

Probiotici - mit ili stvarnost?

Slović, Anamarija

Undergraduate thesis / Završni rad

2011

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Science / Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/um:nbn:hr:217:478653>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-04-20**



Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Science - University of Zagreb](#)



SVEU ILIŠTE U ZAGREBU
PRIRODOSLOVNO – MATEMATI KI FAKULTET
BIOLOŠKI ODSJEK

PROBIOTICI – MIT ILI STVARNOST?

PROBIOTICS – MYTH OR REALITY?

SEMINARSKI RAD

Anamarija Slovi

Preddiplomski studij molekularne biologije

Mentor: doc. dr. sc. Martina Šeruga Musi

Zagreb, 2011.

Sadržaj

1. UVOD	2
2. PROBIOTICI	3
3. ODRE IVANJE POTENCIJALNIH PROBIOTIKA.....	6
4. MEHANIZAM DJELOVANJA PROBIOTIKA	11
5. BAKTERIOCINI	15
6. ZAKLJU AK	18
7. LITERATURA	19
8. SAŽETAK	20
9. SUMMARY.....	20

1. UVOD

Debelo crijevo (kolon) ljudi i životinja sadrži velik broj mikroorganizama koji normalno sprječavaju infekcije te imaju pozitivan djelotvoran učinak na opće zdravlje domaćina. Ta injenica poznata je već preko stotinu godina, od kada je Elie Metchnikoff primijetio da neobičajeno dug životni vijek ljudi u Bugarskoj što nije moglo biti pripisano modernoj medicini jer je Bugarska tada bila jedna od najsiromašnijih država u Europi. On je primijetio da tamošnji seljaci konzumiraju velike količine jogurta, a zatim je izolirao bakterije iz jogurta i utvrdio kako upravo one imaju određenu ulogu u promicanju zdravlja (Gillor i sur. 2008). Ovo otkriće bilo je vrlo značajno, jer je dovelo do spoznaje kako nisu sve bakterije nužno patogeni, odnosno dovodi do opoznatog izraza „dobre bakterije“.

Nakon ovog otkrića prošlo je gotovo stoljeće prije nego su opće zdravstvene organizacije uzele u razmatranje korištenje ovakvih bakterija u poboljšanju zdravlja. Termin „probiotik“, pod kojim su danas poznate ove bakterije, dolazi od riječi latinskog podrijetla *pro* i grčke riječi *bios*, što u prijevodu znači život. Ipak, javlja se potreba za podrobnjijim definiranjem tog izraza te Svjetska zdravstvena organizacija (engl. *World Health Organization, WHO*) 2001. godine odreduje probiotike kao „žive organizme koji kada su konzumirani u primijenjenim količinama uzrokuju zdravstvenu korist domaćina“ (Vanderpool i sur. 2008).

Proteklih godina na tržištu dolazi do pojave sve više funkcionalnih hranjivih proizvoda za koje se tvrdi da promiču zdravlje. Brojni se probiotici danas uspješno iskorištavaju komercijalno (posebice iz roda *Lactobacillus*: *Lactobacillus rhamnosus* GG, *L. casei* Shirota, *L. acidophilus* LA-1), no mnogi potrošači i znanstvene zajednice su i dalje skeptični (Dunne i sur. 1999). Mnoge tvrdnje o djelotvornim učincima probiotika u prošlosti nisu bile bazirane na znanstvenim ispitivanjima. Zadnjih 15 godina to se značajno mijenja; industrija hrane u suradnji sa znanstvenicima intenzivno istražuje probiotike te njihovu moguću primjenu u prehrani i medicini, sve s ciljem stvaranja znanstvenog temelja i razjašnjavanja predloženih djelotvornih funkcija probiotika (Gillor i sur. 2008).

2. PROBIOTICI

U današnje vrijeme sve više smo suo eni s padom u inkovitosti antibiotika i oživljenjem zaraznih bolesti te smo primorani okrenuti se alternativim mogu nostima lije enja koja bi dopunila postoje e dominiraju e terapije antibioticima. Raznovrsne bakterije su uzete u razmatranje kao potencijalni terapeutski agenti; primjeri uklju uju bakterije mlijekno-kiselog vrenja¹, enteri ne bakterije i bakterije roda *Streptococcus* i *Bifidobacterium* ali i kvasce roda *Saccharomyces*. Sve one, kako bi se mogle koristiti, ne smiju biti patogene niti toksi ne; tako er, moraju biti sposobne preživjeti prolazak do njihove ciljne niše gdje štite doma ina od infekcija patogenima.

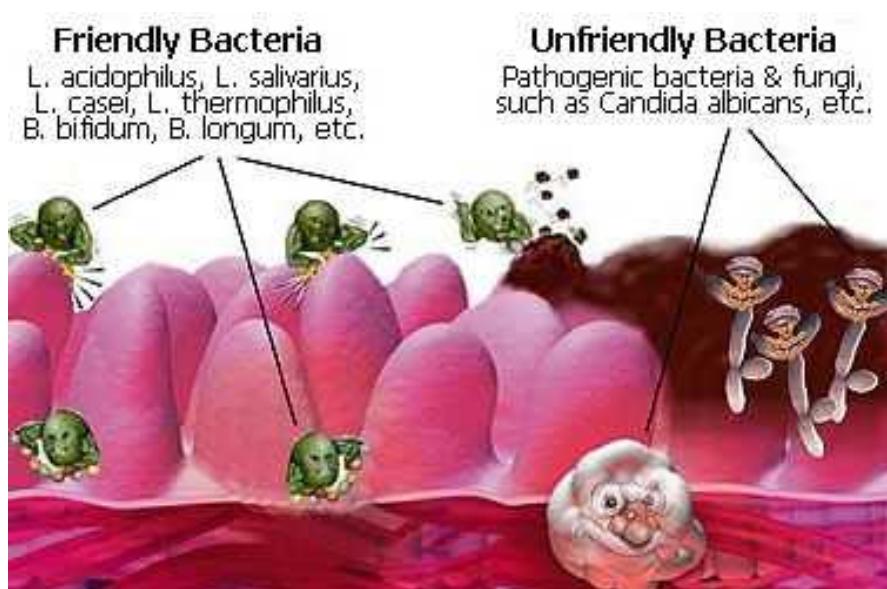
Ove se bakterije koriste u proizvodnji fermentiranih mlijeknih proizvoda i posjeduju GRAS status (engl. *Generally Recognized As Safe*), odnosno posjeduju utvrenu povijest sigurnog korištenja i dokumentiranu efikasnost. Probiotici se mogu konzumirati ili izravno, kao komponenta hrane ili u obliku preparata. Tako er, odre eni su i kriteriji koji moraju biti ispunjeni kako bi bakterije bile prepoznate kao probiotici:

