavnom stanice CFB-skupine. Izvan biofilma, bez organizacije, nalazi se četvrti sloj koji tvore *Spirochaetes* (Slika 2.) (10).



Slika 2. Lokalizacija najbrojnijih vrsta subgingivnog biofilma. Preuzeto: (10).

Lokalizacija vjerojatnih parodontnih patogena, prikazana je na Slici 3. Većina parodontopatogena pripada Gram negativnoj grupi bakterija ujedinjenih u CFB-skupinu, poput *Pg, P. Intermedia (Pi), P. endodontalis i P. nigrescens*. Većina tih stanica smještena je u srednjem i dominantno gornjem sloju. Nalazimo ih i u četvrtom sloju, izvan biofilma. U tom su slobodnom sloju filamentozne bakterije CFB-skupine okomito organizirane oko centralno smještenih laktobacila, tvoreći četkaste agregacijske oblike (Slika 3.) (10).

Složenost biofilma i interakcija među vrstama, zahtijevaju još mnogo istraživanja, tek shvaćanjem prirode biofilma, moći ćemo shvatiti i ulogu probiotika u usnoj šupljini (12).



Slika 3. Lokalizacija vrsta povezanih s parodontitisom. Prilagođeno prema: (10).

2.3. LIJEČENJE

U parodontologiji postoji širok spektar terapijskih pristupa. Nijedan od njih ne može sanirati sve slučajeve parodontne bolesti. U istim ustima, jedan terapijski pristup može biti pogodan za jedan dio usne šupljine, dok drugi mogu biti efikasni za ostale dijelove. Kada je indicirano, liječenje bi trebalo uključivati:

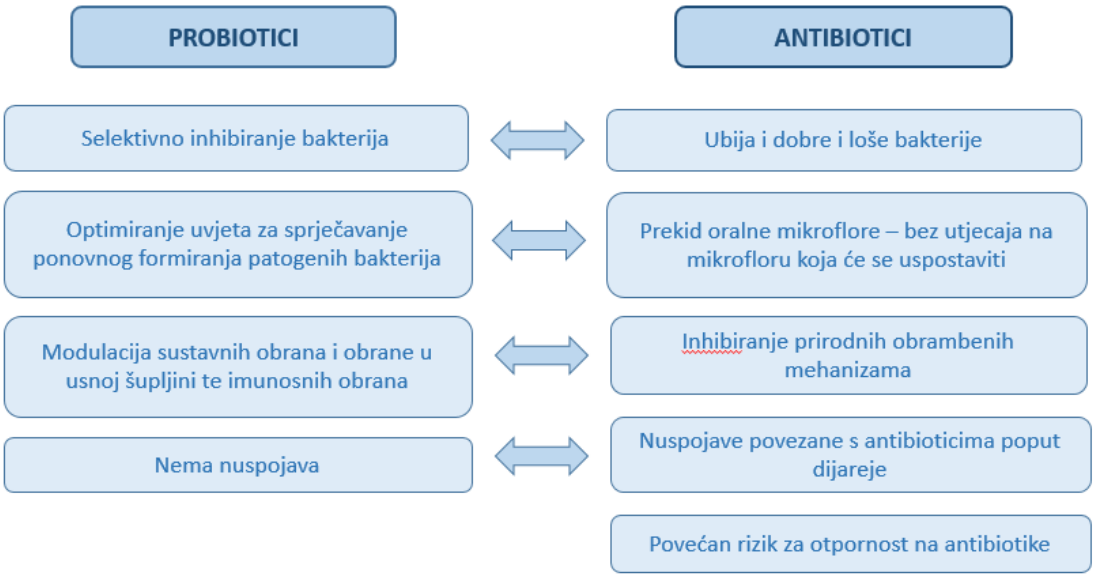
1. edukaciju pacijenta o oralnoj higijeni te savjetovanje o čimbenicima rizika (pušenje, medicinski status, stres)
2. uklanjanje supragingivnog i subgingivnog plaka i kamenca. Ponekad takve procedure mogu biti uklopljene u kirurški zahvat.
3. Završnu proceduru koja uključuje postterapijsku evaluaciju i poticanje oralne higijene.

Sljedeći pristupi mogu biti indicirani kao dodatak spomenutim procedurama:

1. Kemoterapeutici. Ovi agensi mogu se koristiti kako bi se reduciralo, eliminiralo ili utjecalo na sastav mikroflore. Moguće je i mijenjati odgovor domaćina kroz lokalnu ili sistemsku terapiju.
2. Resektivne metode. Ove su metode razvijene kako bi se reduciralo ili eliminiralo koštane džepove i oblikovalo prihvatljivu arhitekturu gingive koja će omogućiti odgovarajuću oralnu higijenu i parodontno liječenje. Liječenje mekih tkiva uključuje gingivektomiju i gingivoplastiku. Koštana tkiva podvrgavamo ostektomiji i osteoplastici, a zubna tkiva resekciji korijena, hemisekciji i odontoplastici.

3. Regenerativne metode. Ubrajaju se transplatati mekog tkiva, koštani transplatati, biomodifikacija korijena, vođena regeneracija tkiva i kombinacije ovih metoda. Rekonstruktivne metode podrazumijevaju vođenu regeneraciju kosti, augmentaciju grebena i podizanje dna sinusa.
4. Parodontna plastična kirurgija uključuje postupke za augmentaciju gingive, korekciju gingivnih recesija, produljivanje krune i ostala estetska poboljšanja.
5. Selektivna ekstrakcija zuba, korijena ili implantata kada je to indicirano kako bi se postigli bolji rezultati parodontne terapije (13).

Konvencionalna terapija parodontne bolesti uključuje kirurške i nekirurške zahvate koji se uglavnom temelje na mehaničkoj terapiji, često uz potporu antibioticima. Njihova široka upotreba dovela je do rezistencije subgingivne mikroflore i brze rekolonizacije tretiranih područja patogenim bakterijama. To je potaknulo znanstvenike na pronalazak novih antimikrobnih agenasa, gdje su se probiotici pokazali kao jedno od najvećih postignuća na tom polju (Slika 4.) (14,15).



Slika 4. Prednosti probiotika pred antibioticima. Preuzeto: (2).

3.0. PROBIOTICI

3.1. OTKRIĆE I PROBIR PROBIOTIKA

Ocem mikrobiologije smatra se danski trgovac Antonie van Leeuweenhoek (1632. – 1723.). Svojim primitivnim mikroskopom prvi je uočio i opisao jednostanične organizme. Na njegov se rad dva stoljeća kasnije nadovezao Louis Pasteur opisujući njihovu biološku aktivnost i podupirući germinativnu teoriju bolesti. Dok je Pasteur bakterije okarakterizirao kao nepoželjne uzročnike bolesti, Metchnikoff je bio prvi koji je uočio pozitivne učinke bakterija. Svoju je teoriju potkrijepio činjenicom da su neke istočnoeuropske populacije koje su konzumirale fermentirane mliječne proizvode na dnevnoj bazi bile zdrave i dugovječne. Liječnici su počeli propisivati mliječnu dijetu svojim pacijentima i era probiotika je započela. Termin probiotici prvi su upotrijebili Lilley i Stillwell 1965., kao antonim terminu antibiotici. Fuller je 1989. modificirao Parkerovu definiciju opisujući ih kao žive mikrobne suplemente koji pozitivno djeluju na domaćina i njegovu crijevnu floru (5,16).

Do sada su otkriveni i identificirani mnogi sojevi probiotičkih bakterija u koje pripadaju *Lactobacillus spp., Bifidobacterium spp. Saccharomyces spp.* i neki sojevi streptokoka i enterokoka (7). Da bi se bakterijska kultura mogla nazvati probiotikom, ona mora biti u potpunosti opisana, kao i njen genom, vrsta i nomenklatura. Identifikaciju soja omogućuju fenotipske i genotipske metode. Osim toga, bakterije moraju zadovoljiti i određene kriterije koji se tiču sigurnosti, proizvodnje, primjene, preživljavanja i kolonizacije unutar domaćina. *In vitro* eksperimentima moguće je

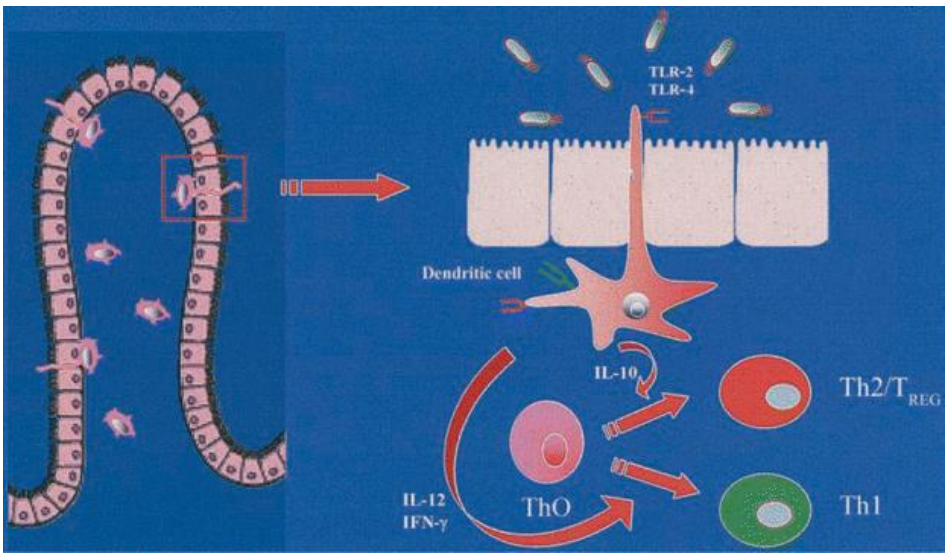
otkriti njihov probiotički potencijal. Neki od *in vitro* testova koji se koriste testovi su rezistencije na želučane i žučne kiseline, adhezija na ljudske epitelne stanice, mogućnost antimikrobnog djelovanja na patogene i slično. Probiotički sojevi mogu biti iz ljudskih (tanko i debelo crijevo, majčino mlijeko) ili životinjskih izvora (mlijeko i fermentirani proizvodi). Za sojeve izolirane iz ljudskih izvora vjerojatnije je da će adherirati na stijenku crijeva i biti sigurniji. Potencijalni probiotici moraju proći toksikološka ispitivanja i mora se ispitati njihova stabilnost u prehrambenim proizvodima i nadomjescima. Dalje se njihova vrijednost utvrđuje u pokusima na životinjama i ljudima (17).

