

Uloga probiotika u modulaciji imunosnog sustava

Filipović, Doris

Undergraduate thesis / Završni rad

2018

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Food Technology and Biotechnology / Sveučilište u Zagrebu, Prehrambeno-biotehnološki fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:159:522513>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2025-01-25**



Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Food Technology and Biotechnology](#)



Sveučilište u Zagrebu
Prehrambeno-biotehnološki fakultet
Preddiplomski studij Nutricionizam

Doris Filipović

7206/N

**ULOGA PROBIOTIKA U MODULACIJI IMUNOSNOG
SUSTAVA**

ZAVRŠNI RAD

Predmet: Imunologija za nutricioniste

Mentor: Izv. prof. dr. sc. *Lidija Šver*

Zagreb, 2018.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Završni rad

Sveučilište u Zagrebu
Prehrambeno-biotehnološki fakultet
Preddiplomski sveučilišni studij Nutricionizam
Zavod za biokemijsko inženjerstvo
Laboratorij za biologiju i genetiku mikroorganizama

ULOGA PROBIOTIKA U MODULACIJI IMUNOSNOG SUSTAVA

Doris Filipović, 58207874

Sažetak: Probiotički mikroorganizmi mogu djelovati modulacijski na imunosti sustav. Ovaj rad opisuje načine na koje je to ostvareno *in vivo* ili *in vitro*. Najčešće korišteni i istraživani probiotici su bakterije iz roda *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Streptococcus* te kvasac *Saccharomyces*. Probiotike možemo konzumirati u obliku prehrambenih proizvoda ili dodataka prehrani. Oni mogu inhibirati adheziju patogena na crijevni epitel, pojačati nespecifičnu imunostnu reakciju aktivacijom makrofaga i NK stanica i povećati razinu sekrecijskog imunoglobulina A (sIgA) u crijevima. Konzumacija probiotika pokazala je povoljno djelovanje u liječenju infekcija gornjih dišnih putova i ublažavanju simptoma kroničnih upalnih bolesti crijeva koje se pripisuje njihovom protuupalnom djelovanju. Osim toga, konzumacija probiotika tijekom trudnoće povećava razinu IgA u majčinom mlijeku. Iako postoje jaki dokazi za blagotvorno djelovanje probiotika, potrebna su daljnja istraživanja vezana za njihov učinak u liječenju različitih bolesti.

Ključne riječi: adhezija, imunomodulacija, inhibicija, mikrobiota, probiotik

Rad sadrži: 30 stranica, 8 slika, 4 tablice, 32 literaturnih navoda, 0 priloga

Jezik izvornika: hrvatski

Rad je u tiskanom i elektroničkom obliku pohranjen u knjižnici Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, Kačićeva 23, 10 000 Zagreb

Mentor: Izv. prof. dr. sc. *Lidija Šver*

Datum obrane: 16. srpnja 2018.

BASIC DOCUMENTATION CARD

Bachelor thesis

University of Zagreb
Faculty of Food Technology and Biotechnology
University undergraduate study Nutrition
Department of Biochemical Engineering
Laboratory for Biology and Microbial Genetics

ROLE OF PROBIOTICS IN MODULATION OF IMMUNE SYSTEM

Doris Filipović, 58207874

Abstract: Probiotic microorganisms can modulate the immune system. This paper describes the ways in which that is accomplished *in vivo* or *in vitro*. The most commonly used and investigated probiotics are bacteria from the *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Streptococcus* genus and *Saccharomyces* yeast. Probiotics can be consumed in the form of food products or dietary supplements. They can inhibit adhesion of pathogens to the intestinal epithelium, enhance non-specific immune response by activating macrophages and NK cells, and increase secretion of secretory immunoglobulin A (sIgA) in the intestine. Consumption of probiotics has shown beneficial effects in the treatment of upper respiratory infections and relief of symptoms in chronic inflammatory bowel disease attributed to their anti-inflammatory activity. In addition, probiotic consumption during pregnancy increases IgA levels in breast milk. Although there is strong evidence for the beneficial effects of probiotics, further research is needed to evaluate their effect in the treatment of various diseases.

Keywords: adhesion, immunomodulatory, inhibition, microbiota, probiotic

Thesis contains: 30 pages, 8 figures, 4 tables, 32 references, 0 supplements

Original in: Croatian

Thesis is printed and electronic form deposited in the library of the faculty of Food Technology and Biotechnology, University of Zagreb, Kačićeva 23, 10 000 Zagreb

Mentor: dr. sc. *Lidija Šver*, Associate Professor

Defence date: July 16th 2018

Sadržaj

1. UVOD	1
2. TEORIJSKI DIO	2
2.1. IMUNOST I IMUNOSNI SUSTAV.....	2
2.1.1. ORGANIZACIJA IMUNOSNOG SUSTAVA	2
2.1.2. NESPECIFIČNA (PRIROĐENA) IMUNOST	3
2.1.3. SPECIFIČNA (STEČENA) IMUNOST	6
2.2. PROBIOTICI	7
2.2.1. IZBOR PROBIOTIČKIH SOJEVA	7
2.2.2. PROBIOTIČKI MIKROORGANIZMI.....	8
2.2.3. PROBIOTICI U HRANI	10
2.3. GASTROINTESTINALNI TRAKT I GALT	10
2.4. ULOGA CRIJEVNE MIKROBIOTE	13
2.5. IMUNOMODULACIJA PROBIOTICIMA	14
2.5.1. INTERAKCIJA PROBIOTIKA I EPITELNE BARIJERE.....	15
2.5.2. INHIBICIJA ADHEZIJE PATOGENA.....	16
2.5.3. UTJECAJ NA NESPECIFIČNU IMUNOST	18
2.5.4. UTJECAJ NA SPECIFIČNU IMUNOST	21
2.5.5. ULOGA PROBIOTIKA U LIJEČENJU INFEKCIJA GORNJIH DIŠNIH PUTOVA	23
2.5.6. ULOGA PROBIOTIKA U LIJEČENJU KRONIČNIH UPALNIH BOLESTI CRIJEVA.....	24
2.5.7. IMUNOMODULACIJA PROBIOTICIMA U DOJENČADI	25
3. ZAKLJUČAK	27
4. LITERATURA	28

1. UVOD

Imunosni sustav je sustav organa i tkiva koji štiti organizam od napada stranih mikroorganizama, njihovih metaboličkih produkata te vlastitih izmijenjenih i istrošenih stanica. Prehrana je važna odrednica imunosnog odgovora i različite namirnice i prehrambeni proizvodi mogu djelovati modulacijski na imunosni sustav, pojačavajući njegov odgovor na invaziju određenih antigena.

Posebnu ulogu u modulaciji imunosnog sustava nose probiotici, koji različitim mehanizmima djelovanja mogu utjecati na imunosni odgovor i sve veći broj istraživanja potvrđuje njihov blagotvoran utjecaj na zdravlje. Probiotik je pojedinačna ili mješovita kultura živih mikroorganizama koji, primijenjeni u ljudi ili životinja, djeluju korisno na domaćina, poboljšavajući svojstva autohtone mikrobiote probavnog sustava. Prije nego određeni bakterijski soj dobije status probiotika, on prolazi kroz stroge izborne kriterije. Otprilike 70 % imunosnog sustava nađeno je u probavnom traktu te ono predstavlja glavno mjesto interakcije između domaćina i okoliša. Osim imunosnih tkiva i stanica u probavnom traktu, autohtona crijevna mikrobiota igra važnu ulogu u odgovoru na unesene antigene. Proučavanje crijevne mikrobiote te njena karakterizacija u zdravih i bolesnih pojedinaca mogla bi biti ključ novom pristupu liječenja prevladavajućih crijevnih bolesti, npr. kroničnih upalnih bolesti crijeva.

U ovom radu objašnjeni su mehanizmi djelovanja nespecifične i specifične imunosti, kriteriji prema kojima određena bakterijska vrsta dobiva status probiotika, uloga autohtone crijevne mikrobiote te mehanizmi djelovanja probiotika u modulaciji imunosnog sustava i liječenju određenih bolesti.

2. TEORIJSKI DIO

2.1. IMUNOST I IMUNOSNI SUSTAV

Organizam se mora oduprijeti brojnim prijetnjama da bi preživio u okolišu. Ulogu u obrani organizma od takvih prijetnji ima upravo imunosni sustav. Imunosni sustav nije lokaliziran, nego difuzno raštrkan sustav u organizmu te se u čovjeka sastoji od limforetikularnih organa i tkiva. Njegova je uloga zaštita organizma od infekcija virusima, bakterijama, drugim mikroorganizmima (protisti, gljive, biljke i životinje). Osim toga, imunosni sustav predstavlja obranu od tumora i općenito održavanje antigenske i genske homeostaze. U širem značenju, imunost uključuje sve obrambene reakcije u organizmu, a u užem značenju predstavlja samo specifičnu imunoreakciju (Andreis i sur., 2010). Imunost dijelimo na nespecifičnu (prirodenu) i specifičnu (stečenu). Nespecifična imunost čini prvu liniju obrane organizma i svojstvena mu je i prije kontakta s određenim uzročnikom bolesti, dok je specifična imunost usmjerena strogo prema onom antigenu koji je ušao u organizam i izazvao reakciju imunosnog sustava (Malenica, 2005). Antigen je bilo koja strana tvar koja može potaknuti imunosni odgovor. Specifičnu imunost prema mehanizmu dijelimo na humoralnu koja je posredovana protutijelima i staničnu koja je posredovana stanicama.

2.1.1. ORGANIZACIJA IMUNOSNOG SUSTAVA

Različite pokretne stanice imunosnog sustava udomljene su u potpurnu mrežu tkiva koja je građena od nepokretnih retikularnih stanica i vlakana (Andreis i sur., 2010). Limfne organe i tkiva možemo podijeliti na primarne (središnje) i sekundarne (periferne). Primarni limfni organi i tkiva opskrbljuju periferne zrele limfocite i tamo se njihova dioba odvija neovisno o prisutnosti antigena. Primarni limfni organi i tkiva su koštana srž i timus. S druge strane, u sekundarnim limfnim organima i tkivima dioba obrambenih stanica uvjetovana je prisutnošću antigena. Njih dijelimo na inkapsulirane i neinkapsulirane sekundarne limfne organe i tkiva. Inkapsulirani su limfni čvorovi i slezena, a neinkapsulirane čine krajnici (tonzile) te nakupine limfocita duž probavnog, dišnog, rasplodnog i mokraćnog trakta. Sve sastavnice imunosnog sustava prikazane su u Tablici 1.