- moraju biti ljudskog podrijetla.
- ne smiju pokazivati patogeno djelovanje.
- moraju biti rezistentni na tehnološke procese, želu anu kiselinu i žu .
- moraju se vezati na crijevno epitelno tkivo; biti sposobni perzistirati, ak i kratki period, u gastrointestinalnom traktu.
- moraju proizvoditi antimikrobne supstance.
- moraju modulirati imunosni odgovor.
- moraju posjedovati sposobnost utjecanja na metaboli ku aktivnost (pr. asimilacija kolesterola, aktivnost laktaze, proizvodnja vitamina)

Kao dodatak, ovi zahtjevi su prošireni te je odre eno kako se svaki potencijalan soj probiotika mora dokumentirati i ocijeniti nezavisno, odnosno nije dozvoljena ekstrapolacija podataka blisko srodnih sojeva. Samo se dobro definirani sojevi i proizvodi smiju koristiti u studijama (studije bi trebale biti vršene na nasumi nom uzorku ljudi, dvostruko slijepe i provede uz korištenje kontrolne grupe) a rezultati moraju biti potvrđeni nezavisnim istraživa kim grupama (Dunne i sur. 1999).

¹ engl. *lactic acid bacteria (LAB)*, karakterizirane pove anon tolerancijom na niski pH te su stoga u mogu nosti provoditi fermentaciju iji je krajnji produkt mlijekna kiselina

U razvoju hrane koja sadrži probiotike namijenjene ljudskoj uporabi, naj eš e se koriste bakterije mlije no-kiselog vrenja poput ve spomenutih rodova *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* i *Streptococcus* zbog opažanja da su oni poželjni lanovi crijevne mikroflore (Dunne i sur. 2001) (Slika 1). Potencijalna korist za ljudsko zdravlje uklju uje: antikarcinogenu aktivnost, kontrolu crijevnih patogena, poboljšanje korištenja laktoze u osoba sa smanjenom tolerancijom na laktuzu te smanjenje koncentracije kolesterola u serumu (Prescott i sur. 2002).



Slika 1. „Dobre“ bakterije crijevne mikroflore u borbi s patogenim mikroorganizmima (<http://prenatalgyn.org/>)

Iako se u inak probiotika tek intenzivno istražuje, u emu nam uvelike pomaže razvitak molekularnih metoda, na tržištu se ve neko vrijeme nalaze tzv. „probioti ki“ proizvodi s kojima se svakodnevno susreemo. Upravo zato je potrebna regulacija u pogledu označavanja takvih proizvoda, koja se tiče njihove kvalitete i efikasnosti. Svaki proizvod trebao bi imati jasnu definiciju fiziološkog efekta, kao i vijabilni broj svakog soja. Zbog nepoštivanja ovih propisa, odnosno zbog nedopustivih tvrdnji o uinku odre enog probiotika, nekoliko je proizvoda povu eno sa tržišta u Sjedinjenim Ameri kim Državama. Osim toga, da bi probiotik bio prikladan za korištenje trebao bi biti siguran. Da bi se osigurala sigurnost u obzir se moraju uzeti potencijalne kontraindikacije u potroša a, dokazano sigurno korištenje preporu ene doze, frekvencija povezanosti vrsta i sojeva s infekcijama te vjerojatnost proizvodnje štetnih krajnjih metaboličkih produkata.

Zbog mogunosti korištenja probiotika u hrani, kao i u obliku lijekova ili dodataka, javlja se potreba za definiranjem sigurnih probiotika, odnosno dokumentiranjem probiotika koji su sigurni za korištenje u hrani: Food and Drug Administration (FDA) objavljuje djelomičnu listu mikroorganizama i sastojaka podrijetlom od mikroorganizama koji su sigurni za uporabu. (Reid i sur. 2003). Znanstveni dokazi koji definiraju mehanizme djelovanja, unaprjeđuju proizvodne standarde te pravilno određuju probiotike proizvode, temelj su razvoja u području probiotika.

3. ODREĐIVANJE POTENCIJALNIH PROBIOTIKA

Kako bi probiotici mogli vršiti svoju funkciju, bakterije moraju preživjeti prolazak kroz želudac i tanko crijevo te pristi i u debelo crijevo u dovoljnom broju da utje u na ekologiju i metabolizam bakterija u tom podru ju koje sadrži oko 10^{11} - 10^{12} mikroorganizama (Bezkrovainy 2001). Potencijalni probiotici se ispituju *in vitro* na utjecaj razli itih faktora s kojima se susre u tijekom prolaska kroz gastrointestinalni trakt te se potvr uje njihova korisna funkcija u podru ju djelovanja. Faktori uklju uju: otpornost na želu anu kiselinu i žu ne soli, sposobnost prianjanja za epitelne stanice crijeva, modulaciju doma inovog imunosnog odgovora i antimikrobnu aktivnost probiotika.