Tablica 2. Dokazano probiotički mikroorganizmi (preuzeto iz: (5)).

Lactobacillus spp.	L. rhamnosus *GG* (LGG), L. rhamnosus GR-1, L. reuteri RC-14, L. casei DN114001, L. acidophilus LA-1, L. reuteri SD2112, L. plantarum 299v, L. casei Shirota, L. acidophilus LB
Bifidobacterium spp.	B. lactis Bb 12, B. infantis 35624, B. breve soj Yakult, B. animalis DN 117-001, B. lactis HN019, B. longum BB536
Ostale bakterije koje proizvode mliječnu kiselinu	Lactococcus lactis LlA
Bakterije koje ne proizvode mliječnu kiselinu	Escherichia colli soj nissle, Saccharomyces boulardii lyo

3.2. MEHANIZAM DJELOVANJA

Do sada je opisano nekoliko mehanizama djelovanja probiotika. Mnoštvo različitih stanja i bolesti na koje probiotici mogu pozitivno djelovati, govore u prilog velikog broja mehanizama koji bi mogli biti uključeni u njihovo djelovanje. Na ljudskim stanicama postoje receptori za molekularne strukture patogena i komenzalnih bakterija, što bi značilo da djeluju kompetitivno s patogenima na mjestu svezivanja. Osim toga, spomenuti su receptori temelj „komunikacije“ između limfoidnih elemenata crijevne sluznice i kolonizirajućih bakterija. Ta „komunikacija“ ovisno o soju djeluje stimulirajuće na staničnu i humoralnu imunost. Također, nedavno je dokazano kako dendritične stanice lamine proprije mogu produžiti svoje nastavke između epitelnih stanica crijeva i tako sakupljati molekularne strukture komenzalnih bakterija (Slika 5.) (7,12,18).

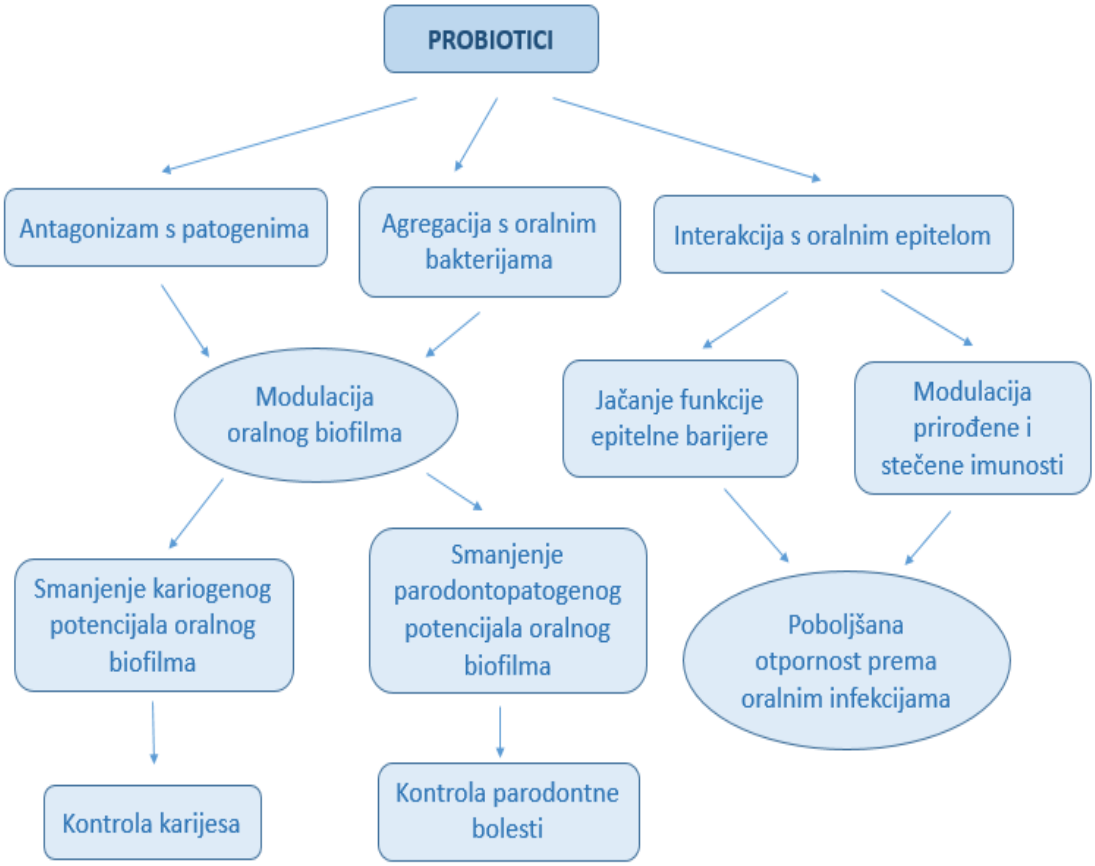


Slika 5. Direktni utjecaj komenzalnih bakterija crijeva na dendritične stanice i T limfocite. Preuzeto: (18).

Stimulacija i modulacija imunog sistema sluznice ide i u smjeru smanjenja proizvodnje proupalnih citokina i povećanja proizvodnje protuupalnih citokina (IL-10) i obrambenih peptida (β-defenzin 2). Mogu utjecati i na maturaciju dendritičnih stanica. Proizvodnjom baktericina, organskih kiselina, peroksida i drugih antimikrobnih spojeva, smanjuju ili zaustavljaju rast patogena. Primjena probiotika pomaže i u poboljšanju mukozne barijere. Primjerice, sojevi laktobacila mogu potaknuti gene vrčastih stanica koji su odgovorni za izlučivanje mucina. Time se smanjuje prijanjanje patogena za stijenku sluznice i eventualno nastanak štete (7,12,18).

Sposobnost određenih oligosaharida (inulin, maltodekstrin, fruktooligosaharidi, galaktooligosaharidi) da poboljšaju rast određenih komenzalnih bakterija crijeva, posebno bifidobakterija i lakobacila, dobro je dokumentirana. Smatra se kako je mehanizam djelovanja prebiotika indirektan, no postoje dokazi kako neki prebiotici mogu iskazivati i neposredne učinke, neovisno o njihovom djelovanju na probiotičku mikrofloru. To uključuje stimulaciju prozivodnje IL-10 i interferona γ, poboljšanje IgA sekrecije i stabilizaciju crijevne mukozne barijere. Kreirani su i prebiotici s poboljšanim funkcijama. Takvi se prebiotici, primjerice, vežu na specifične receptore epitelnih stanica na koje se inače vežu patogene bakterije. Na taj se način patogeni vežu na luminalne komponente umjesto na stijenku crijeva (7).

S obzirom na to da je usna šupljina početni dio gastrointestinalnog sustava, mehanizmi u usnoj šupljini mogli bi biti analogni onima u crijevima. Neki od tih mehanizama pregledno su prikazani na Slici 6.



Slika 6. Potencijalni mehanizmi djelovanja probiotika u usnoj šupljini.

Preuzeto: (12).

Potencijalni mehanizmi u usnoj šupljini su:

- Kompetencija za adheziju, faktore rasta i hranjive tvari
- Agregacija s oralnim bakterijama i sudjelovanje u svezivanju mikrorganizama za proteine (formiranje biofilma)
- Proizvodnja antimikrobnih tvari uključujući kiseline
- Poboljšanje imunog odgovora domaćina kroz povećanu proizvodnju IgA i defenzina

- Inhibicija proupalnih citokina koju uzrokuju patogeni
- Smanjenje proizvodnje matriksnih metaloproteinaza (MMP-a)
- Regulacija permeabilnosti oralne sluznice

Bitno je imati na umu da su svi opisani mehanizmi bazirani na *in vitro* istraživanjima ili kratkim kliničkim pilot studijama te da je potrebno još kliničkih studija kako bi ovi potencijalni mehanizmi potvrdili svoju ulogu u poboljšanju zdravlja usne šupljine (19,20).

3.3. PRIMJENA PROBIOTIKA I PROBIOTIČKI PROIZVODI

Danas probiotike možemo konzumirati u namirnicama na četiri osnovna načina:

- hrana i piće s koncentriranom kulturom (npr. voćni sokovi)
- probiotička vlakna u koja su inokulirane probiotičke kulture
- mliječni proizvodi (mlijeko, jogurt, kefir, sir)
- koncentrirane i isušene stanice pakirane u nadomjestke prehrani (puder, kapsule, tablete) (20).

Kada se primjenjuju oralno, probiotici osim na želučane i žučne kiseline, moraju biti rezistentni i na enzime u usnoj šupljini. Nadomjesci moraju sadržavati kulture koje su općenito prihvaćene kao sigurne (engl. generally recognized as safe – GRAS). Kombinacije više sojeva smatraju se uspješnijima u odnosu na samo jedan. Posebna se pozornost mora obratiti na to da se kod kombiniranja različitih sojeva oni međusobno ne inhibiraju. Nedokumentirani probiotici ne smiju se koristiti u formulacijama (17,21,22).