Brojne su stanice uključene u imunoreakciju. Limfocitne stanice nositelji su svih vrsta specifične imunosti. Među njima razlikujemo limfocite T, limfocite B i prirodno ubilačke stanice (engl. *natural killer cells*, NK stanice). Fagociti, koje čine makrofagi, neutrofil i eozinofili, imaju glavnu ulogu u nespecifičnoj imunosti, a osim toga sudjeluju i u specifičnoj imunosti kao

predočne stanice (engl. *antigen-presenting cells*, APC), odnosno stanice koje prerađuju antigen i predočuju ga u sklopu molekula glavnog sustava tkivne podudarnosti (engl. *major histocompatibility complex*, MHC) skupine II. Predočne stanice se na kraju uključuju i u izvršnu fazu specifične imunosti. Posredničke stanice (mastociti, bazofili i trombociti) izlučuju različite kemijske tvari (medijatore) te se uključuju u već pokrenutu imunoreakciju, pojačavajući njen biološki učinak.

Tablica 1. Organizacija imunosnog sustava (Šver, 2017)

sastavnica	uloga
koža	•sprječava prodor virusa i bakterija u organizam
limfa	•prenosi leukocite i protutijela •prenosi viruse i bakterije do limfnih čvorova
limfne žile	•protjecanje limfe
limfni čvorovi	•filtracija virusa i bakterija iz limfe i njihovo uništavanje •pohrana leukocita
tonzile	•filtracija virusa i bakterija iz limfe i njihovo uništavanje •pohrana leukocita
Peyerove ploče	•filtracija patogena iz probavnog sustava •pohrana leukocita
krv	•prenosi leukocite i protutijela
koštana srž	•stvaranje leukocita •dozrijevanje limfocita B
slezena	•pohrana leukocita
timus	•dozrijevanje limfocita T

2.1.2. NESPECIFIČNA (PRIROĐENA) IMUNOST

Nespecifična imunost temelji se na anatomskim, fiziološkim i staničnim zaprekama te na upali. Prisutna je od rođenja u zdravih pojedinaca te sprječava ulazak mikroorganizama i brzo uklanja one koji uspiju ući u tkiva domaćina (Abbas i sur., 2017). Nespecifični imunosni sustav obnaša obrambene funkcije s manjom grupom reakcija od reakcija specifične imunosti koje su brojne, raznolike i usko specijalizirane. Receptori prirodene imunosti prepoznaju molekularne uzorke koji su karakteristični za određene mikroorganizme. Interakcija receptora i mikrobnih molekularnih uzoraka aktivira neutrofile, makrofage, NK stanice, komplement i produkciju citokina prirodene imunosti koji efikasno uklanjaju patogene mikroorganizme (Malenica, 2005). Molekule mikroorganizama koje stimuliraju prirodni imunosni sustav nazivaju se molekularni obrasci patogenih mikroorganizama (engl. *pathogen-associated*

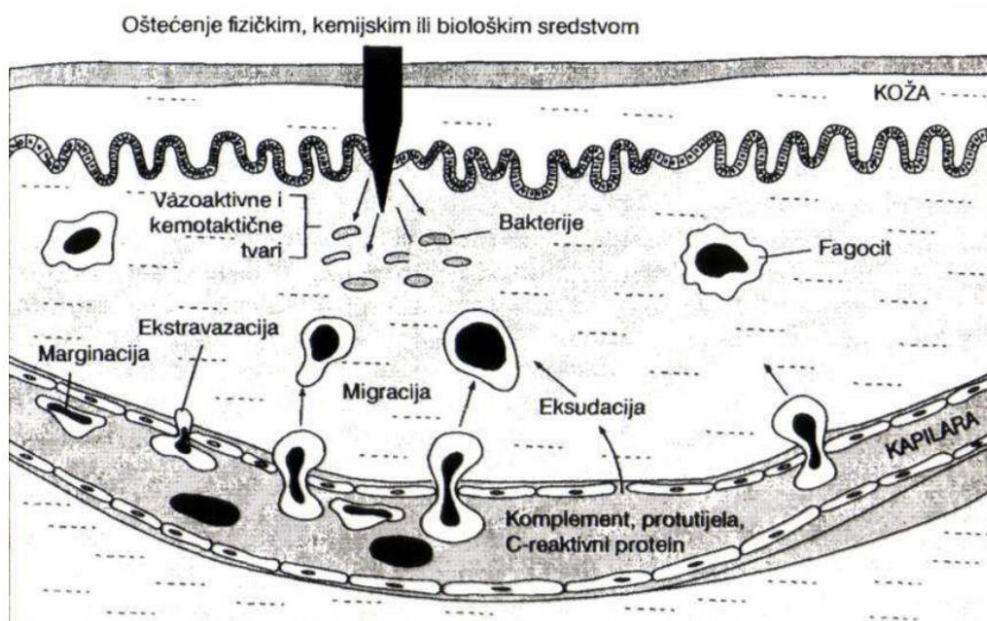
molecular patterns, PAMP), a receptori prirodne imunosti koji prepoznaju te zajedničke strukture nazivaju se receptori za obrasce (engl. *pattern recognition receptors*, PRR).

Anatomske zapreke mogu spriječiti prodor mikroorganizama u različita tkiva. Glavna mjesta dodira našeg tijela i vanjskog okoliša su koža i dišni, probavni te mokraćno-spolni sustav. Ta su mjesta zaštićena slojem epitela koji osigurava fizičku i kemijsku barijeru protiv infekcija. Epitelno tkivo pokriva vanjske i unutarnje površine tijela, a tijekom embrionalnog razvoja razvija se iz zametnih listića ektoderma ili endoderma. Osnovno obilježje epitela je građa od čvrsto prijanjajućih stanica koje čine mehaničku barijeru mikroorganizmima koji bi mogli ući u domaćina. Koža pokriva vanjsku površinu tijela, a građena je od dva sloja – dermisa i epidermisa. Keratin, strukturni protein kojeg stvaraju stanice epidermisa, služi kao zaštitna fizička zapreka prema mikroorganizmima. Epitelne stanice sluznice, koje pokrivaju unutarnje površine tijela, luče mukozni gel koji uz keratin također predstavlja fizičku zapreku. Epitelne stanice stvaraju i razne antimikrobne tvari, odnosno tvari koje nazivamo lokalnim kemijskim zaprekama. Masne kiseline kože, želučana kiselina i probavni enzimi čine mikrookoliš kiselim te na taj način djeluju inhibicijski na potencijalno patogene mikroorganizme. Lizozim je enzim koji razgrađuje β -(1,4)-glikozidne veze peptidoglikana u bakterijskoj staničnoj stijenci. Nalazi se u suzama i sekretima nosa, dišnog i probavnog sustava. Osim toga, lokalne kemijske zapreke su još i glikolipidi, laktoperoksidaza, laktoferini, lipaze, mukoproteini i defenzini koji liziraju membranu i ugrađuju pore u nju te na taj način inhibiraju rast i razmnožavanje patogena. Kompeticija mikroorganizama također čini anatomske zapreke, na način da normalna mikrobiota ometa razvoj patogenih mikroorganizama, npr. promjenom lokalnog pH, proizvodnjom toksičnih tvari te kompeticijom za hranjive tvari i receptore na površini stanica.

Razne fiziološke karakteristike organizma sprječavaju prodor ili razvoj mikroorganizama. Konstitucijske značajke tkiva, kao što su temperatura, pH i koncentracija kisika nisu pogodan okoliš za njih. Izvanstanične tjelesne tekućine sadrže različite tvari koje uzrokuju kemotaksiju (sposobnost pokretnih stanica da prepoznaju odgovarajući kemijski gradijent i na njega odgovore usmjerenim kretanjem) i opsonizaciju (oblaganje antigena protutijelima, odnosno ulomcima komplementa čime se pospješuje fagocitoza) što povećava učinkovitost obrane. Te su tvari čimbenici humoralne obrane, a neki od njih su prirodna protutijela, lizozim, interferon (IFN), C-reaktivni protein, β -lizin, komplementarni sustav i dr. Protutijela su proteini koji sudjeluju u obrani od različitih antigena. Prirodna protutijela stvorena su prije kontakta s antigenom i prisutna su u svih pripadnika jedne vrste. To su npr. protutijela protiv aglutinina na eritrocitima i protutijela protiv pneumokoka. Komplementarni sustav čini skupina od tridesetak proteina krvne plazme i ima tri glavne uloge u obrani organizma: opsonizacija i fagocitoza, upala i liza stanica (Abbas i sur., 2017).

Fagociti i NK stanice stanične su zapreke nespecifične imunosti. Neutrofili i monociti su vrste cirkulirajućih fagocita koji na mjestima infekcije prepoznaju i potom unište mikroorganizme mehanizmom fagocitoze. Fagocitoza je proces u kojem fagocit endocitozom unosi stranu česticu u sebe te ju potom uništava staničnim lizosomima (Andreis i sur., 2010). Neutrofili, također nazvani i polimorf nuklearni (PMN) leukociti najvećim se brojem nalaze u krvnoj plazmi. Prva su vrsta stanica koja reagira na infekcije, posebno bakterijske i gljivične. Neutrofili u cirkulaciji fagocitiraju mikroorganizme, a osim toga lako dolaze i na mjesta infekcije prelaskom iz vaskularnog u izvanvaskularni prostor – ekstravazacijom. Monociti tijekom upalne reakcije odlaze u izvanvaskularni prostor gdje diferenciraju u makrofage koji dulje preživljavaju u tkivima od neutrofila. Makrofagi stvaraju citokine koji potiču i reguliraju upalu, fagocitiraju mikroorganizme te razgrađuju mrtvo tkivo i potiču proces cijeljenja. Citokini su medijatori obrambenih reakcija domaćina, specifičnih i nespecifičnih, i imaju ključnu ulogu u mehanizmima eliminacije antigena (Abbas i sur., 2017).

Upala je složena reakcija tkiva na infekciju ili stanično oštećenje (Slika 1). Akutna upala često je reakcija prirodne imunosti. Upalne reakcije prvo napadaju štetnu tvar, a zatim zacijele ozljedu koja je nastala. Tijekom upale pojačano je gibanje leukocita i plazme iz cirkulacije na mjesto oštećenja. Akutnu upalu karakteriziraju crvenilo, povećana temperatura, oticanje, bol i gubitak funkcije. Osim toga, upala predstavlja uvod u svaku specifičnu imunoreakciju (Andreis i sur., 2010).