3.1. Otpornost na želučanu kiselinu

Prije nego stignu do svog odredišta, probiotici moraju preživjeti prolazak kroz želudac gdje lu enje želu ane kiseline služi kao primarni obrambeni mehanizam protiv ve ine mikroorganizama. Odabrani bakterijski sojevi roda *Lactobacillus* i *Bifidobacterium* izolirani iz operativno odstranjenih segmenata ileuma² su odabrani za procjenu *in vitro*. Opaženi rezultati upu uju da izolati laktobacila imaju potencijal za uspješno preživljeni prolazak kroz želudac; za razliku od njih, sojevi roda *Bifidobacterium* pokazuju zna ajno manju rezistenciju na kiselinu (Dunne i sur. 1999).

3.2. Otpornost na žučne soli

Žu ne kiseline sintetiziraju se u jetri iz kolesterola i izlu uju iz žu nog mjehura u duodenum u konjugiranom obliku (500-700 ml/dan). Ove kiseline nakon toga prolaze kemijske modifikacije (dekonjugaciju, dehidroksilaciju, dehidrogenaciju, deglukuronidaciju) zahvaljuju i mikrobnoj aktivnosti u kolonu. I konjugirane i nekonjugirane žu ne soli pokazuju antibakterijsku aktivnost inhibiraju i rast sojeva bakterija *Escherichia coli*, *Klebsiella sp.* i *Enterococcus sp.* *in vitro*, no višu inhibitornu aktivnost pokazuju nekonjugirane forme. U po etnim studijama cilj je bio determinirati razinu otpornosti sojeva *Lactobacillus* i *Bifidobacterium* izoliranih iz ileuma na žu ne soli: sve testirane bakterije bile su sposobne rasti u fiziološkim koncentracijama ljudske žu i, ija koncentracija iznosi otprilike 0,3% (Dunne i sur. 1999).

² Zadnji dio tankog crijeva koje slijedi nakon duodenuma i jejunuma.

3.3. Prianjanje bakterijskih izolata za ljudske stanične linije

HT-29 i Caco-2 su stanice ljudskih intestinalnih staničnih linija koje eksprimiraju morfološke i fiziološke karakteristike normalnih ljudskih enterocita³. Ove stanične linije su koristavane kako bi se objasnilo mehanizam koji posreduje adheziju patogena. Opaženo je vezanje *Lactobacillus* sojeva u usporedbi sa dobro karakteriziranim adherentnim sojevima *Lactobacillus rhamnosus* GG; značajno manja razina vezanja primjeđena je kod sojeva *Bifidobacterium*, bez obzira koja je stanična linija korištena (Dunne i sur. 1999).

Djelotvorni u inak probiotika objašnjen je preko njihove navodne sposobnosti interferencije sa vezanjem patogena na intestinalne stanice. U *in vitro* studiji pokazano je da probiotici interferiraju sa vezanjem patogene *Salmonella typhimurium* za Caco-2 stanice, no trenutni dokazi sugeriraju kako to nije slučaj i *in vivo*. Apsorpcijska stopa sojeva *Bifidobacterium* određena je nakon primjene na osobe koje su sudjelovale u ovoj studiji te je bila jednaka postotku preživljavanja tijekom prolaza kroz gastrointestinalni trakt. Kad je primjena ovog sojeva prekinuta, nije se više pojavljivao u fecesu te autori zaključuju da primjenjeni *Bifidobacterium sp.* ne kolonizira debelo crijevo, iako može preživjeti prolazak kroz gastrointestinalni trakt (Bezkorovainy 2001).

3.4. Antimikrobna aktivnost

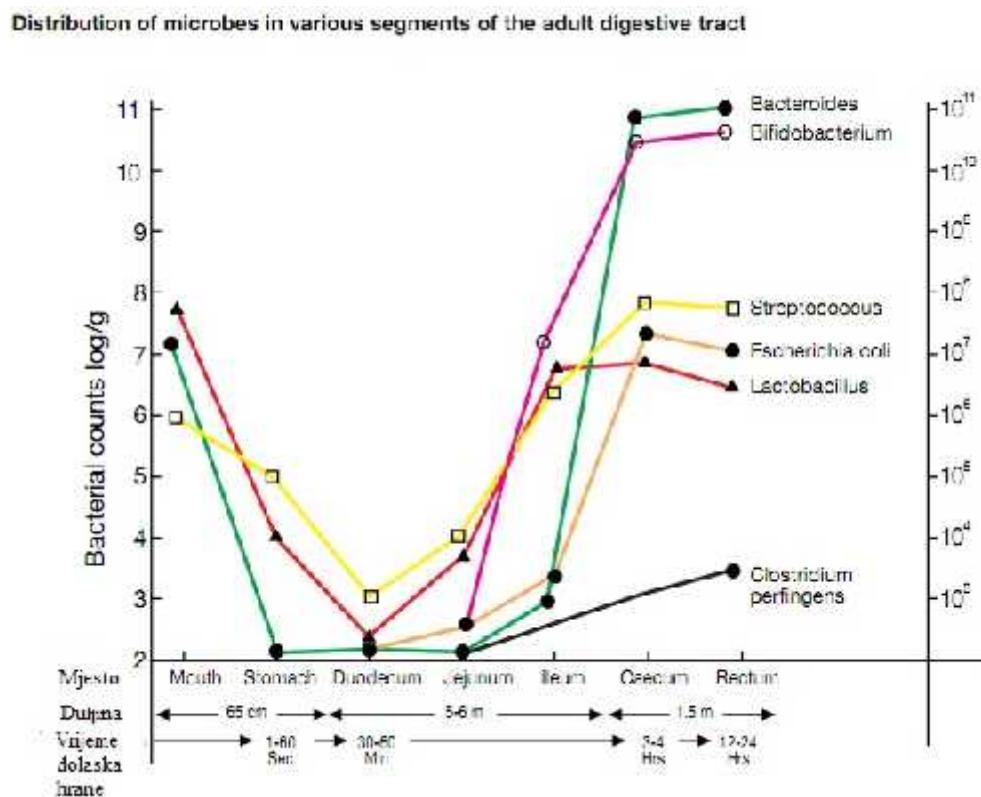
Neki metaboliti spojevi koji su proizvodi metabolizma bakterija mlijeko no-kiselog vrenja pokazuju antimikrobne učinke od kojih su najviše istraženi bakteriocini i proteinoidne supstance sa specifičnim inhibitornom aktivnošću protiv blisko srodnih vrsta (Dunne i sur. 2001).