Preporučljivo je skladištiti nadomjestke pri 4 °C kako bi se osigurala njihova viabilnost i potrebno ih je koristiti sukladno roku valjanosti. Postoje i proizvodi koji su zbog načina proizvodnje stabilni pri sobnim temperaturama (engl. shelf-stable - proizvodi stabilni na policama). Kako bi kontrola kvalitete bila zadovoljena proizvodi moraju proći testove viabilnosti bakterija, testove na patogene i teške metale, ostali sastojci dodani aktivnim komponentama moraju biti strogo ispitani. Također kod

nekontrolirane fermentacije moguća je kontaminacija nepoželjnim mikrorganizmima (17,21,22).

Prema Svjetskoj zdravstvenoj organizaciji, na probiotičkim bi proizvodima trebali biti istaknuti:

- soj i vrsta bakterija
- minimum živućih bakterija pri kraju roka trajanja
- sugerirana efektivna doza ovisno o stanju koje se liječi
- broj doza/obroka u pakiranju
- zdravstvene preporuke potkrijepljene istraživanjima
- preporuke o skladištenju
- ime i adresa proizvođača
- rok trajanja

Zdravstveni djelatnici preporučuju probiotičke proizvode kod kandidijaze, intestinalnih poremećaja, gastritisa, intolerancije laktoze, plinova, žgaravice, iritabilnog kolona, kolitisa, Crohnove bolesti, imunoloških disfunkcija i kao prateću terapiju antibioticima. Osim oralno, probiotici se mogu primjenjivati i vaginalno (u borbi protiv bakterijskih vaginoza i gljivičnih infekcija). Bitno je zapamtiti kako probiotički nadomjestak mora sadržavati odgovarajući soj, potenciju i forumulu kako bi iskazao pozitivne učinke na zdravlje (17,21,22).

U novije vrijeme probiotici su se počeli intenzivnije primjenjivati i u dentalnoj medicini, i to u sklopu pasti za zube (Slika 8.), guma za žvakanje, tableta (Slika 7.) i antiseptičkih otopina (Slika 9.) (23).

Probiotičke paste za zube pokazale su se značajnim sredstvom u borbi protiv *Streptococcus mutans* kao bitne kariogene bakterije. Takva topikalna primjena pokazala se podjednako učinkovitom poput one sistemske (23). Istraživanja pokazuju kako i gume za žvakanje djeluju na istu bakteriju, a mogu pomoći i kod poboljšanja statusa pacijenata s parodontnom bolešću. Žvakaće gume i antiseptičke otopine za ispiranje pokazale su se učinkovitima u suzbijanju lošeg zadaha inhibirajući proizvodnju sumpornih komponenti. *L. reuteri* u tabletama ili žvakaćim gumama mogu smanjiti koncentraciju *S. mutansa* u slini i do 80 % (24).

Probiotici predstavljaju novo područje istraživanja u oralnoj medicini. Preliminarni su podaci ohrabrujući, ali potrebne su još mnogobrojne kliničke studije koje će otvoriti vrata novim i poboljšanim probiotičkim proizvodima u prevenciji i terapiji oralnih bolesti (24).



Slika 7. Tablete koje se otapaju u ustima s probioticima. Preuzeto: http://www.biogaia-prodentis.com/products/



Slika 8. Pasta za zube s probioticima. Preuzeto: http://www.professional.hr/plidenta-pro-t-action-pasta-za-zube-267.aspx



Slika 9. Antiseptička otopina za ispiranje s probioticima. Preuzeto: http://paleofriendly.com/certified/pip-probiotic-cleaning-products/

4.0. PROBIOTICI KAO DIO ADJUVANTNE TERAPIJE PARODONTITISA

Gingivitis je jedna od najčešćih kroničnih infekcija, uzrokovana akumulacijom plaka u gingivnom sulkusu. Nastaje upalna reakcija čiji su simptomi krvarenje pri sondiranju (BOP), crvenilo i edemi. Ako upala i degradacija kolagena napreduju, gingivitis se može razviti u parodontitis koji progresivno razara potporna tkiva zuba, uključujući kost. Prva je mjera liječenja poboljšanje oralne higijene pacijenta mehaničkom terapijom ili korištenjem antiseptičkih otopina. Shah i sur. ističu kako probiotici mogu biti dodatna terapija ili čak zamjena za antibiotike pri terapiji agresivnog parodontitisa. Unatoč tome što literatura pokazuje ohrabrujuće rezultate, potrebno je još mnogo istraživanja kako bi se rasvijetlio potencijal probiotika u prevenciji i liječenju parodontnih bolesti. Još uvijek kombinacija mehaničke terapije, struganje i poliranje korjenova (SRP), i probiotika, nije uvedena kao protokol za parodontološke pacijente (3, 25-28).

Zahvaljujući dokumentiranim pozitivnim učincima na ljudsko zdravlje, *Lactobacillus reuteri* prepoznata je kao bakterija koja zadovoljava sve kriterije koji se postavljaju pred probiotike. Prirodno je prisutna u crijevima zdravih sisavaca i ptica. Za razliku od ostalih bakterija kojima je prirodno stanište izvan ljudskog tijela, prilagođena je kolonizaciji usne šupljine i probavnog trakta još od novorođenačkog doba (2,23).

Lactobacillus reuteri Prodentis je patentirana kombinacija dva komplementarna soja *L. reuteri* izvorno izoliranih iz ljudskog mlijeka i sline. *L. reuteri* ATCC 55730 i

L. reuteri ATCC PTA 5289 izabrani su zbog svoje sposobnosti koloniziranja usne šupljine, fiksacije na mucine i biofilm, i protuupalnih učinaka. Djeluju na oralnu mikrofloru natječući se za vezna mjesta i nutrijente s patogenima. *L. reuteri* ATCC PTA 5289 smanjuje upalu blokirajući faktor nekroze tumora α (TNF-α). *L. reuteri* ATCC 55730 snažan je proizvođač reuterina, prirodne antibakterijske tvari koja u drugim bakterijama dovodi do oksidacijskog stresa. Pretpostavlja se da je upravo reuterin odgovaran za snažne inhibitorne učinke na rast parodontnih bakterija (Tablica 3.) (2,23).

Tablica 3. Inhibicija parodontnih patogena pomoću *L. reuteri* disk difuzijskom metodom. Preuzeto: (2).

	Inhibicijska zona (mm)	
Patogen	*L. reuteri* ATCC 55730	*L.reuteri* ATCC PTA 5289
Porphyromonas gingivalis	71	91
Fusobacterium nucleatum	39	57
Prevotella intermedia	94	102
Aggregatibacter actinomycetemcomitans	50	56

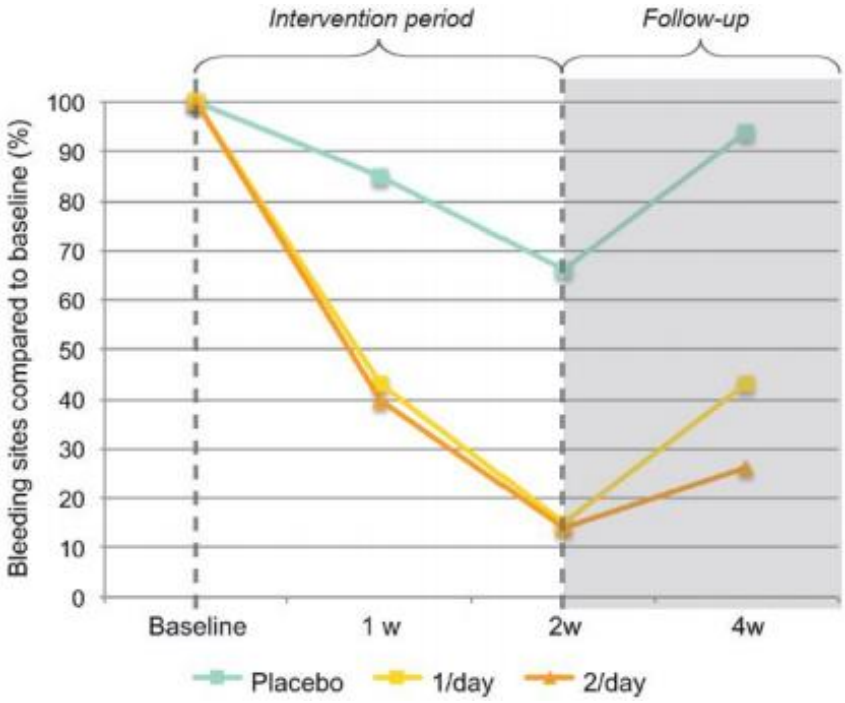
Teughels i suradnici istraživali su djelovanje *Lactobacillus reuteri* Prodentis na 30 pacijenata s kroničnim parodontitisom. Nakon što je svim ispitanicima napravljena dezinfekcija usta te SRP, slučajnim odabirom podijeljeni su u dvije skupine. Kliničko praćenje započelo je pri prvoj posjeti, te zatim i u trećem, šestom i dvanaestom tjednu terapije, a osim kliničke evaluacije, uzimani su i mikrobiološki uzorci. Prva se skupina sastojala od ispitanika koji su dobivali pastile s *Lactobacillus reuteri* Prodentis, dva puta na dan, kroz 12 tjedana, dok je druga skupina dobivala placebo. Rezultati su pokazali da su nakon 12 tjedana klinički parametri bili poboljšani kod obje skupine, ali značajno veća redukcija PPD i dobitak pričvrstka, zamijećena je kod skupine koja je dobivala *L. reuteri* Prodentis. Kod njih je 53 % manje dubokih džepova bilo

indicirano za kiruršku terapiju (indikacije su bile džepovi veći od 5 mm i BOP). Veća redukcija *Pg* u subgingivnim, supragingivnim i uzorcima sline, zabilježena je kod skupine koja je uzimala *L. reuteri*. Zaključak je istraživanja bio kako bi pastile *L. reuteri* Prodentis mogle biti koristan dodatak pri liječenju kroničnog parodontitisa struganjem i poliranjem korijenova (28,29).