Slika 1. Događaji u upalnoj reakciji (Andreis i sur., 2010)

2.1.3. SPECIFIČNA (STEČENA) IMUNOST

Specifična imunost usmjerena je protiv točno određenog antigena koji je ušao u organizam i podražio imunosni sustav. U ovom kontekstu specifičnost označava da se svaka molekula, odnosno antigen prepoznaje specifično, posebnim receptorom. Ukupna populacija limfocita sastoji se od mnogo različitih klonova, a svaki klon limfocita na svojoj površini izražava isti specifični receptor za antigen, kojim se razlikuje od receptora na drugim klonovima. Teorija klonske selekcije ukazuje da se klonovi limfocita razvijaju prije susreta s antigenom te da svaki antigen izaziva imunosni odgovor aktivacijom klona limfocita specifičnog za taj antigen. Molekularni mehanizam specifičnosti i raznolikosti limfocita leži u somatskoj rekombinaciji gena koji kodiraju za varijabilne regije njihovih receptora. Stečenu imunost karakteriziraju primarna imunosna reakcija koja je zaslužna za specifičnu imunosnu memoriju i sekundarna imunosna reakcija - brža, jača i specifičnija reakcija koja slijedi nakon ponovnog susreta s istim antigenom. Prema mehanizmu djelovanja specifičnu imunost možemo podijeliti na humoralnu i staničnu, pri čemu su humoralni efektori protutijela, a stanični efektori limfociti (Andreis i sur., 2010).

Humoralna imunost je imunost posredovana protutijelima, a stvaraju se nakon ulaska nekog antigena u organizam, bilo slobodnog ili vezanog na površinu neke čestice. Diferencijacijom limfocita B nastaju plazma stanice koje sintetiziraju protutijela i izlučuju ih u izvanstaničnu tekućinu, odnosno plazmu i sekrete. Protutijela imaju dvostruku ulogu – jedan dio molekule prepoznaje i veže antigen, a drugi uključuje nespecifične mehanizme za uništavanje antigena.

Stanična imunost posredovana je pretežito limfocitima T i makrofagima. Limfociti T mogu djelovati izravno, odnosno citotoksično ili mogu lučiti produkte (citokine) koji na različite načine doprinose uništavanju ciljnih stanica, npr. aktivacijom makrofaga na fagocitozu fagocitiranih mikroorganizama.

Prema načinu stjecanja specifičnu imunost dijelimo na aktivnu, pasivnu i adaptivnu. Aktivna imunost je oblik imunosti koja se stječe aktivnošću organizma u dodiru s antigenom. Pasivna imunost stječe se prijenosom protutijela što ih je stvorio neki drugi organizam (prijenos protutijela iz imunog u neimuni organizam, npr. prijenos protutijela iz majke u dijete posteljicom ili kolostrumom). Adaptivna imunost je oblik pasivne imunosti koja se postiže prijenosom senzibiliziranih imunokompetentnih stanica iz imune u neimunu jedinku pri čemu se stanice nasele u domaćinu i obavljaju svoju uobičajenu funkciju (Andreis i sur, 2010).

2.2. PROBIOTICI

Riječ „probiotik“ potječe iz grčkog jezika, a u doslovnom prijevodu znači „za život“. Probiotik se suprotstavlja značenju antibiotika te se probiotici kao takvi i koriste u borbi protiv bolesti, smanjujući potrebu za korištenjem antibiotika te posljedično smanjujući i prevalenciju antibiotske rezistencije. Mikroorganizmi su nužni u proizvodnji fermentirane hrane već tisućama godina, a tijekom zadnjeg stoljeća koriste se zbog svoje sposobnosti da preveniraju i liječe različite bolesti. Tako su prvi puta Lilly i Stillwell upotrijebili riječ probiotik u svojem istraživanju 1965. godine i njome opisali tvar koju je izlučivao jedan mikroorganizam da bi poticao rast drugog mikroorganizma (Šušković i sur., 1997). Dobitnik Nobelove nagrade, Élie Metchnikoff, 1907. godine provodio je istraživanja o uzrocima nastajanja bolesti i tvrdio da konzumacija laktobacila pomaže kontroli endogenih intoksikacija te da je za zdrav i dug život bugarskih seljaka zaslužna konzumacija fermentiranih mliječnih proizvoda. Istraživanje Metchnikoffa prvo je koje je sugeriralo tvrdnju o probiotičkim učincima određenih bakterija (Oyetayo i Oyetayo, 2005). Tijekom daljnjih istraživanja mnogi su znanstvenici sudjelovali u definiranju probiotika, a Fuller je 1989. godine dao konačnu definiciju kakvu danas poznajemo. Probiotik je pojedinačna ili mješovita kultura živih mikroorganizama koji, primijenjeni u ljudi ili životinja, djeluju korisno na domaćina, poboljšavajući svojstva autohtone mikroflore probavnog sustava (Šušković i sur., 1997). Da bi proizvod na tržištu bio okarakteriziran kao probiotik, on mora sadržavati žive mikroorganizme (liofilizirane stanice ili žive stanice u fermentiranom proizvodu), mora unaprijediti zdravlje domaćina (čovjeka ili životinje) i svoje učinke mora ispoljavati u gastrointestinalnom traktu, gornjem dišnom traktu ili urogenitalnom traktu. Probiotički koncept podrazumijeva oralno uzimanje živih, korisnih mikroorganizama koje nazivamo probioticima, radi postizanja pozitivnog učinka na zdravlje (Šušković i sur., 2009). Danas probiotike možemo unositi konzumacijom raznih namirnica, a osim toga možemo ih konzumirati i u obliku različitih dodataka prehrani.

2.2.1. IZBOR PROBIOTIČKIH SOJEVA

Spoznaja da sastav crijevne mikrobiote znatno utječe na ljudsko zdravlje potaknuo je velik broj istraživanja sa svrhom dokazivanja mikroorganizama koji bi mogli dobiti status probiotika. Da bi se određeni mikroorganizam koristio u probiotičke svrhe, on prethodno mora zadovoljiti izbornu strategiju koja je stroga i složena. Općenito, zahtjeve za izbor probiotičkih sojeva dijelimo na opće, tehnološke i funkcionalne. Svi zahtjevi za izbor probiotičkih sojeva prikazani su u Tablici 2.

Tablica 2. Kriteriji za izbor probiotičkih sojeva (Šušković i sur., 2009)

1.	točna taksonomska identifikacija	OPĆI KRITERIJI
2.	humano podrijetlo za humane probiotike	
3.	netoksičnost i nepatogenost	
4.	genetička stabilnost	
5.	otpornost prema žučnim solima	
6.	otpornost prema niskim pH vrijednostima	
7.	stabilnost poželjnih karakteristika tijekom pripreve kulture, skladištenja i isporuke	TEHNOLOŠKI KRITERIJI
8.	visoka razina broja živih bakterija u probiotičkom proizvodu ($10^6 - 10^8 \text{ ml}^{-1}/\text{g}^{-1}$)	
9.	brzo i lako razmnožavanje, izdvajanje, koncentriranje, smrzavanje i liofiliziranje tijekom procesa pripreve probiotičkih kultura te visok stupanj preživljavanja za vrijeme čuvanja i distribucije	
10.	dobivanje željenih organoleptičkih svojstava kad su uključeni u fermentacijske procese	
11.	sposobnost preživljavanja, razmnožavanja i metaboličke aktivnosti u ciljanom području primjene u organizmu	FUNKCIONALNI KRITERIJI
12.	sposobnost adhezije i kolonizacije crijevnog epitela	
13.	produkcija antimikrobnih supstancija, uključujući bakteriocine, vodikov peroksid i organske kiseline	
14.	antagonistička aktivnost prema patogenim i kariogenim bakterijama	
15.	mogućnost kompeticije sa sudionicima normalne mikroflore, uključujući iste ili srodne vrste, otpornost prema bakteriocinima, kiselinama ili drugim antimikrobnim supstancijama koje proizvodi autohtona mikroflora	
16.	imunomodulacijski učinak	
17.	sposobnost iskazivanja jednog ili više klinički dokumentiranih korisnih učinaka na zdravlje	

2.2.2. PROBIOTIČKI MIKROORGANIZMI

Probiotički potencijal određenih bakterijskih sojeva različit je čak i među istom bakterijskom vrstom. Pojedini sojevi unutar iste vrste mogu imati različita područja prijanjanja na mukoznoj membrani, različite imunosne učinke i različito djelovanje u odnosu na zdravu i upaljenu sluznicu. Trenutna istraživanja proučavaju sastav mikrobiote zdravih pojedinaca te također i njihove zasebne koncentracije u pojedinom dijelu probavnog trakta. Takve spoznaje mogu pomoći u razumijevanju interakcija domaćina i mikroorganizama crijevne mikrobiote te direktnih interakcija među samim mikroorganizmima koji ju čine. Cilj takvih istraživanja je definirati i karakterizirati mikroorganizme koji bi mogli poslužiti kao izvor probiotika za buduće

terapijsko djelovanje na bolesti probavnog sustava (Socol i sur., 2010). Specifičnost soja u probiotičkim učincima temelj je istraživanja probiotika već desetljećima (Sanders i sur., 2018).

Mikroorganizmi koji se najčešće koriste u probiotičkim pripravcima uključuju bakterijske rodove *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* i *Streptococcus* te rod kvasca *Saccharomyces*, a ostali mikroorganizmi navedeni su u Tablici 3.