3.5. Faktori koji utječu na aktivnost endogenih probiotika

Normalne komponente crijevne mikroflore u odraslim ljudima uključuju dominaciju bakterijskih rodova *Bacteroides* i *Bifidobacterium*, dok *Lactobacillus* i *Streptococcus* dominiraju u tankom crijevu (Slika 2). Za razliku od kravljeg mlijeka, ljudsko mlijeko ima veći sadržaj laktoze, smanjen kapacitet puferiranja te smanjeni sadržaj proteina i fosfata. Zbog smanjenog kapaciteta puferiranja, mlijeko na 100 g octena kiselina proizvedene endogenim bifidobakterijama mogu smanjiti pH sadržaja debelog crijeva, sprječavajući rast patogena i mnogih organizama na njih u odraslim ljudima i dojenici koja ne primaju dovoljno mlijeko inog

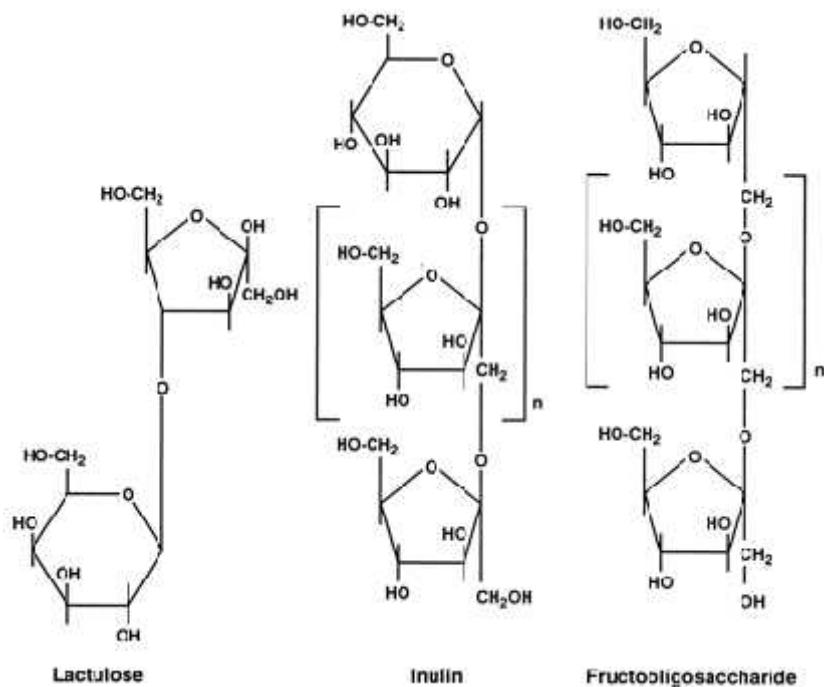
³ Epitelne stanice tankog crijeva i kolona

mlijeka. Pretežno bifidobakterijska flora i rezultiraju i smanjeni pH feca u dojenadi povezani su uz manje stope smrtnosti i bolesti što rezultira percepcijom kako su ti uvjeti blagotvorni i u odraslih ljudi (Bezkorovainy 2001).



Slika 2. Raspodjela normalnih komponenata crijevne mikroflore obzirom na dijelove probavnog sustava, endogeni probiotici. (Preuzeto i preuređeno: http://www.wasamedicals.com/pdf/microflora_comp.pdf)

Najbolji pristup poboljšanju uloge endogenih probiotika u crijevu je korištenje prebiotika. To su jednostavni, prirodni ili sintetski še eri koji su normalno neprobavljeni u ljudskom intestinalnom traktu, ali ih koriste određene bakterije u debelom crijevu, pogotovo bifidobakterije, kao izvor ugljika za rast i metabolizam. Od ovih še era koriste se laktuloza i različiti oligosaharidi fruktoze i inulin (Slika 3).



Slika 3. Kemijske strukture prebiotika laktuloze, inulina i fruktooligosaharida.
[\(http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1283333/\)](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1283333/)

Laktuloza je korištena u svrhu olakšavanja simptoma kod teških bolesti jetre, snižavajući koncentraciju amonijaka u krvi (Bezkrovainy 2001). Pro- i prebiotici se kombiniraju u hranjivom proizvodu rezultirajući sinbiotikom (engl. *synbiotic*) koji se definira kao smjesa probiotika i prebiotika koja utječe na domaćina poboljšanjem preživljivanja i implantacije živih mikroba u gastrointestinalnom traktu (Simmering i Blaut 2001). Neki od djelotvornih efekata prebiotika uključuju povećanje proizvodnju kratkolananih masnih kiselina, poticanje rasta i/ili aktivnosti bakterija mlijeko-kiselog vrenja, smanjenje koncentracije kolesterola i triacilglicerola u serumu, te smanjenje rizika od raka (Simmering i Blaut 2001).

Primjena molekularnih tehnika na mikrobni crijevni ekosustav pomoći će u boljem razumijevanju uloge pro- i prebiotika u bakterijskoj zajednici u crijevu te njihovog utjecaja na gastrointestinalne funkcije. Unatoč napretku u prvenstvu (engl. *monitoring*) crijevne flore, nekoliko poteškoća javlja se u studijama koje uključuju ljudi. Većina takvih studija oslanja se na istraživanje uzoraka feca koji ne reflektiraju nužno *in situ*⁴ stanje u crijevu. Zato se kreće prema razvoju boljih strategija uzorkovanja, npr. korištenju biopsije ili malih kapsula (Simmering i Blaut 2001).