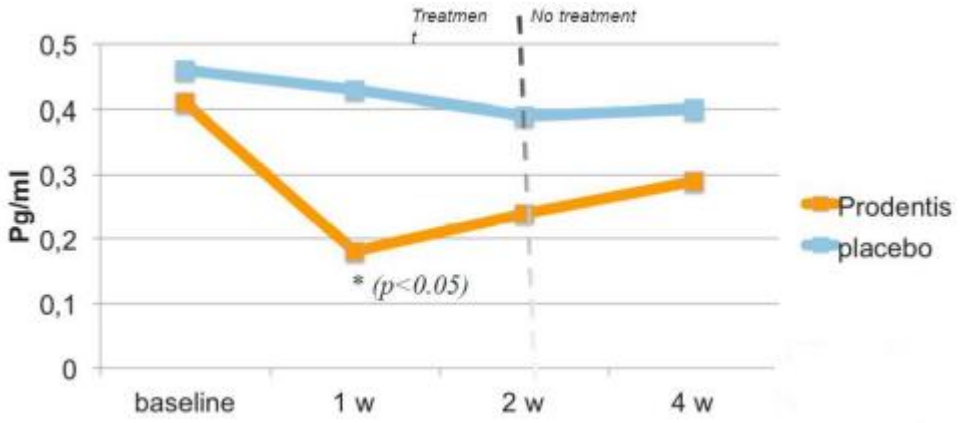
Vicario i suradnici ispitivali su djelovanje *Lactobacillus reuteri* Prodentis pastila na sistemski zdrave ispitanike, nepušače, s blagim i srednje teškim kroničnim parodontitisom. Ispitanici su u ovoj, dvostruko slijepoj, randomiziranoj kliničkoj studiji, podijeljeni u skupinu koja će uzimati jednu pastilu *L. reuteri* Prodentis na dan tijekom 30 dana i na skupinu koja će uzimati placebo. Klinički parametri uzimani su na početku i 30 dana nakon početka terapije. Testna je skupina nakon 30 dana pokazala statistički značajno smanjenje svih parodontnih parametara praćenih u ovoj studiji (plak indeks (PI), BOP i mjerenje PPD). Kontrolna skupina tretirana s placebom nije pokazala statistički značajne promjene parodontnih parametara (30).

Twetman i suradnici ispitivali su učinak kratkotrajnog uzimanja probiotika na upalu gingive i vrijednosti određenih proupalnih i protuupalnih citokina u gingivnoj sulkusnoj tekućini. Ispitanici su podijeljeni u tri skupine. Prva je uzimala *L. reuteri* Prodentis dva puta dnevno u obliku žvakaćih guma, druga *L. reuteri* i placebo te treću koja je uzimala placebo dva puta na dan. Nakon dva tjedna, u obje skupine tretirane aktivnim žvakaćim gumama, klinički parametri i upalni medijatori značajno su se poboljšali. Broj krvarećih mjesta smanjio se za 85 %, a volumen gingivne sulkusne tekućine za 43 % (Slika 10.). Tjedan dana nakon početka tretmana probioticima, razina

TNF-α i IL-8 se značajno smanjila, dok se dva tjedna nakon prestanka tretmana, vratila na razinu sličnu početnim mjerenjima (Slika 11.) (31).



Slika 10. Usporedba parametra krvarenja pri sondiranju u različitim vremenskim intervalima. Preuzeto: (31).



Slika 11. Usporedba razine proupalnog citokina TNF-α u različitim vremenskim intervalima. Preuzeto: (31).

Hedberg i suradnici istraživali su in vitro utjecaj *L. reuteri* na rast parodontnih patogena (*Fusobacterium nucleatum, Pg, Pi, Aa*). Studija bazirana na disk difuzijskoj metodi pokazala je kako *L. reuteri* snažno zaustavlja ili usporava rast spomenutih patogena, što je pripisano proizvodnji reuterina. Inhibicijska aktivnost *L. reuteri* ATCC PTA 5289 bila je viša od *L. reuteri* ATCC 55730 (32).

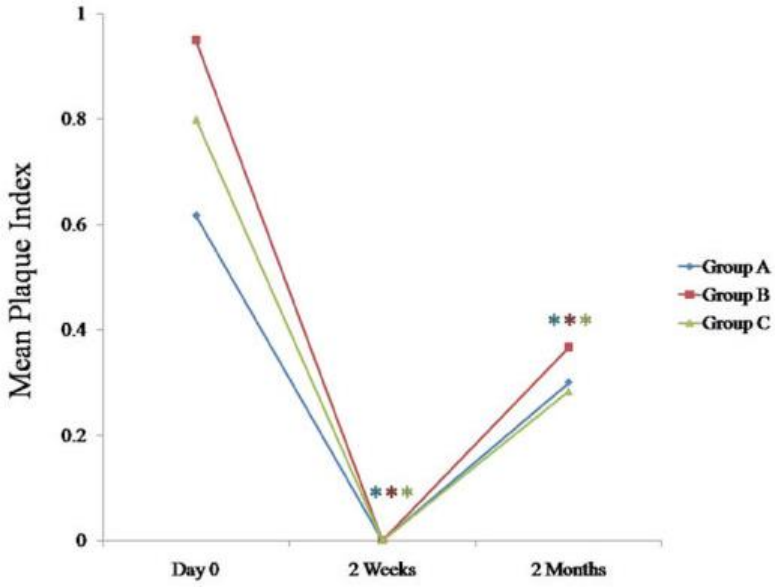
Krasse i suradnici istraživali su utjecaj *L. reuteri* na gingivitis, plak i populaciju laktobacila u slini. U randomiziranoj, dvostruko slijepoj studiji, ispitanici su podijeljeni u tri skupine (dvije skupine uzimaju dvije različite formulacije *L. reuteri* – LR1 i LR2, a treća placebo). Na početku (dan 0) su izmjereni PI i gingivni indeks (GI), uzet je uzorak sline te su pacijentima propisane medikacije. Nakon 14 dana i evaluacije kliničkih i mikrobioloških parametara, GI se smanjio u sve tri skupine. LR1 je doveo do većih poboljšanja u odnosu na placebo. PI se značajno smanjio u probiotičkim skupinama. Usna šupljina 65 % pacijenata u LR1 skupini bila je kolonizirana s *L. reuteri*, u odnosu na 95 % u LR2 skupini (25).

Vivekananda i suradnici ispitivali su utjecaj *L. reuteri* Prodentis i kombinacije *L. reuteri* Prodentis s mehaničkom terapijom (SRP) na 30 pacijenata s kroničnim parodontitisom tijekom 42 dana. Na dan 0, napravljeno je SRP u dva kvadranta, dok su ostali kvadranti ostali netretirani (engl. split mouth). Dane su upute o oralnoj higijeni i propisane su *L. reuteri* Prodentis ili placebo pastile od 21. do 42. dana. Uspoređivani su klinički (PI, GI, BOP, PPD, CAL) i mikrobiološki parametri (*Aa, Pg, Pi*). Procjena je napravljena na dan 0, 21 i 42. Svi parodontni parametri u svim skupinama 42. dan su bili smanjeni i to ovim redoslijedom, SRP+Prodentis > Prodentis > SRP+placebo > placebo. Sve su razlike bile statistički značajne. Najbolje rezultate u

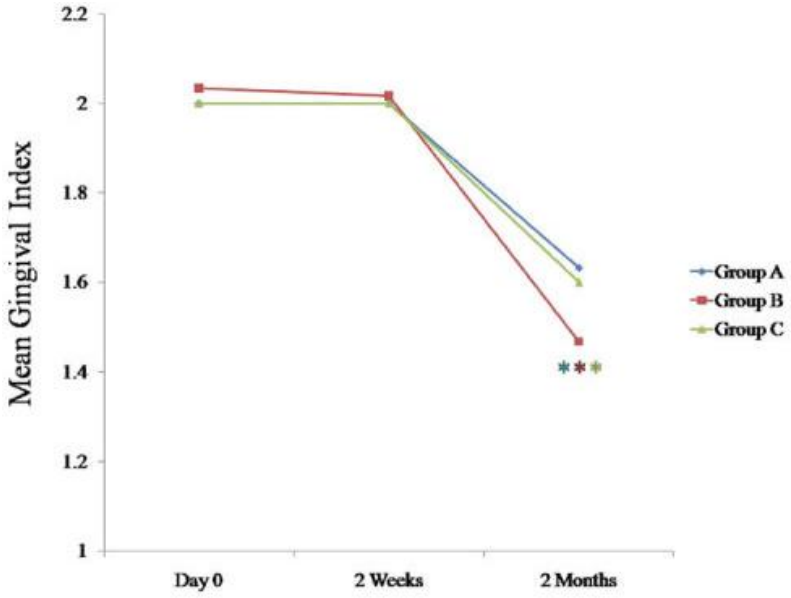
smanjivanju PPD i CAL, postigla je kombinacija SRP+Prodentis. PPD se smanjio za 1.3 mm (25.6 %), a CAL 1.1 mm (27.5 %). Prodentis, sam ili u kombinaciji, značajno je smanjio broj *Aa, Pg i Pi*. SRP+placebo kombinacija nije značajno djelovala na razine patogena. Ova randomizirana, dvostruko slijepa studija, potvrdila je protuupalni i antimikrobni efekt *L. reuteri* Prodentis. Djeluje sinergijski sa standardnim liječenjem (SRP) i može se preporučiti tijekom faze održavanja. Istraživači zaključuju kako bi terapija probioticima mogla biti dodatak ili alternativa standardnom liječenju kada je SRP kontraindicirano. Zaključuju i kako su potrebne dodatne studije (27).