Tablica 3. Mikroorganizmi korišteni u probiotičkim pripravcima (Kerry i sur., 2018)

ROD	VRSTE
<i>Lactobacillus</i>	<i>L. plantarum</i> , <i>L. paracasei</i> , <i>L. acidophilus</i> , <i>L. casei</i> , <i>L. rhamnosus</i> , <i>L. crispatus</i> , <i>L. gasseri</i> , <i>L. reuteri</i> , <i>L. bulgaricus</i>
<i>Propionibacterium</i>	<i>P. jensenii</i> , <i>P. freudenreichii</i>
<i>Peptostreptococcus</i>	<i>P. productus</i>
<i>Bacillus</i>	<i>B. coagulans</i> , <i>B. subtilis</i> , <i>B. laterosporus</i>
<i>Lactococcus</i>	<i>L. lactis</i> , <i>L. reuteri</i> , <i>L. rhamnosus</i> , <i>L. casei</i> , <i>L. acidophilus</i> , <i>L. curvatus</i> , <i>L. plantarum</i>
<i>Enterococcus</i>	<i>E. faecium</i>
<i>Pediococcus</i>	<i>P. acidilactici</i> , <i>P. pentosaceus</i>
<i>Streptococcus</i>	<i>S. sanguis</i> , <i>S. oralis</i> , <i>S. mitis</i> , <i>S. thermophilus</i> , <i>S. salivarius</i>
<i>Bifidobacterium</i>	<i>B. longum</i> , <i>B. catenulatum</i> , <i>B. breve</i> , <i>B. animalis</i> , <i>B. bifidum</i>
<i>Bacteroides</i>	<i>B. uniformis</i>
<i>Akkermansia</i>	<i>A. muciniphila</i>
<i>Saccharomyces</i>	<i>S. boulardii</i>

Istraživanja su pokazala, i dalje pokazuju, da su određene vrste mikroorganizama korisne za ljudsko zdravlje. Broj testiranih sojeva je velik i raspon njihovih povoljnih učinaka na zdravlje je širok. Bakterije iz roda *Lactobacillus* i *Bifidobacterium*, tradicionalno se koriste kao probiotici, a svoju su popularnost u proizvodnji probiotičkih pripravaka zaslužile svojim blagotvornim učinkom na zdravlje i posjedovanjem GRAS (engl. *generally regarded as safe*) statusa (Collins i sur., 1998).

Bakterije mliječne kiseline (engl. *lactic acid bacteria*, LAB) su gram-pozitivni, nesporogeni mikroorganizmi čiji je glavni produkt metabolizma mliječna kiselina. Bakterije mliječne kiseline obuhvaćaju velik broj vrsta koje pripadaju rodovima: *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Pediococcus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Bifidobacterium*, *Carnobacterium*, *Enterococcus* i *Sporolactobacillus* (Šušković i sur., 1997). LAB su najčešće korištene bakterije kao starter kulture za industrijsku proizvodnju fermentiranih mliječnih proizvoda, mesa, povrća

i žitarica. Svojim metabolizmom, iz šećera proizvode organske kiseline, čime snižavaju mikrokolišni pH te na taj način mogu djelovati i kao prirodni konzervansi. Osim toga, bakterije mliječne kiseline istim produktima kojima djeluju na trajnost hrane, djeluju inhibicijski na patogene mikroorganizme u probavnom traktu domaćina. Antimikrobnu aktivnost bakterija mliječne kiseline pripisujemo proizvodnji metabolita male molekularne mase (<1000 Da), kao što su organske kiseline (mliječna i octena), etanol i acetaldehid te proizvodnji metabolita veće molekularne mase – bakteriocina (>1000 Da). Bakteriocini su proteinske molekule s antimikrobnim djelovanjem prema srodnim bakterijskim vrstama (Šušković i sur., 2010).

2.2.3. PROBIOTICI U HRANI

Probiotike danas možemo smatrati funkcionalnom hranom. Hrana se definira kao funkcionalna ako sadrži sastojke koji pozitivno djeluju na jednu ili više ciljanih funkcija u tijelu. Hranu možemo modificirati i učiniti ju funkcionalnom dodavanjem određenih probiotičkih kultura. Najpoznatiji izvori probiotika su mliječni proizvodi, a osim njih dobri izvori probiotika mogu biti i fermentirano povrće (kiseli krastavci, kupus), kombucha, tempeh i kruh od kiselog tijesta (Kerry i sur., 2018).

2.3. GASTROINTESTINALNI TRAKT I GALT

Gastrointestinalni trakt predstavlja najveće sučelje između ljudskog organizma i vanjskog okoliša, a na površinama sluznica dolazi do primarnog dodira s antigenima. Intestinalne epitelne stanice predstavljaju fizičku barijeru između intestinalog lumena gdje su prisutni mikroorganizmi i dubljih slojeva intestinalnog tkiva. Probavni sustav čovjeka sastoji se od probavne cijevi te pomoćnih organa i struktura, a njegova je uloga unos hrane (ingestija), probavljanje hrane (digestija), upijanje hranjivih sastojaka (apsorpcija) i izbacivanje neprobavljenog i neapsorbiranog dijela hrane (defekacija). Gastrointestinalni trakt, odnosno probavna cijev, građen je od usne šupljine, ždrijela, jednjaka, želuca, tankog crijeva, debelog crijeva, stražnjeg crijeva i crijevnog otvora. Svi dijelovi gastrointestinalnog trakta u osnovi imaju istu histološku građu stijenke. Od unutarne prema vanjskoj površini stijenka se sastoji od četiri sloja: sluznice ili mukoze, podsluznice, mišićnog sloja i seroze. Stijenka tankog crijeva razlikuje se u tome što sadrži dodatne strukture koje povećavaju apsorpcijsku površinu – brojni kružni nabori, zatim izdanci epitela koji se nazivaju crijevne resice (vili) i pojedine epitelne

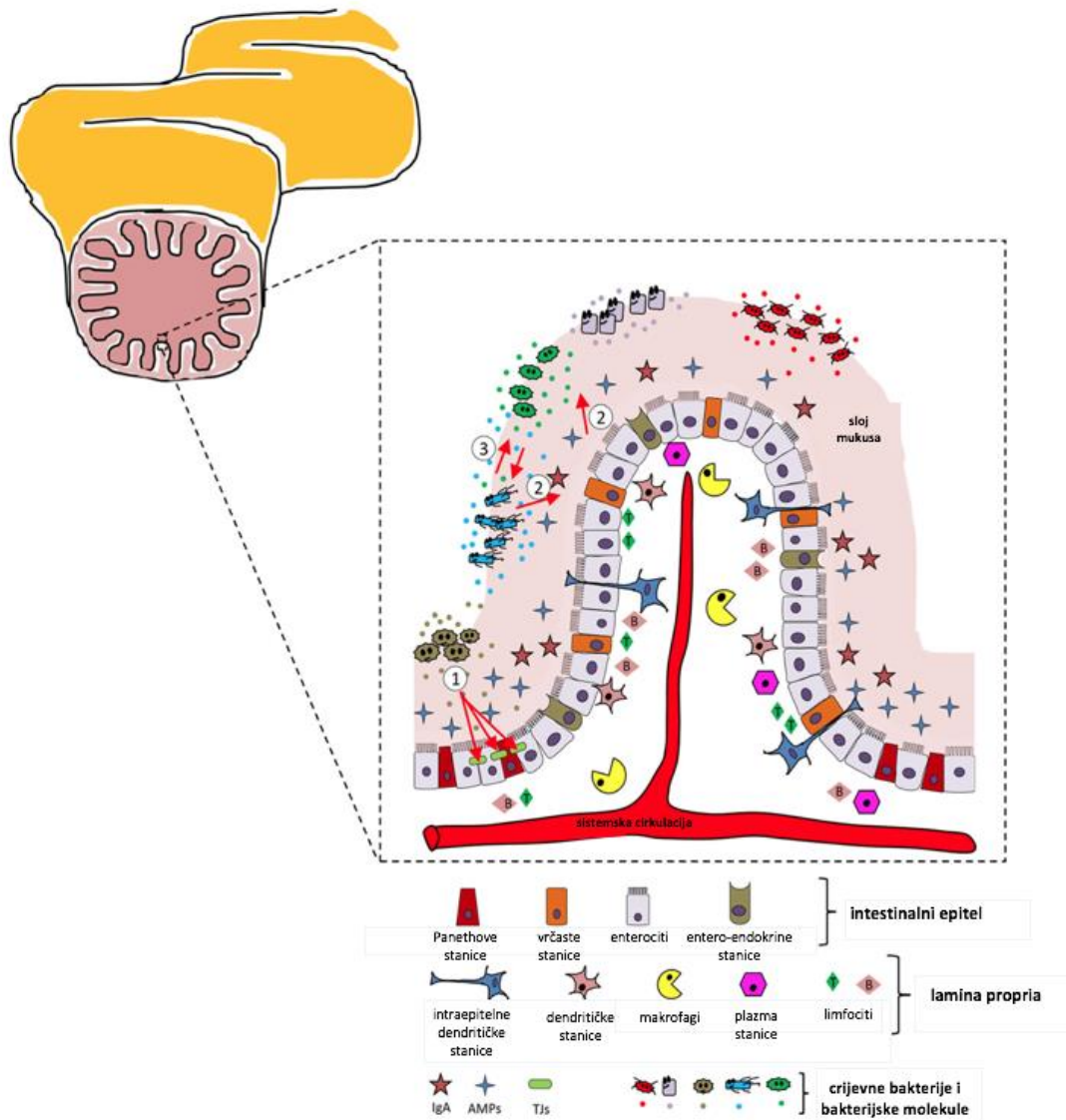
stanice koje imaju mnoštvo sitnih izdanaka – mikroresica (mikrovili). To čini apsorpcijsku površinu iznimno velikom te ona iznosi oko 300 m² (Collins i sur., 1998).

Osim toga u stijenku crijeva uključeno je i limfoidno tkivo pridruženo sluznici probavila (engl. *gastrointestinal associated lymphoid tissues*, GALT). Mukozne membrane su jedinstveni okoliš u kojem razne bakterijske vrste imaju sposobnost preživljavanja i izražavanja svojih učinaka. Na površinama tih membrana živi oko 10¹⁴ bakterija 200 različitih vrsta. Od cijele bakterijske populacije mukoznih membrana, 99 % čine bakterije koje se nalaze u distalnom dijelu tankog crijeva i proksimalnom dijelu debelog crijeva (Herich i Levkut, 2002). Limfoidno tkivo pridruženo sluznicama (engl. *mucosal associated lymphoid tissues*, MALT) anatomski možemo podijeliti na četiri odjeljka: probavni (GALT), nazalni, dišni i urogenitalni. Podjela na ove odjeljke važna je jer imunizacija na određenom mjestu zaštićuje samo to mjesto, odnosno u ovom slučaju ne dolazi do sistemskog odgovora. Mukozna imunost prva je linija obrane koja smanjuje potrebu za sistemskom imunosti. Sastoji se od fizičkih (građa same sluznice i mukus), molekularnih (antimikrobni proteini) i staničnih komponenti koje sinergistički djeluju u sprječavanju mikrobnog naseljavanja organizma.

Od cjelokupnog imunskog sustava, oko 70 % nađeno je u probavnom sustavu. U imunskom sustavu probavnog trakta, GALT-u, intestinalne populacije dendritičkih stanica ključne su u imunomodulacijskom učinku komenzalnih i probiotičkih bakterija (Ashraf i Shah, 2014). Dendritičke stanice ime su dobile po dugačkim membranskim izdancima (dendritima). One sakupljaju proteinske antigene mikroorganizama, koji prodiru kroz epitel i prenose ih do regionalnih limfnih čvorova gdje dijelove tih antigena predočavaju limfocitima T. Dakle, dendritičke stanice spadaju u skupinu predočnih stanica.