⁴ Lat., u prirodnom ili izvornom položaju, mjestu.

4. MEHANIZAM DJELOVANJA PROBIOTIKA

Crijevna flora uklju uje više od 500 bakterijskih vrsta te obuhva a otprilike 95% ukupnog broja stanica u ljudskom tijelu i zna ajno doprinosi doma inovoj otpornosti na zarazne bolesti. Promjene u sastavu crijevne flore esto su vezane uz bolesti i u nekim slu ajevima mogu biti njihov uzro ni faktor (Dunne i sur. 1999). Primjena probiotika kod novoro en adi ili odraslih rezultira odre enim promjenama u mikrobnom profilu i metaboli koj aktivnosti fecesa. Takve promjene su male, no primijenjene u patološkim situacijama, esto dostatne da djelotvorno promijene tijek bolesti. U ve ini situacija, rezultat je pove anje broja bifidobakterija i laktobacila u fecesu, smanjenje fekalnog pH i pad aktivnosti bakterijskih enzima koji su vezani uz razvoj raka debelog crijeva (Bezkrovainy 2001). Neki od istraženih sojeva probiotika i njihov u inak navedeni su u Tablici 1.

Tablica 1. Probiotici i njihov u inak primije en u klini kim studijama. Preuzeto i preure eno iz Dunne i sur. 1999.

Soj	Primjećeni efekti u kliničkim studijama	Referenca
<i>Lactobacillus acidophilus</i> LC1	Prianjanje za ljudske crijevne stanice; balansiranje crijevne mikroflore; poboljšanje imunosti	Bernet i sur. 1994
<i>Lactobacillus acidophilus</i> NCFO1748	Smanjeni fekalni enzimi; sprječavanje dijareje uzrokovane radioterapijom	Lidbeck i sur. 1992
<i>Lactobacillus rhamnosus</i> GG	Sprječavanje dijareje uzrokovane antibioticima; liječenje i sprječavanje dijareje uzrokovane rotavirusom; liječenje povratne <i>Clostridium difficile</i> dijareje; sprječavanje akutne dijareje; ublažavanje Chronove bolesti	Salminen i sur. 1993
<i>Lactobacillus casei</i> Shirota	Sprječavanje crijevnih smetnji; balansiranje crijevnih bakterija; smanjenje fekalnih enzima	Aso i Akazan 1992
<i>Lactobacillus gasseri</i>	Redukcija fekalnih enzima; preživljava u crijevnom traktu	Pedrosa i sur. 1995
<i>Bifidobacterium bifidum</i>	Liječenje dijareje uzrokovane rotavirusom; balansiranje crijevne mikroflore; liječenje virusne dijareje	Marteau i sur. 1990

4.1. Modulacija imunosnog odgovora pomoću probiotika

Općenito, probiotici mogu stimulirati i specifičnu i nespecifičnu imunost. Uobičajeni obrambeni mehanizam uključuje niski pH u želucu, žuće soli, peristaltiku, mukozne slojeve i antimikrobne komponente poput lizozima. Imunološki mehanizam uključuje specijalizirane limfoidne agregate nazvane Peyerove ploče koje su raspodijeljene kroz tanko i debelo crijevo. Antigeni prezentirani na ovim mjestima mogu rezultirati stimulacijom odgovarajućih T- ili B-stanica, osnivanjem mreže citokina i sekrecijom antitijela u gastrointestinalni trakt (Dunne i sur. 1999).

Mehanizam kojim probiotici sudjeluju u poboljšanju zaštite domaćina uključuje 3 razine djelovanja:

1. U tankom crijevu (gdje je broj živih bakterija u efektivnim probiotičkim preparatima jednakog reda kao ukupni broj bakterija u tankom crijevu) probiotici aktiviraju Peyerove ploče, odnosno aktiviraju opću mukozni sustav;
2. Sekrecija citokina iz T-stanica nakon aktivacije antigen-prezentirajućih stanica, posebno INF-γ koji potiče zaštitu, regulira hipersenzitivnost na mukoznoj površini i pojavi apopotozom usporeno nastajanje tumora;
3. T- i B-limfociti aktivirani unutar Peyerovih ploča ujedinjuju se sa cirkulirajućim stanicama omogućavajući i efekt na svim mukoznim membranama (Clancy i Pang 2007).

U zapadnom svijetu primjenjeno je povećanje u estalosti i jačine alergija povezano sa povećanjem standarda higijene i zdravstvenih mjera, tzv. *hygiene therapy* koji je rezultat smanjenje u broju i rasponu infektivnih izazova s kojima se susreću domaćini. Ovaj nedostatak imunosne edukacije omogućava domaćinu da pretjerano reagira na nepatogenu floru rezultirajući upalnim oštećenjem i alergijama. Uzimanje nepatogenih bakterija, poput probiotika, može osigurati promicanje imunosne edukacije zbog čega se istražuje uzimanje probiotika kako bi se umjetno stimulirao imunosni sustav (Dunne i sur. 1999). Obe studije su na miševima koje pokazuju da određeni probiotici mogu spriječiti utvrđenu hipersenzitivnost (Clancy 2003).

Novi termin potreban je kako bi se opisale bakterije koje potiču u zdravlje preko upravljanja mukoznim imunosnim mehanizmima te je predložen termin je imunobiotici (engl. *immunobiotics*) (Clancy 2003). Prepoznavanje probiotika kao imunobiotika pomije biologiju probiotika, odnosno razumijevanje mehanizama djelovanja probiotika.

4.2. Prevencija i liječenje dijareje u dojenčadi i odraslih

Dijareju mogu uzrokovati patogene bakterije ili prerast broja virusa u tankom ili debelom crijevu što rezultira gubitkom tjelesne teku ine i elektrolita. Potencijalni uzroci, mehanizam patogenosti i efektivni tretman probioticima navedeni su u Tablici 2. Tako er, probiotici su se pokazali u inkovitima u slu ajevima u kojima nije bio identificiran to an uzrok dijareje; *Lactobacillus GG*, prisutan u jogurtu, bio je u inkovit u kontroliranju dijareje uzrokovane antibiotikom eritromicinom (Bezkorovainy 2001).