Shah i suradnici u svojoj su studiji pokušali procijeniti učinke samih probiotika (*Lactobacillus brevis*), kombinacije probiotika s doksiciklinom i samog doksiciklina, na pacijente s agresivnim parodontitisom. Blok randomizacijom, 30 pacijenata je podijeljeno u spomenute tri grupe (A – probiotik, B – probiotik + doksiciklin, C – doksiciklin). Klinički i mikrobiološki parametri zabilježeni su na dan 0, dva tjedna kasnije, i dva mjeseca nakon početka terapije. Klinički parametri koji su praćeni su PI, GI, PPD i CAL. Mikrobiološki parametri su broj laktobacila i *Aa*. Na dan 0, prikupljeno je 0.5 ml nestimulirane sline za procjenu mikrobioloških parametara, a zatim je napravljeno SRP. Nakon dva tjedna ponovno su uzeti uzorci sline i procijenjeni su klinički parametri. Isti dan, pacijentima su propisane medikacije ovisno o grupi kojoj pripadaju, kroz 14 dana. Probiotici su bili propisani dva puta na dan u obliku pastila, a doksiciklin oralno u obliku tablete jedanput na dan. Nakon dva mjeseca ponovno je uzet uzorak sline i procijenjeni su klinički parametri. Rezultati su bili sljedeći. Na dan 0, nije pronađena statistički značajna razlika između kliničkih i mikrobioloških parametara u sve tri grupe. Usporedbom s podacima nakon dva

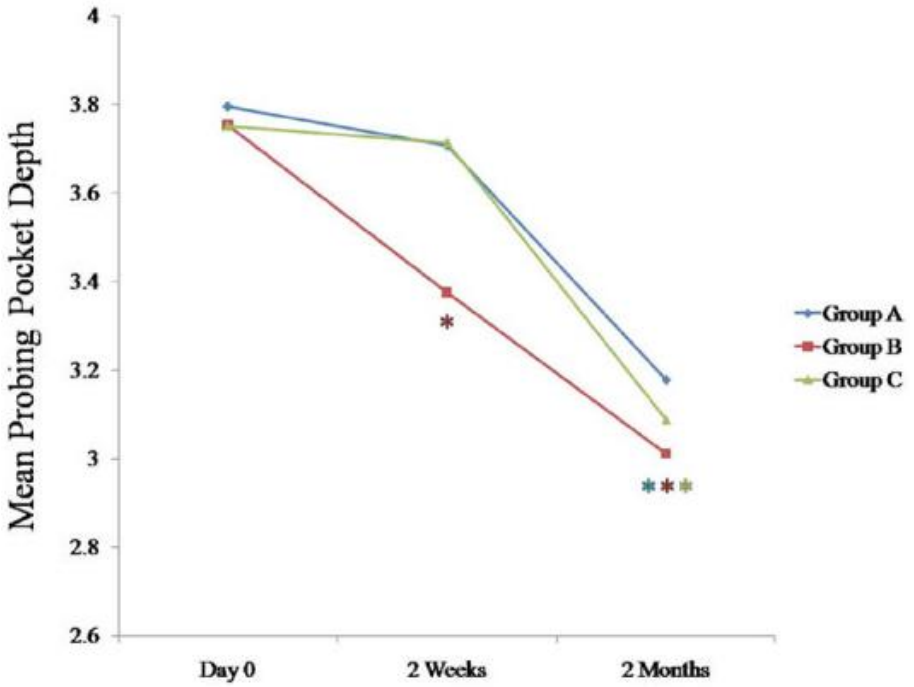
mjeseca, pronađeno je značajno smanjenje parodontnih parametara u sve tri grupe (Slike 12.,13.,14.,15.) (33).



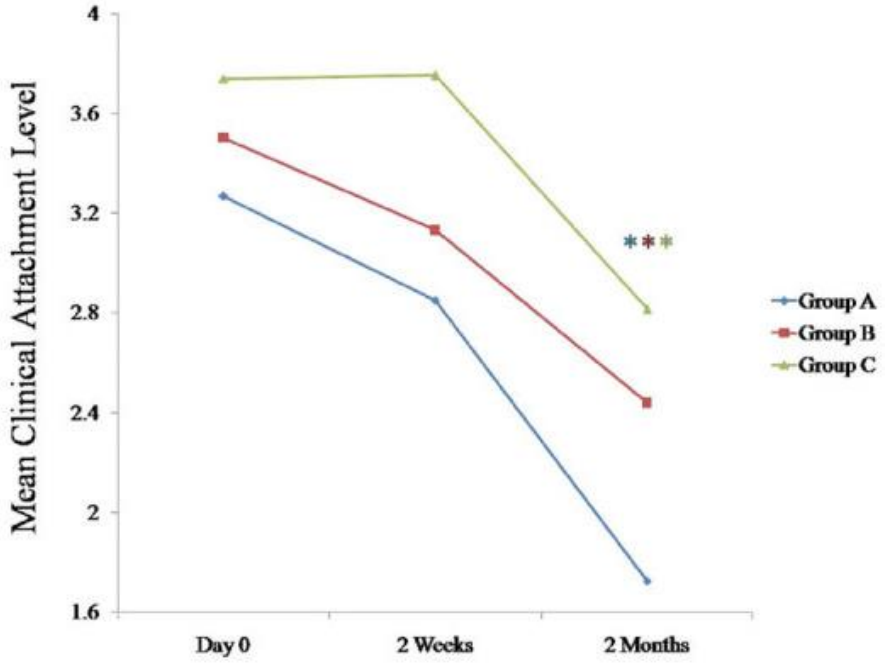
Slika 12. Usporedba plak indeksa u različitim vremenskim intervalima između sve tri grupe. Preuzeto: (33).



Slika 13. Usporedba gingivnog indeksa u različitim vremenskim intervalima između sve tri grupe. Preuzeto: (33).



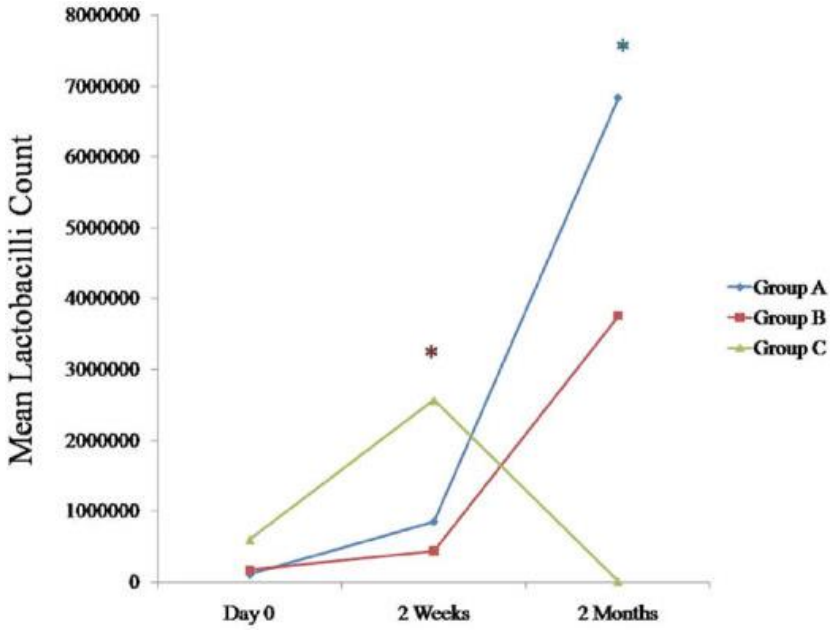
Slika 14. Usporedba dubine džepova u različitim vremenskim intervalima između sve tri grupe. Preuzeto iz (33).



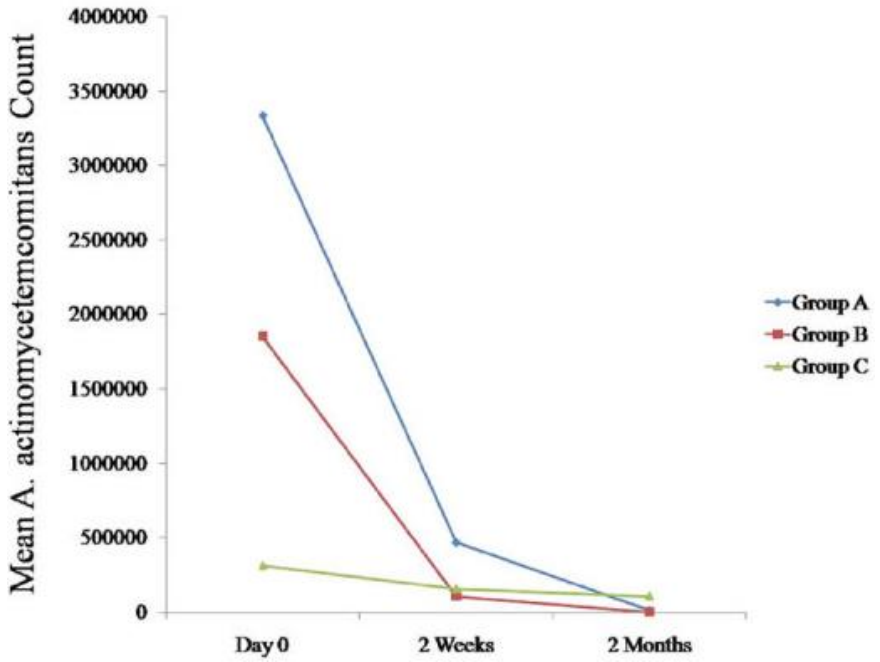
Slika 15. Usporedba gubitka razine kliničkog pričvrstka u različitim vremenskim intervalima između sve tri grupe. Preuzeto: (33).

Što se tiče mikrobioloških parametara, broj laktobacila je u grupama A i B porastao, a u grupi C se smanjio, u odnosu na dan 0. statistički značajni rezultati bili su za grupu A (Slika 16.). Broj *Aa* smanjio se u sve tri grupe nakon dva mjeseca, ali ne statistički značajno (Slika 17.) (33).