GALT se proteže kroz intestinalni trakt, a odvojen je od lumena crijeva slojem epitelnih stanica, odnosno nalazi se u sloju kojeg nazivamo *lamina propria*. Spomenute epitelne stanice, enterociti, prekrivene su slojem sluzi (mukusa), viskozne koloidne tekućine sastavljene od glikoproteina mucina, anorganskih soli i vode, kojoj je primarna uloga zaštita stanica od niskog pH prisutnog u lumenu. Mukus proizvode vrčaste stanice, umetnute između ostalih stanica epitelnog jednosloja. Osim vrčastih stanica i enterocita, u epitel su ugrađene i Panethove stanice koje se nalaze na dnu kripti i tamo proizvode različite antimikrobne tvari. U lamini propriji prisutan je i limfatički cirkulacijski sustav koji je povezan s mezenterijskim limfnim čvorićima. GALT, kao i mezenterijski limfni čvorići mjesta su mogućih imunskih reakcija. Peyerove ploče također su dio limfoidnog tkiva pridruženog sluznici probavila, a čine ih nakupine limfnih stanica u submukozi tankog crijeva. Većina limfocita B Peyerovih ploča sintetizira imunoglobulin A (IgA), između i iznad zametnih čvorića nalazi se zona limfocita T, a osim toga sastoji se i od posebno specijaliziranih stanica M (engl. *microfold cells*) koje

procesom endocitoze unose antigene iz lumena i prenose ih do limfocita u lamini proprijji. Građa intestinalne barijere i glavnih imunskih stanica prikazana je na Slici 2.



Slika 2. Shema intestinalne barijere. Preuzeto i prilagođeno iz La Fata i sur. (2018).

Sekrecijski imunoglobulin A (sIgA) je najzastupljeniji imunoglobulin nađen na mukoznim membranama u sisavaca. Sekrecijski IgA otporan je na uobičajene proteaze iz crijeva i ne aktivira komplement, što znači da ne potiče upalnu reakciju. Zaštićuje sluznicu na način da inhibira adheziju patogena, neutralizira viruse, enzime, toksine i odstranjuje antigene kako bi spriječio prejak imunski odgovor na njih. Produkcija sIgA ovisi o složenim mehanizmima uključujući uzimanje antigena posredovano M stanicama, procesiranje predočnim stanicama, aktivaciju limfocita T pa aktivaciju limfocita B nakon koje slijedi

prekapčanje izotipa na IgA. Probiotičke i nepatogene komenzalne bakterije pojačavaju sekreciju protutijela sIgA i time potiču intestinalno imunosno isključenje i eliminaciju patogena (Corthésy i sur., 2007).

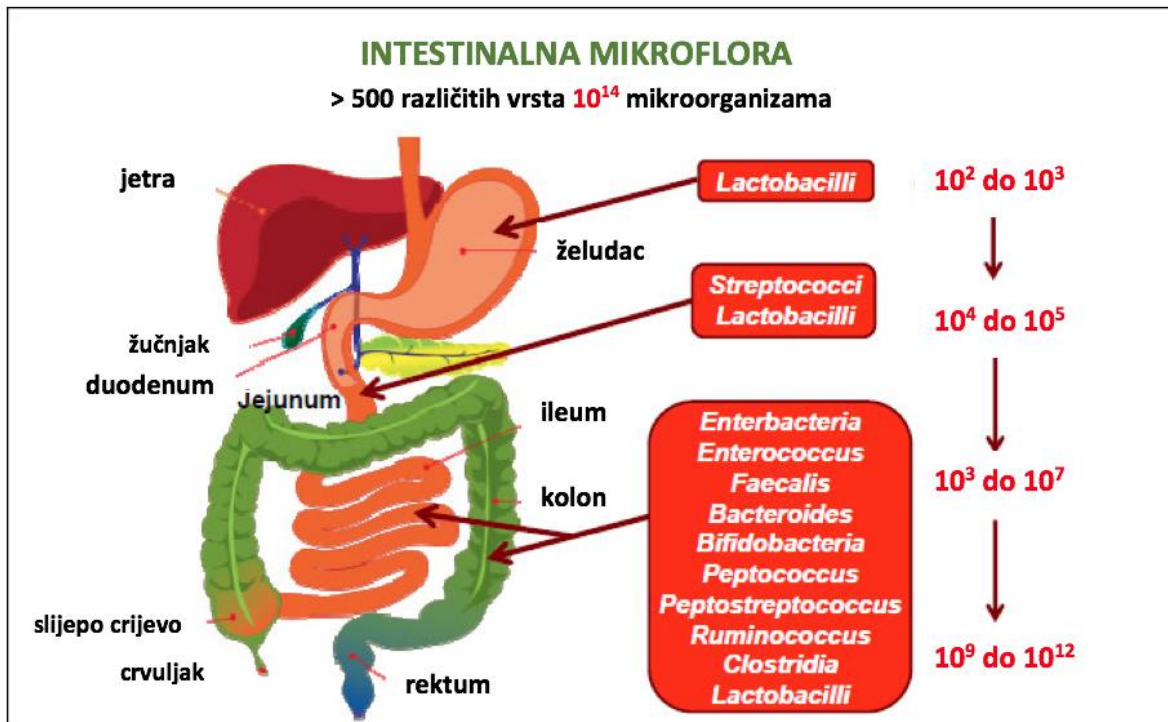
2.4. ULOGA CRIJEVNE MIKROBIOTE

Humani probavni trakt kompleksan je ekosustav i domaćin je više od 10^{14} mikroorganizama, broju koji je 10 do 20 puta veći od broja stanica u tijelu, a masa tih mikroorganizama iznosi između 900 i 1200 g. Sastoji se od barem tisuću različitih mikrobnih vrsta, uključujući bakterije, gljive, kvasce, viruse i arheje (Pagliari i sur., 2018). Sastav crijevne mikrobiote mijenja se i drugačiji je među jedinkama u populaciji kao i u samoj jedinki ovisno o starosnoj dobi. Mikrobiota probavnog trakta igra važnu ulogu u anatomskom, fiziološkom i imunosnom razvitku domaćina. Sastoji se od mnogih vrsta (Slika 3) koje pripadaju rodovima *Bacteroides*, *Clostridium*, *Bifidobacterium*, *Enterococcus*, *Lactobacillus* i dr. Dominantna flora čini oko 90 % ukupne populacije, a u suštini čine ju bakterije iz rodova *Bifidobacterium* i *Lactobacillus*, dok s druge strane *Enterococcus* i *Escherichia coli* čine manje od 1 % ukupnih intestinalnih mikroorganizama. Rezidualna flora, koja je fluktuirajuća, raznovrsnija je i sadrži potencijalno patogene vrste (Herich i Levkut, 2002).

Interakcije između humanog organizma i mikrobiote možemo promatrati kao simbiozu, odnosno sustav u kojemu oba sudionika imaju koristi jedno od drugog. Uloge crijevne mikrobiote u organizmu uključuju iskorištavanje nutrijenata i metaboličku aktivnost, otpornost prema infekcijama te sazrijevanje imunosnog sustava. Metabolička funkcija očituje se kroz fermentaciju neprobavljenih ugljikohidrata i endogenog mukusa koji su glavni izvori ugljika i energije za rast bakterija u debelom crijevu. One svojim metabolizmom proizvode kratkolančane masne kiseline (octenu, propionsku i maslačnu) koje se resorbiraju u enterocitima (crijevnim epitelnim stanicama) i tamo pomažu mnoge fiziološke procese, posebno maslačna kiselina koja služi kao izvor energije za enterocite. Prevencijom kolonizacije egzogenih, patogenih mikroorganizama crijevna mikrobiota ima zaštitnu funkciju, a sazrijevanje imunosnog sustava uključuje povećanje broja imunosnih stanica, serumskih imunoglobulina i dr.

Rođenjem započinju interakcije između domaćina i mikrobiote, pri čemu se vjeruje da je do tada domaćin bio sterilan, iako su nedavna istraživanja detektirala mikroorganizme u amnionskoj tekućini, placenti, mekoniju i pupčanoj vrpici. Prema tome, raznovrsnost mikrobiote nakon rođenja primarno ovisi o majčinoj mikrobioti. Osim toga, ostali čimbenici koji utječu na