Dijareja uzrokovana antibioticima est je problem, koji se pojavljuje u ak 25% pacijenata, od ega je u etvrtini slu ajeva uzrokovana bakterijom *Clostridium difficile* (Slika 4). Probiotici nude potencijalno u inkovitu terapiju obnavljanjem mikrobne ravnoteže u crijevima. Za sada, rezultati podupiru efikasnost *S. boulardii* u sprje avanju dijareje uzrokovane povratnim infekcijama *C.*

difficile u odraslih, dok je *LGG* koristan u lije enju dijareje kod djece. Sa širenjem uporabe antibiotika (pa tako i rezistencije na antibiotike) na ini kojima se smanjuju komplikacije su prijeko potrebni (Katz 2006).



Slika 4. *Clostridium difficile* formira spore
(<http://www.cdiff-support.co.uk/>)

Tablica 2. Potencijalni uzroci, mehanizam patogenosti i efektivni tretman probioticima. Preuzeto i preure eno na temelju Bezkorovainy 2001.

Uzročnik	Mjesto djelovanja	Mehanizam patogenog djelovanja	Efektivni probiotik
Rotavirus	Tanko crijevo	Razaranje stanica resica	<i>Bifidobacterium bifidum</i> <i>Streptococcus thermophilus</i> <i>Lactobacillus GG</i>
<i>Clostridium difficile</i>	Kolon	Enteropatogeni i citoksini	<i>L. GG, B. bifidum</i>
<i>Escherichia coli</i>	Tanko crijevo	Vezanje i enterotoksini	<i>L. GG</i>
<i>Salmonella</i> spp.	Tanko crijevo	Invazija	<i>L. GG</i>
<i>Shigella</i> spp.	Tanko crijevo i kolon	Invazija i toksini	<i>L. GG</i>

4.3. Klinička primjena probiotika

Primjenjuju se kao alternativni pristup za prevenciju i terapiju nekoliko crijevnih upalnih poreme aja, uklju uju i upalnu bolest crijeva (engl. *inflammatory bowel disease*,

IBD). Stanje uključuje 2 bolesti: Chronovu bolest i ulcerativni kolitis, cjeloživotno kronično upalno stanje gastrointestinalnog trakta (Vanderpool i sur. 2008). Iako niti jedna bakterijska vrsta nije direktno vezana uz patogenezu IBD-a u ljudi, analiza luminalne flore otkriva promjene u sastavu bakterijskih vrsta u usporedbi sa zdravim osobama (Dunne i sur. 1999). Dominacija potencijalno štetnih bakterija te smanjenje djelotvornih bakterijskih vrsta (poput *Lactobacillus* i *Bifidobacterium*) identificirano je u crijevnoj mikroflori pacijenata sa IBD-om (Vanderpool i sur. 2008).

Održavanje ravnoteže između nužnog i prekomjernog obrambenog mehanizma služi kao potencijalna terapija. Dva mehanizma probiotika kog djelovanja identificirana su u posredovanju održavanja mikrobne ravnoteže: probiotici mogu proizvoditi antibakterijske supstance poput bakteriocina i kiseline te mogu kompetitivno inhibirati prianjanje patogena i bakterijskih toksina za crijevni epitel (Vanderpool i sur. 2008).

Intenzivnom istraživanju probiotika, uključujući i studije na ljudima i eksperimentalnim životinjama, nedostaju velike i dobro kontrolirane kliničke studije kako bi dokazi efikasnosti probiotika bili nedvosmisleni. No unatoč tome, noviji dokazi podržavaju ulogu probiotika u liječenju gastrointestinalnih poremećaja. Buduće studije trebale bi se fokusirati na istraživanje optimalnih doza i kombinacija raznih probiotika, s ciljem poboljšanja efikasnosti probiotika u liječenju gastrointestinalnih poremećaja (Vanderpool i sur. 2008).

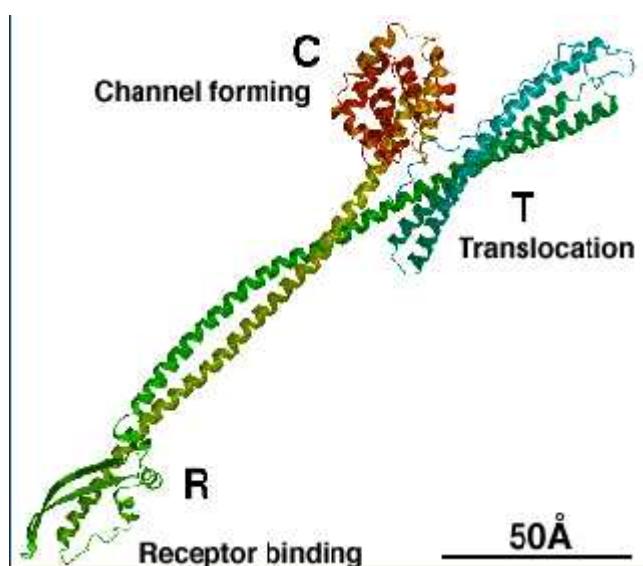
5. BAKTERIOCINI

Antimikrobnja aktivnost je važan na in putem kojeg probiotici kompetitivno isklju uju ili inhibiraju napad bakterija. Neki to rade izlu ivanjem nespecifi nih antimikrobnih supstanci, poput masnih kiselina kratkih lanaca ili vodikovog peroksida, dok ostali proizvode toksine sa uskim rasponom ubijanja, odnosno bakteriocine. Bakteriocini mogu specifi no biti aktivni protiv odre ene populacije bakterijskog soja ili vrste i sigurni su za unošenje u ljudski organizam (odobrila FDA). Posebno su atraktivni kada je cilj primjene probiotika nadopuna, a ne promjena doma inove prirodne bakterijske flore.