Studija je pokazala kako su svi upalni parametri parodontne bolesti drastično smanjeni kod pacijenata liječenih s *L. brevis*. Protuupalni učinci ovog probiotika pripisuju se arginin deiminazi koja prevenira stvaranje dušikovog oksida. Osim toga, proizvodi i razne antimikrobne supstance poput organskih kiselina, vodikovog peroksida, bakteriocina i inhibitora adhezije. S obzirom da se uspješno smanjio broj *Aa*, poput doksiciklina, a ne djeluje negativno na korisnu mikrofloru i ne stvara rezistenciju, istraživači zaključuju kako bi probiotici mogli biti potencijalna alternativa antibioticima u liječenju agresivnog parodontitisa (33).



Slika 16. Usporedba broja laktobacila u različitim vremenskim intervalima između sve tri grupe. Preuzeto: (33).



Slika 17. Usporedba broja *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* u različitim vremenskim intervalima između sve tri grupe. Preuzeto: (33).

Napravljena su još brojna istraživanja koja povezuju probiotike i parodontne bolesti. Tako Al-Zahrani u svojoj studiji primjećuje obrnuto proporcionalni odnos između unosa fermentiranih mliječnih proizvoda i pojave parodontnih bolesti. Shimauchi zaključuje kako *L. salivarius* WB21 može djelovati na smanjenje parodontnih parametara i ekspresiju salivarnih upalnih medijatora. Subgingivnom aplikacijom *Streptococcus sanguinis, Streptococcus salivarius* i *Streptococcus mitis* nakon struganja i poliranja korjenova, Teughels je značajno smanjio rekolonizaciju parodontnih patogena u pasa vrste beagle (6).

Koll-Klais i njegov tim pronašli su povećanu prevalenciju *L. gasseri* i *L. fermentum* u ustima zdravih pojedinaca u odnosu na one s kroničnim parodontitisom. Sojevi *L. gasseri* izolirani iz usta parodontno zdravih ispitanika, bili su učinkovitiji u suzbijanju

rasta *Aa*. Narva i suradnici otkrili su kako tijekom fermentacijskog procesa *L. helveticus* proizvodi kratke peptide koji *in vitro* djeluju na osteoblaste, povećavajući njihovu aktivnost i izgradnju kosti. Ovi bioaktivni peptidi mogli bi pomoći u smanjenju resorpcije kosti povezane s parodontitisom (7,24).

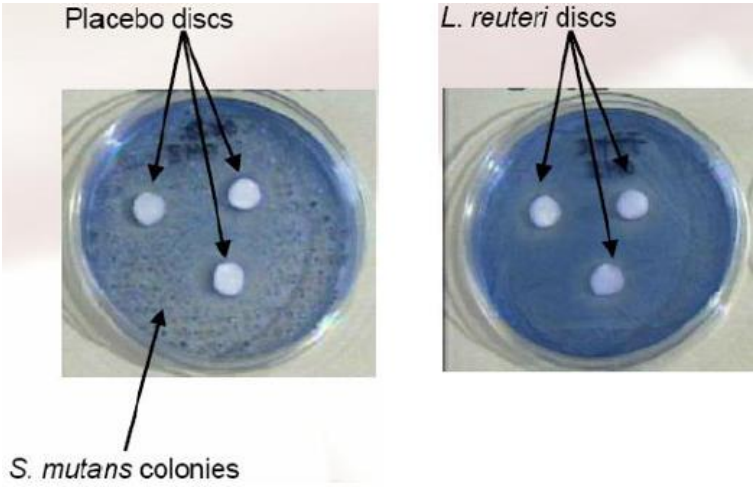
Riccia i suradnici promatrali su utjecaj *L. brevis* na skupini pacijenata s kroničnim parodontitisom. Korištenje pastila kroz četiri dana dovelo je do smanjenja PPD i CAL te prostaglandina (PG) E2 i MMP u slini. To je pripisano sposobnosti *L. brevis* da prevenira stvaranje dušikovog oksida koji inducira nastanak PGE_2 i aktivira MMP. Staab je primijetio smanjenje MMP-3 i elastaza nakon konzumacije mlijeka s *L. casei* tijekom 8 tjedana. Van Essche je zabilježio djelovanje *B. Bacteriovarus* protiv *Aa* (19,26).

Volozhin navodi kako *L.casei* 37 može odgoditi stadij remisije za 10-12 mjeseci, a to pripisuje inhibitornom efektu na rast patogena. Shimazaki u svojoj epidemiološkoj studiji u kojoj je obuhvatio nepušače, primijetio je kako su redovni konzumenti jogurta i napitaka s mliječnom kiselinom imali manje parodontne parametre. Sličan efekt nije zabilježen za sir i mlijeko (19,26).

Pregled literature pokazuje kako je oralna primjena probiotika povezana s poboljšanjem parodontnog zdravlja. Istraživači se slažu kako su potrebne dodatne studije o dugoročnim učincima probiotika. Unatoč ohrabrujućim podacima, studije su kratke i u nekima su promatrane razlike male, ali statistički značajne. Također, način njihove primjene, doza i sigurnost, nisu još posve jasni. Iako je potrebno još mnogo istraživanja da se otkrije njihov potencijal, nema sumnje da bi u budućnosti mogli imati važnu ulogu u liječenju parodontnih bolesti (19,26).

4.1. PRIMJENA PROBIOTIKA U OSTALIM GRANAMA STOMATOLOGIJE

Streptococcus mutans najznačajniji je mikroorganizam za razvitak karijesa zbog njegovog brzog metabolizma sukroze, fruktoze i glukoze, čime uzrokuje niski pH i mijenja mikrobnu homeostazu prema flori koja uzorukuje karijes. Povećani broj *S. mutans* povezan je s višim rizikom za karijes i njegovom bržom progresijom. S obzirom na esencijalnu ulogu *S. mutans* na razvitak karijesa, uloženi su napori kako bi se utjecalo na njenu prevalenciju i kariogene sposobnosti u usnoj šupljini. Nekoliko kliničkih studija istražilo je primjenu probiotika, nakon što je *in vitro* pokazano kako probiotici suzbijaju rast *S. mutans* i ostalih oralnih streptokoka s kariogenim potencijalom (Slika 18.). Mnogi su pokazali sposobnost modifikacije dentalne pelikule, vežući se i degradirajući proteine važne za bakterijsku adheziju. Pokazali su se uspješnima i protiv *Streptococcus sobrinus, Streptococcus oralis, Actinomyces neslundii* i *Veillonella dispar* (12,35).



Slika 18. *In vitro*, disk difuzijskom metodom, *L reuteri* inhibira rast *S. mutans*

Preuzeto: (34).

Prva randomizirana, dvostruko slijepa studija, pokazala je kako su djeca starosti 1-6 godina, konzumirajući mlijeko s *L. rhamnosus* kroz 7 mjeseci, značajno smanjila rizik od dentalnog karijesa. Slični rezultati postignuti su i sa sirom te jogurtom s bifidobakterijama. Nikawa je pokazao kako je jogurt s *L. reuteri* smanjio broj *S. mutans* za 80 %. Sladoled bi mogao biti primamljiv način primjene probiotika. *B. lactis* u sladoledu kroz 10 dana, značajno je smanjila razine *S. mutans. L. salivarius* i *L. fermentum* pokazali su antagonističku aktivnost protiv *S. mutans*, dok je *L. salivarius* mogao preživjeti i u kiselim uvjetima s velikim brojem *S. mutans.* Kako bi pokazao ulogu i drugih načina uzimanja probiotika, osim putem fermentiranih mliječnih proizvoda, Caglar i suradnici pokazali su kako pastile *L. reuteri* Prodentis primjenjene jedanput na dan kroz 10 dana, značajno smanjuju *S. mutans*. U drugom istraživanju, pokazali su kako žvakaće gume sa ksilitolom, pokazuju sličan učinak žvakaćim gumama s *L. reuteri* Prodentis. Njihov kumulativni efekt nije se dokazao. Pozitivna korelacija između konzumacije probiotika i smanjenja karijesnih patogena, može biti korisna kod specifičnih rizičnih grupa. Tako *B. animalis* smanjuje rizik od karijesa kod ortodontskih pacijenata (12,35-37).

Suprotno spomenutim istraživanjima, Montalto u svojoj studiji gdje je primijenio 7 različitih sojeva laktobacila, nije primijetio utjecaj na broj *S. mutans*. To bi se moglo pripisati većem broju sojeva koji bi mogli imati drugačije učinke od monokulture (12).

Istraživanja su krenula i u smjeru zamjenskih terapija. Jedan pristup nastoji smanjiti patogene osobine soja koji prirodno nastanjuje usnu šupljinu kako bi zamijenio originalni patogen. Druga je opcija unaprijediti osobine potencijalno korisnih sojeva. Genetički modificirana *S. mutans* BCS3-L1 nema gen za laktat dehidrogenazu pa ne

može proizvoditi mliječnu kiselinu. Dizajnirana je da proizvodi veće količine antibiotskog peptida mutacina kako bi imala selektivnu prednost pred ostalim sojevima *S. mutans*. Za sada je prerano govoriti o uspjesima ove metode. Pokušalo se i s *L. paracasei* kojemu su dodana antitijela pomoću kojih se veže na površinu *Pg* (19,20).

Halitoza ili loš zadah pogađa jednu od četiri odrasle osobe, a u 90 % slučajeva uzrok joj je u usnoj šupljini. Najčešće se radi o gram negativnim anaerobima parodontnim džepovima ili dorzumu jezika koji aminokiseline nastale degradacijom proteina, transformiraju u hlapljive sumporne spojeve. Studija Kanga i suradnika pokazala je kako razni sojevi *Weissella cibaria* imaju mogućnost smanjenja proizvodnje sumpornih spojeva *Fusobacterium nucleatum*. *S. salivarius* je pronađen uglavnom kod ljudi bez halitoze i smatra se komenzalnom bakterijom usne šupljine. Može smanjiti proizvodnju sumpornih spojeva za 85 %, što se pripisuje proizvodnji salivaricina i kompetencijom za vezne površine (7,12,19,24,36).