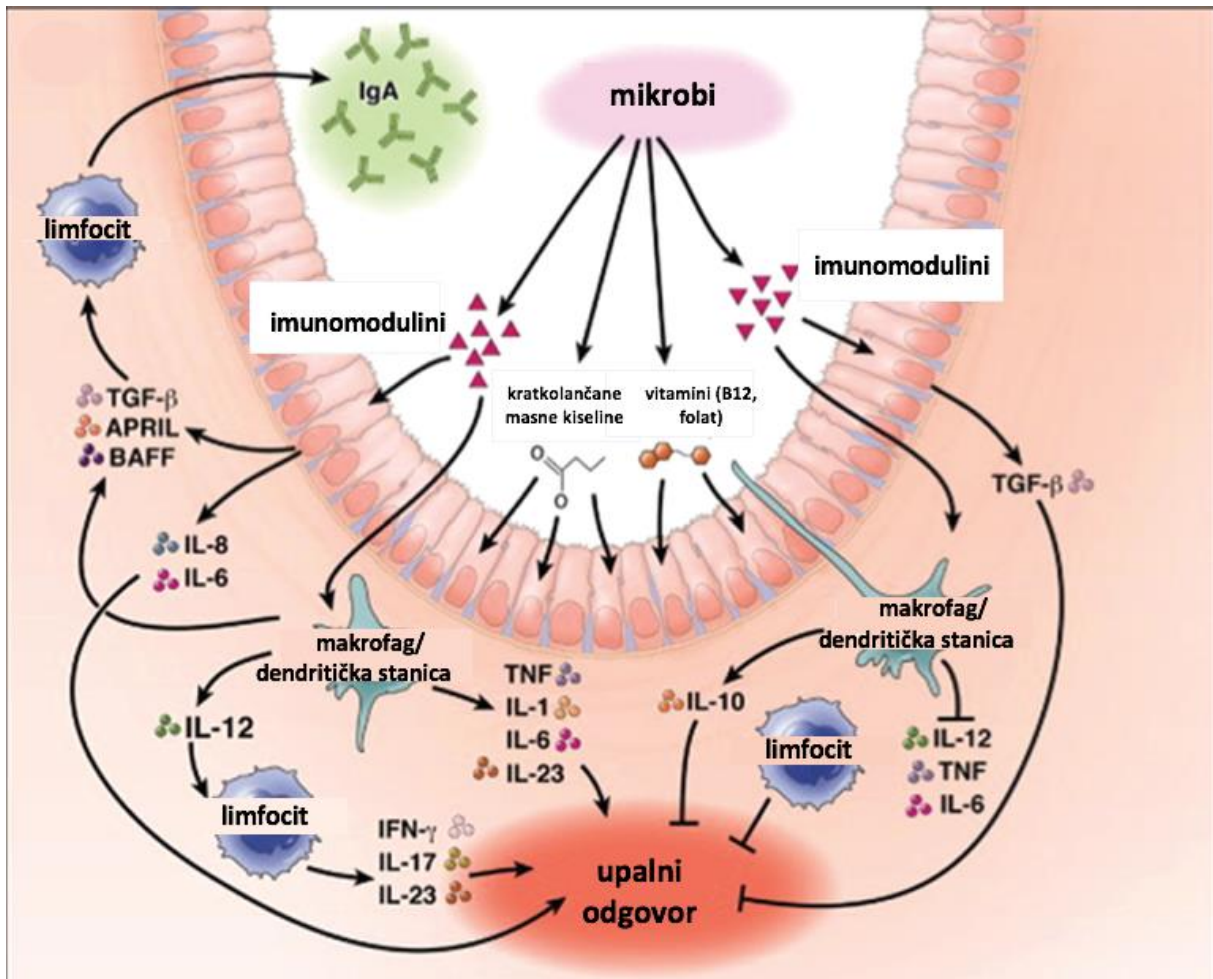
raznovidnost mikrobiote su dojenje te korištenje antibiotika rano tijekom života (La Fata i sur., 2018).



Slika 3. Sastav humane intestinalne mikroflore. Preuzeto i prilagođeno iz Konturek i sur. (2015).

2.5. IMUNOMODULACIJA PROBIOTICIMA

Među brojnim navodima zdravstvenih dobrobiti koje se prepisuju probiotičkim bakterijama, njihovu sposobnost interakcije s imunskim sustavom domaćina sada podržava sve veći broj *in vitro* i *in vivo* istraživanja. Probiotici posjeduju fiziološka svojstva kojima mogu djelovati modulacijski na imunski sustav (Slika 4). Njihovi učinci na imunski sustav uključuju (1) povećanje aktivnosti makrofaga i/ili NK stanica, (2) povećanu sekreciju imunoglobulina i/ili citokina, (3) poboljšanje intestinalne epitelne barijere, (4) preinaku sekrecije mukusa i (5) kompetitivno isključenje ostalih (patogenih) mikroorganizama (La Fata i sur., 2018).



Slika 4. Mehanizmi imunomodulacije korisnim mikrobima. Preuzeto i prilagođeno iz Hemarajata i Versalovic (2013).

2.5.1. INTERAKCIJA PROBIOTIKA I EPITELNE BARIJERE

Arhitektura površine probiotičkih sojeva važan je čimbenik u sposobnosti njihove interakcije s intestinalnim epitelom, mukusom i receptorima za prepoznavanje obrazaca (PRR) koji su dio mukoznih membrana domaćina. Makromolekule na površini stanične stijenke probiotičkih bakterija važne su za imunomodulacijski učinak. Te makromolekule stupaju u interakciju s PRR receptorima enterocita, makrofaga i dendritičkih stanica koje ih specifično prepoznaju. Na površini probiotičkih bakterija nalaze se: peptidoglikan, teihoična kiselina stanične stijenke (WTA) i lipoteihoična kiselina (LTA), egzopolisaharidi, proteini vezani uz površinski sloj (engl. *surface layer associated proteins*, SLAPs), proteini koji vežu mucine (engl. *mucin-binding proteins*, MUBs), proteini koji vežu fibronektin i pili. Navedene mikrobne makromolekule zajedničkim imenom nazivamo MAMPs (engl. *microbial associated molecular patterns*, MAMPs). U nedavnim istraživanjima s bakterijskom vrstom *Lactobacillus acidophilus* otkriveno je da na površinskom sloju postoje mnogostruki SLAP proteini i da su labavo ugrađeni

među glavnim proteinom površinskog sloja – SlpA. Oni vjerojatno djeluju kao ekstracelularni površinski proteini koji stupaju u interakcije s mukoznim membranama i pritom pokazuju značajne imunosne, fiziološke i enzimatske učinke (Sanders i sur., 2018).

PRR receptori prisutni su na stanicama sustava urođene imunosti i na površini enterocita. Zajednička svojstva receptora su eliminiranje bakterija, adhezija bakterija i aktivacija komplementa. U njih ubrajamo receptore čija građa sliči Toll proteinu (engl. *Toll-like receptors*, TLR), receptore slične NOD-u (engl. *Nucleotide Oligomerization Domain-like receptors*, NLR), lektinske receptore i dr. Lektinski receptori vežu šećerne ostatke na stijenkama mikroorganizama (npr. manozu), a TLR receptori mogu biti smješteni na membrani, gdje prepoznaju izvanstanične produkte mikroorganizama, ili u citosolu, gdje prepoznaju mikrobne produkte nastale unutar stanice (Andreis i sur., 2010). Aktivacijom TLR receptora nastaju signali koji potiču transkripciju gena koji kodiraju za citokine, enzime i druge proteine koji sudjeluju u antimikrobnim funkcijama aktiviranih fagocita i drugih stanica (Abbas i sur., 2017). Dendritičke stanice i makrofagi izražavaju na membrani receptore TLR i NOD, koji nakon vezanja antigena mikroorganizama pojačavaju izražaj MHC molekula i kostimulacijskih molekula, povećavajući učinkovitost predočavanja antigena i lučenja citokina, koji susljedno aktiviraju limfocite T (Andreis i sur., 2010).

2.5.2. INHIBICIJA ADHEZIJE PATOGENA

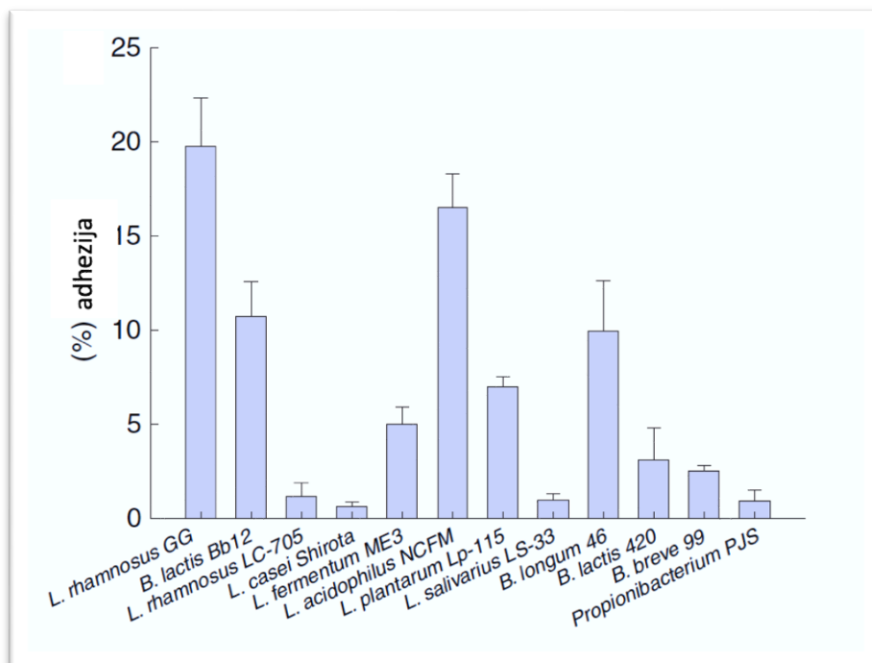
Glavne funkcije mukusa na epitelnim površinama su zaštita stanica od grubog luminalnog okoliša (niski pH, probavni enzimi), olakšavanje prolaza hrane i izbjegavanje čvrste adhezije bakterija na epitelne stanice sprječavajući njihov ulazak u laminu propriju. Na taj način sloj mukusa igra važnu ulogu u sprječavanju upalnih i infektivnih bolesti.

Određeni probiotički sojevi pokazali su mogućnost regulacije ekspresije gena za proizvodnju glikoproteina mucina te na taj način utječu na svojstva mukoze i neizravno reguliraju intestinalni imunosni sustav. Probiotički soj *Lactobacillus plantarum* 299v reducirao je adheziju enteropatogene vrste *Escherichia coli* na intestinalni epitel HT-29 stanične linije (stanice humanog raka kolona koje iskazuju karakteristike zrelih crijevnih stanica, kao što su vrčaste stanice). Inkubacija soja *L. plantarum* 299v s HT-29 staničnom linijom povećala je ekspresiju *MUC2* i *MUC3* gena sugerirajući da ovaj probiotik potiče stanice na lučenje mucina koji smanjuje vezanje patogena na mukozne epitelne stanice. Još jedan probiotički soj koji je pokazao mogućnost regulacije gena za mucin je *Lactobacillus casei* GG. U više *in vitro* modela pokazano je da je *L. casei* GG inhibirao translokaciju određenih patogenih bakterija koje su

prijanjale na receptore kultiviranih enterocita preko pozitivne regulacije ekspresije *MUC2* gena (La Fata i sur., 2018).

Važna karakteristika probiotičkih sojeva je sposobnost adhezije na mukozi. Probiotički sojevi mogu se natjecati za vezna mjesta na intestinalnom epitelu s patogenim mikroorganizmima te na taj način inhibirati njihovu adheziju. Adhezija na epitelne stanice važan je korak za patogene i probiotičke bakterije što omogućuje potencijalnu interakciju između njih.