Identificirani su prije 100 godina kao temperaturno osjetljivi produkti prisutni u kulturama *E. coli* V i toksi noj *E. coli* S te im je dan naziv kolicin. Glavne zna ajke koje razlikuju bakteriocine od klasi nih antibiotika uklju uju injenicu da su bakteriocini sintetizirani na ribosomima te imaju relativno uzak spektar djelovanja (Gillor i sur. 2008).

5.1. Bakteriocini Gram- bakterija

Kolicini su proteini velike molekularne težine koji ubijaju ciljne stanice preko raznovrsnih mehanizama: npr. kolicini E1 i K inhibiraju sintezu makromolekula, kolicin E2 je uzrok lomova u DNA, a kolicin E3 zaustavlja sintezu proteina. Obično su kodirani na 1 ili 2 tipa kolicinogenih plazmida. Uz kolicin (Slika 5), sojevi *E. coli* proizvode još jedan tip bakteriocina – mikrocin koji je manji od kolicina te dijeli više svojstava s bakteriocinima Gram+ bakterijama (Gillor i sur. 2008).



Slika 5. Tri funkcionalne domene kolicina: T-domena za translokaciju; R-vezanje receptora; C-formiranje pora ([http://www.msg.ucsf.edu/stroud/pubs/colicin.htm](http://www/msg.ucsf.edu/stroud/pubs/colicin.htm))

5.2 Bakteriocini Gram+ bakterija

Nalikuju na mnoge antimikrobne peptide proizvedene u eukariota. Veli ina im je izme u 2 i 6 kDa. Postoje 4 klase bakteriocina proizvedenih bakterijama mlje no-kiselog vrenja (Tablica 3). Klasa I i II u fokusu su ve ine istraživanja. Bakteriocini Gram+ bakterija mogu ubijati samo druge Gram+ bakterije, a raspon djelovanja varira zna ajno: od vrlo uskog raspona djelovanja do izuzetno širokog (Gillor i sur. 2008).

Tablica 3. Klase bakteriocina te mehanizam djelovanja. Podaci prema Gillor i sur. 2008.

Klasa bakteriocina	Svojstva	Način djelovanja
I	modificirani bakteriocini poznati kao lantibiotici	formiranje pora; interferencija s enzimatskim reakcijama
II	minimalno modificirani temperaturno stabilni	permeabilizacija i formiranje pora u membrani
III	veći, temperaturno osjetljivi	nedovoljno poznato
IV	kompleksi koji posjeduju lipidne ili ugljikohidratne strukture	nedovoljno poznato

5.3. Primjena bakteriocina

Mogu e da im je uloga obrana odnosno inhibicija invazije drugih sojeva ili vrsta u zauzetu nišu. Primjer antimikrobne aktivnosti bakteriocina u gastointestinalnom traktu pokazan je u jednoj studiji u kojoj je demonstrirana aktivnost *in vivo* bakteriocina proizvedenog sojem bakterije *Lactobacillus salivarius* UCC118 protiv patogena *Listeria monocytogenes*. Još jedan uvjerljiv primjer uklju uje inhibiciju patogena *Helicobacter pylori* koji uzrokuje teške bolesti želuca i duodenuma pomo u *Lactobacillus johnsonii* LA1 i *Lactobacillus acidophilus* LB.

Osim u gastointestinalnom traktu, bakteriocini nalaze svoju primjenu i u bolestima usne šupljine i respiratornog trakta. *Streptococcus mutans* i *S. salivarius* su glavni uzro nici karijesa u ljudi (Slika 6). *Streptococcus mutans* proizvodi mutacine te postoji pozitivna korelacija izme u proizvodnje ovog bakteriocina i sposobnosti kolonizacije usne šupljine. Konstruiran je nepatogeni soj koji proizvodi mutacin te tako inhibira kolonizaciju drugim sojevima *S. mutans* što ga ini dobrom kandidatom za uporabu u lije enju karijesa. Soj *S.*

salicarius K12, koji proizvodi 2 jaka lantibiotika (salivaricin tipa A i B) koristi se za tretiranje infekcija gornjeg respiratornog trakta uzrokovanih streptokokima.



Slika 6. *Streptococcus mutans* (ružičasti asto) u zubnom plaku
(<http://www.sciencephoto.com/>)

Osim toga, probiotici nalaze svoju primjenu i u liječenju vaginoze, a također i u govedarstvu i peradarstvu, gdje je posebice važno kontrolirati porast broja potencijalno patogenih bakterija u životinja koje mogu biti infektivne za ljude koji ih konzumiraju (Gillor i sur. 2008).

6. ZAKLJUČAK

U ljudskom intestinalnom traktu nalazi se oko 10^{14} bakterija koje mogu utjecati na zdravlje doma ina. Probiotici mogu utjecati na mikrobnu zajednicu u crijevu i na taj na in ostvariti pozitivan u inak na zdravlje osobe koja ih konzumira. Navode se brojni pozitivni u inci probiotika, no trenutno mnogi nisu dokazani. Za odre ene bakterijske sojeve tvrdi se da djeluju kao probiotici (ponajprije sojevi *Lactobacillus* i *Bifidobacterium* koji se nalaze u brojnim komercijalno dostupnim probioti kim preparatima poput jogurta), budu i da su opaženi kao poželjni stanovnici ljudske crijevne mikroflore.

Mogu nost korištenja probiotika u industriji prehrane i lije enju odre enih stanja i bolesti zahtjeva njihovu sigurnost uporabe te dokumentiranu efikasnost. Budu i da dosadašnji rezultati ne daju o ekivane rezultate kod svih osoba, moraju se dizajnirati probiotici za manje grupe koje imaju odre ene sli nosti u sastavu mikroflore. Tako er su potrebne to nije definicije spektra i djelovanja svakog probiotika zasebno, za razliku od dosadašnjih tvrdnjii i op enitom povoljnog utjecaju na ljudsko zdravlje. U tome e pomo i budu e studije koje e prona i i definirati optimalne doze i kombinacije razli itih sojeva probiotika.