Candida albicans redovni je stanovnik usne šupljine i najčešći uzročnik oralnih gljivičnih infekcija. Češće pogađaju stariju populaciju i imunokompromitirane osobe. Probiotici mogu ublažiti simptome poput hiposalivacije i reducirati patogeni potencijal kandide. Studija u trajanju od 16 tjedana pokazala je kako je konzumacija sira s *L. rhamnosus* GG i *Propionibacterium freudenfreichii*, kod starijih osoba, smanjila broj gljiva za 75 %. Koll u svojoj studiji s različitim sojevima laktobacila, nije primijetio inhibicijski učinak probiotika na rast *Candide albicans* (12,20,35).

5.0. RASPRAVA

Gingivitis, kao reverzibilna upala praćena edemom i crvenilom, može prijeći u parodontitis. Parodontitis se smatra multifaktorskom bolešću s bakterijama kao primarnim etiološkim faktorom (3). Zbog rastuće globalne zabrinutosti o rezistenciji na antibiotike i poremećaju komenzalne flore, nastojalo se pronaći alternativna rješenja. Tako je ponovno aktualizirana Metchnikoffova ideja o korisnim bakterijama koje mogu smanjiti broj onih „loših“ i produljiti život (5). Probiotici su živući mikroorganizmi koji pripadaju normalnoj flori, s niskom ili nikakvom patogenosti te pozitivnim utjecajem na zdravlje pojedinca. Probiotička terapija koristi bakterijske interference i imunomodulacije u kontroli infekcija i upala. Široka uporaba probiotika u kliničkoj praksi i nije tako daleko. Ključni korak bit će potvrda njihove sigurnosti i pronalazak najadekvatnijih načina primjene. Potrebni su napori za napretkom znanja o probioticima i njihovim mehanizmima djelovanja, kao i pronaći razloge zašto nisu djelotvorni u nekim situacijama. Još uvijek je nedovoljno podataka o tome mogu li modulirati imuni odgovor u usnoj šupljini, kao što je to u crijevnoj sluznici (6).

Probiotici su još uvijek češće dio prehrambenih proizvoda nego farmaceutskih formulacija. Sa stajališta sigurnosti, probiotički mikroorganizmi ne smiju biti patogeni, ne smiju poticati rast dijarejalnih bakterija i ne smiju imati sposobnost prenošenja gena odgovornih za rezistenciju na antibiotike. Jedan od glavnih kriterija za probiotike adherencija je na crijevnu sluznicu, a upravo ona može povećati bakterijsku translokaciju i virulenciju. Najveća zabrinutost vezana je uz mogućnost razvitka sepse. *Lactobacillus* bakterijemija rijedak je entitet, uglavnom zabilježen u

izoliranim slučajevima. Kliničke su karakteristike varijabilne, od asimptomatskih do septičkog šoka. Svaki živući organizam može uzrokovati bakterijemiju, pogotovo u imunokompromitiranih. U Finskoj je jedna osoba konzumirajući *L. rhamnosus* u probiotičkom preparatu, razvila *Lactobacillus* endokarditis nakon dentalnog tretmana. Zabilježen je i slučaj apscesa na jetri uzrokovan probiotikom. Sva stanja (apsces na jetri, endokarditis i bakterijemija) dobro su reagirala na antibiotike. Nedavno je Boyle definirao rizike za probiotičku sepsu (Tablica 4). Savjetuje oprez kod pacijenata s jednim većim, i dva ili više manjih rizika. Literatura podržava stajalište kako bojazan od *Lactobacillus* bakterijemije još nema svoje osnove i registrirana je kod specifične skupine pacijenata. Evidentno je ipak kako je potreban oprez (2,6,26,36).

Tablica 4. Rizici za bakterijemiju povezanu s probioticima. Prilagođeno prema: (26).

VELIKI RIZICI	MALI RIZICI
Imunokompromitirani pacijenti	Pacijenti sa centralnim venskim kateterom
Nezrelost u dojenčadi	Oštećenje crijevne epitelne barijere
	Bolest srčanih zalistaka
	Upotreba antibiotika širokog spektra na koje su probiotici rezistentni
	Primjena kroz jejunostomu

Neki su sojevi u upotrebi godinama i imaju dobro dokumentiranu sigurnost. Njihovu primjenu u novorođenčadi (starosti 3 – 65 dana), istraživali su Weizman i suradnici. Zaključili su kako su *Bifidobacterium lactis* i *L. reuteri* Protectis dobro tolerirani kroz 4 tjedna u ovoj ranoj dobi, bez nuspojava. Isto je zaključio Conolly

proučavajući utjecaj *L. reuteri* Protectis u prvih 12 mjeseci života, a tome u prilog ide i istraživanje koje je pronašlo *L. reuteri* u mlijeku jedne od sedam majki u različitim geografskim područjima. Drugi istraživači potvrdili su sigurnost kod djece u dobi od 12 do 36 mjeseci, a isto je potvrđeno i kod zdravih odraslih muških ispitanika. Wolf i suradnici zaključili su kako se *L. reuteri* Protectis u promatranoj dozi pokazao siguran i bez nuspojava kod odraslih zaraženim HIV-om (2,6,26,36).

Još jedan problem vrijeme je tijekom kojega se probiotici zadržavaju u usnoj šupljini nakon terapije. Gubitak kolonizacije *L. reuteri* ustanovio je Wolf u svojoj studiji dva mjeseca nakon prestanka terapije. I drugi istraživači su zaključili kako trajna kolonizacija usne šupljine probioticima nije izvjesna i kako bi se trebali uzimati redovito. Kombinacija 17 sojeva laktobacila i 7 sojeva bifidobakterija, pokazala je kako ovakve varijacije povećavaju vrijeme njihovog zadržavanja. Studije pokazuju kako je veoma teško utjecati na kompoziciju već uspostavljene mikroflore. Stabilna i trajna kolonizacija laktobacilima primijećena je jedino kod 10-godišnjeg pacijenta koji je primao *Lactobacillus rhamnosus GG* probiotičku terapiju. Čini se kako je mikroflora djece manje stabilna i podložnija promjenama u odnosu na mikrobne zajednice odraslih. Možda će se u dječjoj dobi moći postići trajniji utjecaj na rezidualnu mikrobnu populaciju (7, 35).

Važno je naglasiti kako bi svaki soj iste vrste trebalo individualno istražiti. Različiti sojevi iste vrste posjeduju različite karakteristike, zato je nužna njihova rigorozna selekcija. Moguće je kako ista vrsta nije optimalna za sva oralna stanja, pa bi se bakterioterapija trebala provoditi ovisno o dentalnom ili gingivnom zdravlju. Tako na primjer, neki sojevi laktobacila mogu djelovati poticajno na razvitak karijesa. Postoje

studije koje pokazuju kako bi *L. salivarius* W24 svojim metabolizmom sukroze i smanjujući pH, mogao djelovati kariogeno. S druge strane, *L. rhamnosus*, *L. paracasei* i *L. reuteri* pokazali su se sigurnima. *In vitro* rezultati ipak ne omogućuju donošenje konkretnih zaključaka i preporuka. Općenito se može reći, kako bi učinak laktobacila mogao biti poželjan u slučaju pažljivo odabranih probiotičkih kandidata (12,19,36).

Nadalje, doza probiotika u određenoj indikaciji mora biti definirana. Isto tako, potrebno je otkriti najadekvatnije oblike oralne primjene. Kod parodontnih bolesti, općenito je bolji način putem pastila i žvakaćih guma koje prolongiraju kontakt s oralnim tkivom, za razliku od unosa putem hrane i pića (12,26).

Nekoliko pozitivnih učinaka probiotika dobro je dokumentirano i nema razloga za restrikciju njihove uporabe. Za sada je vjerojatnije da su naši saveznici u borbi protiv upala i infekcija, nego neprijatelji. Unatoč rastućem znanju o njihovim pozitivnim učincima, daljnjim je istraživanjima potrebno rasvijetliti njihovu ulogu i način primjene (6,19).

6.0. ZAKLJUČAK

Unatoč različitim statistikama, može se uzeti kako više od 50 % populacije pati od bolesti parodonta koje imaju svoju, primarno, bakterijsku etiologiju. Zato se, osim mehaničkim postupcima, bolesti pokušalo doskočiti i antibakterijskim sredstvima. Probiotici su definirani kao živi mikroorganizmi koji konzumirani u dovoljnoj mjeri imaju korisno djelovanje na ljudsko zdravlje. Potencijalni mehanizmi djelovanja u usnoj šupljini uključuju kompetenciju s patogenima, proizvodnju antimikrobnih tvari i poboljšanje imunog odgovora domaćina. Svi probiotici moraju zadovoljiti stroge uvjete koji se tiču njihove sigurnosti, stabilnosti u proizvodima i dokazanog djelovanja. Pri tome vrijedi spomenuti i prebiotike, neprobavljive ugljikohidrate koji služe kao hrana odabranim „dobrim“ bakterijama.

Za sada se u usnoj šupljini istražuje njihov utjecaj na halitozu, gljivične infekcije, karijes i parodontne bolesti. Jedna je od istraženijih bakterija *Lactobacillus reuteri*. U patentiranoj kombinaciji dva soja pokazala je mogućnost smanjenja parodontnih parametara, antibakterijsko djelovanje protiv glavnih parodontopatogena te imunomodulacijsko djelovanje. *Lactobacillus brevis* se pokazao dobrom alternativom uzimanju antibiotika. Još mnogo bakterija pokazuje potencijal da postanu ozbiljni probiotički kandidati.

Trajna kolonizacija usne šupljine probioticima (osim kod djece) još nije postignuta, potrebno je i odrediti najadekvatnije oblike primjene, doze za određene indikacije te ispitati sigurnost, moguće rizike i načine djelovanja potencijalnih probiotika. Za sada

ih na tržištu možemo naći (osim u prehrambenim namirnicama) u obliku pasti za zube, antiseptičkih otopina za ispiranje, pastila i žvakaćih guma.