Istraživanje Colladoa i sur. (2007) kao cilj imalo je procijeniti *in vitro* mogućnosti komercijalnih probiotičkih bakterija, izvedenih iz fermentiranih mliječnih proizvoda, da inhibiraju adheziju određenih potencijalnih patogenih mikroorganizama na ljudsku mukozi. Adheziju su procijenili mjereći radioaktivitet bakterija vezanih na epitel, a inhibiciju adhezije patogena računali su iz razlike adhezije u odsutnosti i prisutnosti probiotičkih sojeva. Testirano je 12 probiotičkih sojeva od kojih su svi pokazali mogućnost vezanja na mukozi (Slika 5), međutim velika je razlika u sposobnosti adhezije ovisno o korištenom soju. Najbolju mogućnost adhezije pokazali su sojevi *L. rhamnosus* GG (19,7 %), *L. acidophilus* NCFM (16,5 %) i *B. lactis* Bb12 (10,7 %), a najmanju mogućnost adhezije pokazali su *L. casei* Shirota (0,6 %) i *L. salivarius* LS-33 (1,0 %).



Slika 5. Adhezija komercijalnih probiotičkih bakterija na intestinalnu mukozi. Preuzeto i prilagođeno iz Collado i sur. (2007).

Osim adhezije za intestinalnu mukozi, svaki soj bio je u stanju inhibirati adheziju sljedećih vrsta patogenih mikroorganizama: *Bacteroides*, *Clostridium*, *Staphylococcus* i

Enterobacter (Tablica 4). Probiotici bi mogli biti korisni u poboljšanju crijevne mikrobiote koja je asocirana s određenim bolestima gastrointestinalnog sustava te u prevenciji infekcija uzrokovanih patogenim mikroorganizmima (Collado i sur., 2007).

Tablica 4. Inhibicija adhezije patogena probiotičkim bakterijama. Preuzeto i prilagođeno iz Collado i sur. (2007).

Strains	% inhibicije adhezije							
	<i>Bacteroides vulgatus</i>	<i>Clostridium histolyticum</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Clostridium difficile</i>	<i>Salmonella Typhimurium</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Enterobacter aerogenes</i>	<i>Escherichia coli</i>
<i>L. rhamnosus</i> GG	32.8 ± 9.9	43.1 ± 5.10	41.2 ± 7.0	40.2 ± 12.5	3.7 ± 1.9*	-10.9 ± 7.3	42.8 ± 5.2	-20.6 ± 13.0
<i>B. lactis</i> Bb12	24.73 ± 4.6	12.0 ± 3.0	48.0 ± 3.6	27.8 ± 6.4	5.2 ± 3.8	25.7 ± 8.0	42.7 ± 9.0	-27.9 ± 4.5
<i>L. rhamnosus</i> LC705	37.9 ± 6.9	32.4 ± 5.7	32.3 ± 4.6	23.3 ± 9.3	25.6 ± 12.0	-10.8 ± 8.5*	32.1 ± 7.0	-35.4 ± 13.0
<i>L. casei</i> Shirota	44.33 ± 1.1	22.1 ± 5.6	28.8 ± 8.0	23.5 ± 1.8	-5.8 ± 4.0*	-6.9 ± 3.0*	35.5 ± 2.8	-44.4 ± 12.0
<i>L. fermentum</i> ME3	35.7 ± 15.0	29.3 ± 3.7	28.6 ± 6.9	29.4 ± 8.1	12.3 ± 9.4	-19.1 ± 5.5	36.7 ± 7.6	-44.6 ± 14.1
<i>L. acidophilus</i> NCFM	46.7 ± 5.6	29.1 ± 8.3	45.7 ± 6.2	33.5 ± 10.0	-9.2 ± 6.5	15.4 ± 4.2	41.3 ± 6.6	-42.6 ± 15.2
<i>L. plantarum</i> Lp-115	30.8 ± 1.5	20.52 ± 4.5	33.4 ± 6.2	35.7 ± 13.6	-5.6 ± 3.5*	7.4 ± 2.2	30.0 ± 4.0	-46.2 ± 11.0
<i>L. salivarius</i> LS-33	35.9 ± 6.6	21.2 ± 9.0	37.0 ± 7.0	40.3 ± 16.0	-4.8 ± 4.0*	6.0 ± 1.8	36.1 ± 4.9	-35.0 ± 12.0
<i>B. longum</i> 46	28.5 ± 8.0	30.9 ± 9.8	41.4 ± 7.8	28.6 ± 8.0	-5.9 ± 3.0*	-16.2 ± 9.0	44.1 ± 4.0	3.5 ± 1.5*
<i>B. lactis</i> 420	32.8 ± 6.9	24.3 ± 4.5	39.1 ± 11.0	32.5 ± 13.0	-10.3 ± 7.5	10.5 ± 5.5	29.8 ± 5.5	-10.1 ± 7.2
<i>B. breve</i> 99	35.1 ± 3.5	23.3 ± 3.7	27.8 ± 2.2	26.6 ± 14.0	-33.0 ± 10.0	-12.7 ± 7.0	28.5 ± 6.3	-14.5 ± 8.8
<i>P. freudenreichii</i> JS	45.1 ± 7.5	30.1 ± 8.0	33.5 ± 5.4	20.9 ± 8.0	-9.5 ± 5.0	-5.6 ± 3.0*	30.5 ± 4.5	-13.2 ± 9.2

* Ne razlikuje se značajno od odgovarajuće kontrole (P > 0.05) uzete kao 0% inhibicije adhezije patogena.

Epitelne stanice važne su kao prva linija obrane zbog stalnog kontakta s bakterijama i bakterijskim produktima na njihovoj apikalnoj strani te zato što su u neposrednoj blizini imunostimulirajućim stanicama smještenim na njihovoj bazolateralnoj strani. Nakon konzumacije probiotičkih proizvoda, interakcija probiotika s enterocitima pokreće imunostimulirajući odgovor domaćina budući da stanice crijeva proizvode različite imunomodulacijske molekule nakon stimulacije bakterijama. Interakcija između probiotičkih sojeva i enterocita važna je za kontroliranu proizvodnju citokina i kemokina. Pokazalo se da neki probiotički sojevi moduliraju *in vitro* ekspresiju raznih protuupalnih molekula. Na primjer, *Lactobacillus sakei* potiče proizvodnju interleukina 1 (IL-1), interleukina 8 (IL-8) i čimbenika nekroze tumora α (engl. *tumor necrosis factor*, TNF- α). Dakle, enterociti nakon interakcije s probiotičkim mikroorganizmom proizvode različite citokine, od kojih je najznačajniji interleukin 8 (IL-8). On prvenstveno djeluje kao kemoatraktant za neutrofile. Probiotik *E. coli* Nissle 1917 potaknuo je proizvodnju IL-8 u HT-29 staničnim linijama (Delcenserie i sur., 2008).

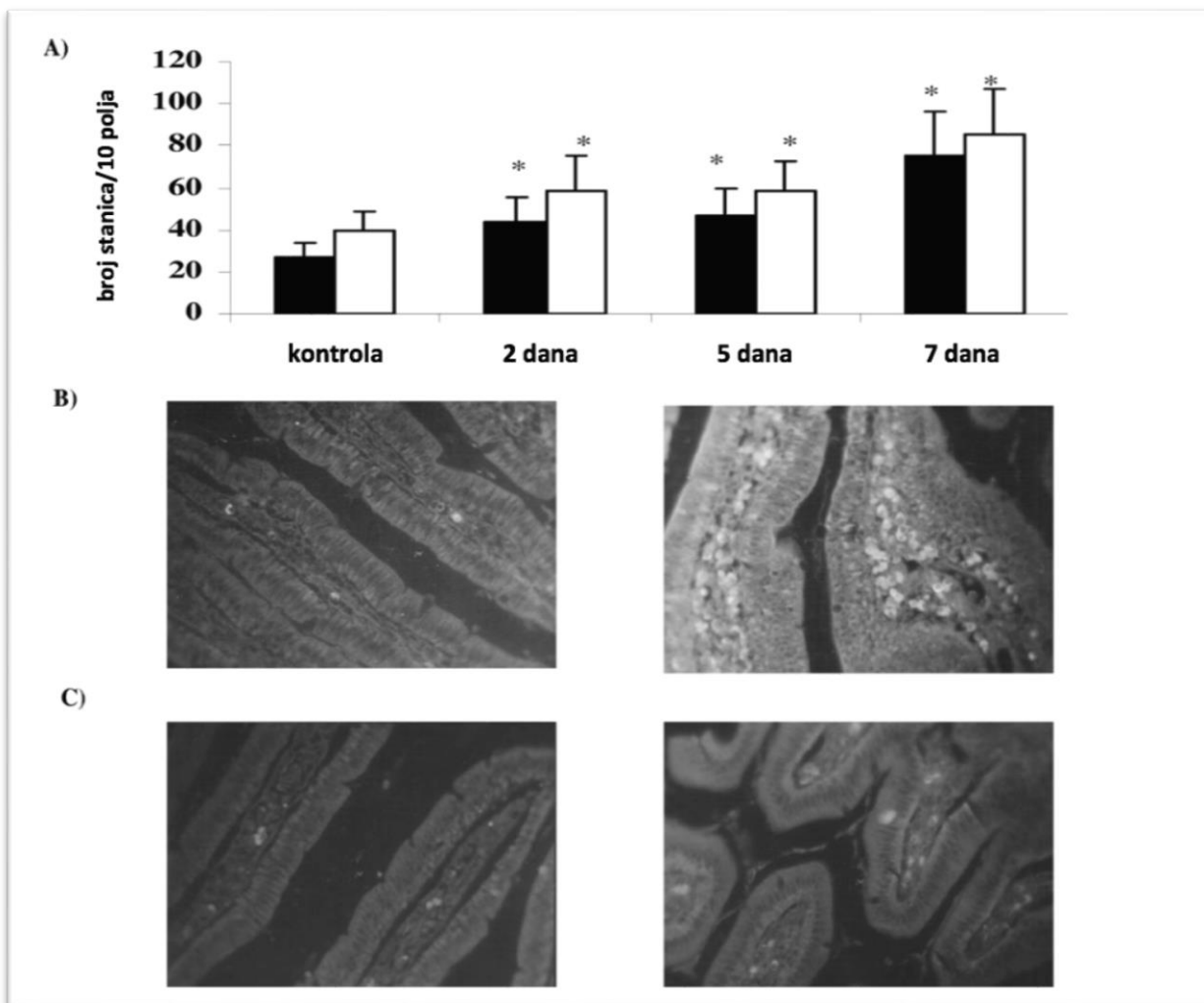
2.5.3. UTJECAJ NA NESPECIFIČNU IMUNOST

Probiotici mogu pojačati nespecifičnu imunost reakcijom aktivacijom makrofaga, NK stanica, i otpuštanjem različitih citokina. Istraživanja na životinjskim modelima pokazala su jaku reakciju nespecifične imunosti razvijenu nakon intervencije probiotičkim bakterijama.