7. LITERATURA

- Bezkrovainy A. (2001) Probiotics: Determinants Of Survival And Growth In The Gut. Am J Clin Nutr (73): 399-405
- Clancy R. L., Pang G. (2007) Probiotics – Industry Myth Or A Practical Reality? J Am Coll Nutr (26): 691-694
- Clancy R. (2003) Immunobiotics And The Probiotic Evolution. FEMS Immunol Med Microbiol (38): 9-12
- Dunne C., O'Mahony L., Murphy L., Thornton G., Morrissey D., O'Halloran S., Feeney M., Flynn S., Fitzgerald G., Daly C., Kiely B., O'Sullivan G. C, Shanahan F., Collins J K. (2001) In Vitro Selection Criteria For Probiotic Bacteria Of Human Origin: Correlation With In Vivo Findings. Am J Clin Nutr (73): 386-392
- Dunne C., Murphy L., Flynn S., O'Mahony L., O'Halloran S., Feeney M., Morrissey D., Thornton G., Fitzgerald G., Daly C., Kiely B., Quigley E. M., O'Sullivan G. C., Shanahan F., Collins J. K (1999) Probiotics: From Myth To Reality. Demonstration Of Functionality In Animal Models Of Disease And In Human Clinical Trials. Antonie van Leeuwenhoek (76): 279-292
- Gillor O., Etzion A., Riley M. A. (2008) The Dual Role Of Bacteriocins As Anti- And Probiotics. Appl Microbiol Biotechnol (81): 591-606
- Katz J.A. (2005) Probiotics For The Prevention Of Antibiotic-Associated Diarrhea And Clostridium Difficile Diarrhea. J Clin Gastroenterol (40): 249-255
- Prescott L.M, Harley J.P, Klein D.A (2002) Microbiology 5th Edition, McGraw – Hill Companies, New York, NY, str. 703.
- Reid G., Sanders M.E., Gaskins H.R., Gibson G.R., Mercenier A., Rastall R., Roberfroid M., Rowland I., Cherbut C., Klaenhammer T.R. (2003) New Scientific Paradigms For Probiotics And Prebiotics. J Clin Gastroenterol (2): 105-118
- Simmering R., Blaut M. (2001) Pro- And Prebiotics – The Tasty Guardian Angels? Appl Microbiol Biotechol (55): 19-28
- Vanderpool C., Yan F., Brent Polk D. (2008) Mechanisms Of Probiotic Action: Implications For Therapeutic Applications In Inflammatory Bowel Diseases. Inflamm Bowel Dis (14): 1585-1596

<http://www.ajcn.org/content/73/2/399S.full>

<http://www.cdiff-support.co.uk>

<http://www.msg.ucsf.edu/stroud/pubs/colicin.htm>

<http://www.prenatalgyn.org>

<http://www.sciencephoto.com/>

http://www.wasamedicals.com/pdf/microflora_comp.pdf

8. SAŽETAK

Spoznaja da nisu sve bakterije nužno patogene, već naprotiv, neke od njih posjeduju brojne poželjne u inke na ljudsko zdravlje, dovodi do formiranja termina probiotik. No, kako bi bakterijski sojevi bili definirani kao probiotici moraju ispuniti određene uvjete, a potrebno je i to da no odrediti djelotvorne u inke svakog soja.

Kako bi probiotici mogli vršiti svoju funkciju moraju preživjeti prolazak kroz gastrointestinalni trakt ovjeka te pristići i u debelo crijevo u dovoljnem broju da utječe na ekologiju i metabolizam bakterija u tom području. Faktori s kojima se susreće u tijekom prolaska kroz gastrointestinalni trakt uključuju: otpornost na želu anu kiselinu i žuće soli, sposobnost prijanjanja za epitelne stanice crijeva, modulaciju domaćeg imunosnog odgovora i antimikrobnu aktivnost probiotika.

Potencijalna korist probiotika za ljudsko zdravlje obuhvaća modulaciju mukoznog imunosnog odgovora te prevenciju i liječenje nekih crijevnih upalnih poremećaja, a probiotici koji svoj učinak ostvaruju upravljanjem mukoznim imunosnim sustavom nazivaju se imunobiotici. Osim modulacije mukoznog imunosnog sustava probiotici mogu djelovati i izravno na crijevnu mikrofloru, putem antimikrobne aktivnosti. Neki to rade izlučivanjem nespecifičnih antimikrobnih supstanci, poput masnih kiselina kratkih lanaca ili vodikovog peroksida, dok ostali proizvode toksine sa uskim rasponom ubijanja, odnosno bakteriocine.

9. SUMMARY

A notion that not all bacteria are necessarily pathogenic; that, in fact, some of them carry numerous positive effects on human health led to forming the term probiotic. For a bacteria strain to be labeled probiotic, it must meet certain requirements, as well as have its positive effects correctly determined.

For probiotics to fulfill their function they need to survive the gastrointestinal tract and arrive at the colon in sufficient numbers to affect the bacterial ecology and metabolism in that area. Relevant factors when traversing the tract include: stomach acid and bile acid resistance, ability to adhere to colon's epithelial cells, modulation of host's immunity response and probiotic's antimicrobial activity.

Potential human health benefits include modulation of mucosal immunity response, prevention and treatment of certain inflammatory bowel disorders, provided by probiotics labeled immunobiotics. Other than mucosal immunity response modulation, probiotics can directly affect the colon's microflora by antimicrobial activity. Some do so by secreting non-specific antimicrobial substances, such as short-chain fatty acids or hydrogen peroxide, while others produce toxins with very narrow killing ranges, such as bacteriocins.