Na kraju, sve je više dokaza koji upućuju na to da bi probiotici mogli biti naši bitni saveznici u borbi protiv parodontnih bolesti. Potrebno je još mnogo ispitivanja kako bi ušli u široku upotrebu i postali dio redovnih terapijskih postupaka.

7.0. SAŽETAK

Probiotici su živi mikroorganizmi koji konzumirani u dovoljnoj mjeri djeluju korisno na ljudsko zdravlje. Zbog svog antibakterijskog i imunomodulacijskog djelovanja, našli su primjenu i u terapiji oralnih bolesti. To se odnosi i na parodontne bolesti zbog njihove primarno bakterijske etiologije. Unatoč rigoroznim kriterijima koji se pred njih postavljaju, danas se otkriva sve više bakterija s pozitivnim djelovanjem na parodontno zdravlje. Jedna je od istaknutijih *Lactobacillus reuteri,* koja je u patentiranoj kombinaciji dva soja pokazala izvrsno antibakterijsko i imunomodulacijsko djelovanje, s posljedicom poboljšanja parodontnih parametara. *Lactobacillus brevis* je pokazala kako može parirati antibioticima u antibakterijskom djelovanju. Prepreke njihovoj široj primjeni za sada još čine nemogućnost trajne kolonizacije usne šupljine, nedefinirane doze i pitanje sigurnosti. Ipak, pregled literature daje ohrabrujuće podatke i pokazuje kako bi mogli biti naši bitni saveznici u terapiji parodontnih bolesti.

8.0. SUMMARY

USE OF ORAL PROBIOTICS IN PERIODONTOLOGY

Probiotics are living microorganisms which, when consumed in sufficient doses are beneficial to human health. Due to their antibacterial and immunomodulatory effects, they play an important role in the therapy of oral diseases. This also applies to periodontal diseases because of their primary bacterial etiology. Despite the rigorous criteria that have been placed, today more and more bacteria with positive effects on periodontal health are being revealed. One of the most notable is *Lactobacillus reuteri,* which in a patented combination of two strains, showed excellent antibacterial and immunomodulatory activity, which consequently improved periodontal parameters. *Lactobacillus brevis* showed that it can compete with antibiotics in antibacterial activity. Obstacles to their wider application are still the impossibility of permanent colonization of the oral cavity, undefined doses and safety issues. However, the literature provides encouraging data and shows that they could be our important allies in the treatment of periodontal diseases.

9.0. LITERATURA

1. Albandar MA, Rams TE. Global epidemiology of periodontal diseases: an overview. Periodontol 2000. 2002;29:7-10.
2. Bio Gaia ProDentis lozenges. [Internet]. Stockholm: BioGaia AB; 2014 [cited 2014 Dec 8]. Available from: http://http://www.biogaia.com.
3. Wolff HF, Rateitschak-Plüss EM, Raiteitschak KH. Parodontologija. 3. izdanje, Jastrebarsko: Naklada Slap; 2009.
4. Socransky SS, Haffajee AD. The bacterial etiology of destructive periodontal disease: current concepts. J Periodontal. 1992;63(4 suppl):322-31.
5. Anukam K, Reid G. Probiotics: 100 years (1907-2007) after Elie Metchnikoff's Observation. In: Méndez-Vilas A, editor. Communicating Current Research and Educational Topics and Trends in Applied Microbiology. Paris: Pasteur Institute; 2007. p. 466-74.
6. Grover HS, Luthra S. Probiotics-the nano soldiers of oral health. JIACM. 2012;13(1):48-54.
7. Devine DA, Marsh PD. Prospects for the development of probiotics and prebiotics for oral applications. J Oral Microbiol. 2009;1:1-7.
8. Chatterjee A, Bhattacharya H, Kandwal A. Probiotics in periodontal health and disease. J Indian Soc Periodontal. 2011;15(1):23-8.
9. Meurman JH. Probiotics: do they have a role in oral medicine and dentistry? Eur J Oral Sci. 2005;113(3):188-96.
10. Zijnge V, van Leeuwen MBM, Degener JE, Abbas F, Thurnheer T, Gmür R et al. Oral biofilm architecture on natural teeth. PloS One. 2010;5(2): e9321.

11. Listagarten MA. The structure od dental plaque. Periodontol 2000. 1994;5:52-65.
12. Stamatova I, Meurmann JH. Probiotics: health benefits in the mouth. Am J Dent. 2009;22(6):329-31.
13. American Academy of Periodontology. Guidelines for periodontal therapy. J Periodontol. 2001;72(11):1624-8.
14. Gupta G. Probiotics and periodontal health. J Med Life. 2011;4(4):387-94.
15. Bhuvaneswarri J, Ramya V, Manisundar N, Preethi P. Probiotics and its implications in periodontal therapy – a review. JMDS. 2012;5(2):11-5.
16. European Probiotic Association [Internet]. Paris: European Probiotic Association; 2012 [cited 2014 Dec 9]. Available from: http://asso-epa.com/pioneers-of-probiotics/
17. Dash SK. Selection criteria for probiotics. [Internet]. Panjim: Kala Academy; 2009 [cited 2014 Dec 18]. Available from: http://newhope360.com.
18. Walker WA. Mechanisms of action of probiotics. Clin Infect Dis. 2008;46(Suppl 2):87-91.
19. Haukioja A. Probiotics and oral health. Eur J Dent. 2010;4(3):348-55.
20. Reddy JJ, Sampathkumar N, Aradhya S. Probiotics in dentistry: review of the current status. Rev Clin Pesq Odontol. 2010;6(3):261-7.
21. Homayouni A, Bastani P, Ziyadi S, Mohammad-Alizadeh-Charandabi S, Ghalibaf M, Mortazavian AM, et al. Effects of probiotics on the reccurence of bacterial vaginosis: a review. J Low Genit Tract Dis. 2014;18(1):79-86.
22. Falagas ME, Betsi GI, Athanasiou S. Probiotics for prevention of recurrent vulvovaginal candidiasis: a review. J Antimicrob Chemother. 2006;58(2):266-72.

23. Jose JE, Padmanabhan S, Chitharanjan AB. Systemic consumption of probiotic curd and use of probiotic toothpaste to reduce Streptococcus mutans in plaque around orthodontic brackets. Am J Orthod Dentofacial Orthop. 2013;144(1):67-72.
24. Bonifait L, Chandad F, Grenier D. Probiotics for oral health: myth or reality? JCDA. 2009;75(8):585-90.
25. Krasse P, Carlsson B, Dahl C, Paulsson A, Sinkiewicz G. Decreased gum bleeding and reduced gingivitis by the probiotic Lactobacillus reuteri. Swed dent J. 2006;30(2):55-60.
26. Lawande S. Probiotics for management of periodontal disease: a novel therapeutic strategy? IOSR J Pharm. 2012;2(4):41-6.
27. Vivekananda MR, Vandana KL, Bhat KG. Effect of the probiotic Lactobacillus reuteri (Prodentis) in the management of periodontal disease: a preliminary randomized clinical trial. J Oral Microbiol. 2010;2(2):5344.
28. Lešić N, Seifert D. Primjena Lactobacillus reuteri u liječenju gingivitisa. Vjesnik dentalne medicine. 2014;22(3):58-60.
29. Teughels W, Durukan A, Ozcelik O, Pauwels M, Quirynen M, Haytac MC. Clinical and microbiological effects of Lactobacillus reuteri probiotics in the treatment of chronic periodontitis: a randomized placebo – controlled study. J Clin Periodontol. 2013;40(11):1025-35.
30. Vicario M, Santos A, Violant D, Nart J, Giner L. Clinical changes in periodontal subjects with the probiotic Lactobacillus reuteri Prodentis: a preliminary randomized clinical trial. Acta Odontol Scand. 2013;71(3-4):813-9.

31. Twetman S, Derawi B, Keller M, Ekstrand K, Yucel-Lindberg T, Stecksen-Blicks C. Short term effect of chewing gums containing probiotic Lactobacillus reuteri on the levels of inflammatory mediators in gingival crevicular fluid. Acta Odontol Scand. 2009;67(1):19-24.
32. Hedberg M, Karched M, Asikainen SEA. In vitro growth inhibition of periodontitis associated species by L. reuteri. Poster presented at: Anaerobe 2006, Boise, Idaho, USA.
33. Shah MP, Gujjari SK, Chandrasekhar VS. Evaluation of the effect of probiotic (inersan®) alone, combination of probiotic with doxycycline and doxycycline alone on aggresive periodontitis – a clinical and microbiological study. J Clin Diagn Res. 2013;7(3):595-600.
34. Nikawa H, Makihira S, Fukushima H, Nishimura H, Ozaky Y, Ishida K et al. Lactobacillus reuteri in bovine milk fermented decreases the oral carriage of mutans streptococci. Int J Food Microbiol. 2004; 95(2):219-23.
35. Flichy-Fernandez AJ, Alegre-Domingo T, Penarrocha-Oltra D, Penarrocha-Diago M. Probiotic treatment in the oral cavity: an update. Med Oral Patol Oral Cir Bucal. 2010;15(5):e677-80.
36. Skeikh S, Pallagatti S, Kalucha A, Kaur H. Probiotics. Going on the natural way. J Clin Exp Dent. 2011;3(2):e150-4.
37. Strahinić I, Busarević M, Pavlica D, Milasin J, Golić N, Topisirović L. Molecular and biochemical characterizationss of human oral lactobacilli as putative probiotic candidates. Oral Microbiol Immunol. 2007;22(2):111-7.

10.0. ŽIVOTOPIS

Nikolina Vihnanek rođena je 30. studenog 1990. u Zagrebu, gdje je završila Osnovnu školu „Antuna Mihanovića“. Nakon zagrebačke XV. gimnazije, 2009. godine upisuje Stomatološki fakultet Sveučilišta u Zagrebu.