Probiotički mikroorganizmi stupaju u interakciju s epitelom domaćina. Prilikom oralne administracije bakterijske vrste *L. casei* u miševa, došlo je do aktivacije stanica nespecifičnog imunskog sustava povećanjem broja stanica sa staničnim biljekom CD206 i TLR-2 receptorima (Slika 6) (Maldonado Galdeano i Perdigón, 2006). Toll-like receptori (TLR) aktiviraju se različitim ligandima. TLR-2 prepoznaje nekoliko bakterijskih i parazitskih glikolipida i peptidoglikana (Abbas i sur., 2017). Makrofagi izražavaju stanični biljeg CD206 (receptor manoze). On na patogenima veže glikoproteine koji sadrže puno manoze i posreduje endocitozu glikoproteina u makrofagu te zatim i fagocitozu bakterija, gljivica i drugih patogena.

Oralna administracija laktobacila može pojačati nespecifičnu imunost domaćina prema patogenim mikroorganizmima i time olakšati njihovu ekskluziju u crijevima. Pokazano je da nekoliko sojeva bakterija mliječne kiseline *in vitro* inducira oslobađanje proupalnih citokina - čimbenika nekroze tumora i interleukina 6 (IL-6), što odražava stimulaciju nespecifičnog imuninteta (Isolauri i sur., 2001). Čimbenik nekroze tumora α (TNF- α) je citokin kojeg proizvode makrofagi i limfociti T, a djeluje na način da aktivira makrofage, potiče tumorske stanice na apoptozu (programirana stanična smrt) i sl. Interleukini (IL) skupni je naziv za citokine koje proizvode leukociti i koji djeluju na leukocite, a IL-6 djeluje na način da potiče proliferaciju limfocita B i njihovu diferencijaciju u plazma stanice, stanice koje proizvode i otpuštaju protutijela.

Mnogi probiotički sojevi mogu utjecati na nespecifične mehanizme obrane, kao što je fagocitoza. Perdigón i sur. (1988) pokazali su da *L. acidophilus* i *L. casei* izvode sistemsku imunostimulaciju povećanjem kapaciteta fagocitoze peritonealnih makrofaga u miševa. Osim toga, pokazalo se da *L. acidophilus* La1 povećava kapacitet fagocitoze leukocita izoliranih iz krvi ljudi koji su konzumirali probiotike. Bakterije iz roda *Bifidobacterium* također pokazuju utjecaj na povećanu fagocitozu određenih stanica. Probiotički soj *Bifidobacterium lactis* HN019 znatno je povećao fagocitozu mononuklearnih stanica periferne krvi. Nakon konzumiranja *L. rhamnosus* HN001 i *B. lactis* HN109, poboljšana je *ex vivo* fagocitorna aktivnost mononuklearnih i polimorfnnuklearnih fagocita (Delcenserie i sur., 2008).



Slika 6. Određivanje CD206 i TLR-2 receptora imunskih stanica u lamini propriji tankog crijeva miševa koji su unosili *L. casei*. **(A)** Učinak primjene *L. casei* na broj CD206⁺ i TLR-2⁺ stanica, ■ CD206⁺ stanice; □ TLR-2⁺ stanice. **(B)** Mikrofotografija CD206⁺ kontrolnih stanica i stanica nakon 7 dana administracije *L. casei*. **(C)** Mikrofotografija TLR-2⁺ kontrolnih stanica i stanica nakon 7 dana administracije *L. casei*. Preuzeto i prilagođeno iz Maldonado Galdeano i Perdigón (2006).

Probiotički mikroorganizmi također mogu regulirati aktivnost NK stanica. Pokazano je da su *L. rhamnosus* HN001 i *B. lactis* HN109 znatno povećali citotoksični potencijal NK stanica te da se taj učinak smanjio nakon prestanka konzumacije probiotika, iako je ostao iznad vrijednosti koja je ustanovljena prije konzumacije probiotika. Upotreba probiotika *L. casei* subsp. *casei* u kombinaciji s dekstranom također može povećati učinkovitost NK stanica. Ova svojstva mogu biti povezana s produkcijom interleukina 15 (IL-15) od strane intestinalnih epitelnih stanica, važnog citokina za aktivnost NK stanica. Nadalje, čini se da pozitivni učinci probiotika na fagocitozu i funkciju NK stanica mogu biti veći kod starijih osoba s imunom

deficijencijom (Delcenserie i sur., 2008). Mnogo *in vivo* istraživanja pokazalo je da konzumacija bakterija mliječne kiseline ima pozitivan učinak na proizvodnju interferona (IFN) u ljudi što može dovesti do poboljšane sposobnosti makrofaga i NK stanica da ubiju stanice tumora ili stanice zaražene virusom (Nova i sur., 2007). Interferoni su skupina peptida koji se stvaraju u stanici zaraženoj virusom i koji imaju antivirusno djelovanje, koje je nespecifično za virus.

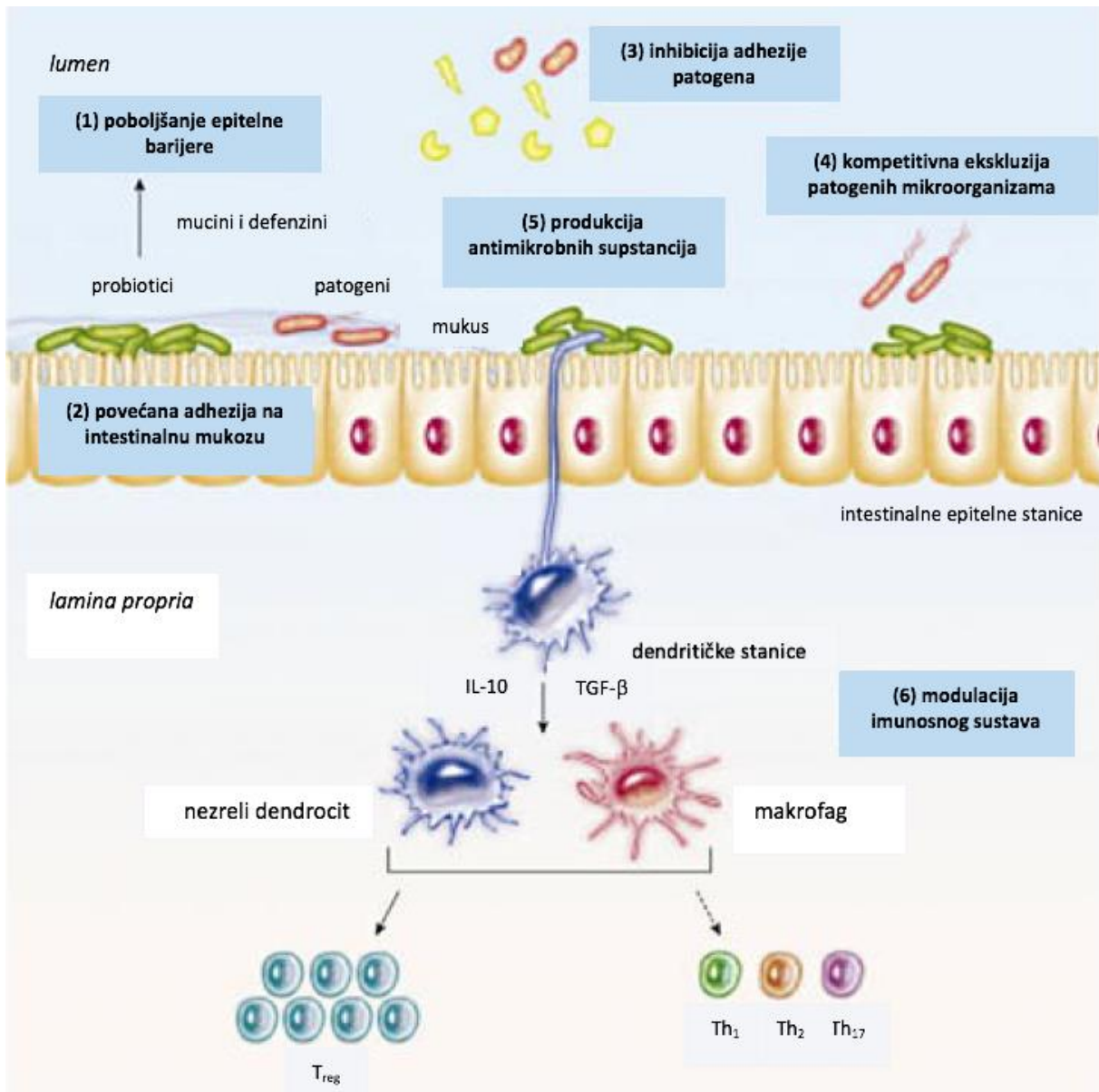
2.5.4. UTJECAJ NA SPECIFIČNU IMUNOST

Mnogi probiotički sojevi imaju izrazitu sposobnost stimulacije produkcije sekretijskog imunoglobulina A (sIgA) limfocitima B. Ti su imunoglobulini glavni predstavnici humoralne imunosti na mukoznim membranama i oni održavaju imunosnu homeostazu vezanjem na antigene pri čemu ograničavaju njihov pristup epitelnim stanicama.

Oralna administracija probiotika *Bifidobacterium bifidum* pojačava odgovor protutijela na ovalbumin i pokazalo se da *Bifidobacterium breve* stimulira odgovor sIgA na toksin kolere u miševa. Kod djece s akutnim proljevom uzrokovanim rotavirusom, nakon unosa probiotika *L. rhamnosus* GG tijekom akutne faze proljeva, došlo je do povećanog humoralnog imunosnog odgovora, na način da je došlo do povećanja u broju stanica razreda IgA koje luče protutijela specifična za rotaviruse (Isolauri i sur., 2001). Nekoliko je istraživanja pokazalo povećanu proizvodnju sIgA kao odgovor na konzumaciju probiotika iz roda *Bifidobacterium* (Ruemmele i sur., 2009).

Predodne stanice, osobito dendritičke stanice, ključne su u održavanju ravnoteže između pomoćničkih (engl. *helper*) limfocita T_H1 i T_H2 i razvoju tolerancije (Slika 7). S obzirom na važnu ulogu dendritičkih stanica u imunosnom odgovoru, pretpostavlja se da probiotički mikroorganizmi moduliraju imunosni odgovor utječući na sazrijevanje dendritičkih stanica. Cirkulirajuće dendritičke stanice mogu se aktivirati u različitoj mjeri od strane različitih vrsta bakterija mliječne kiseline. Enteropatogene i komenzalne bakterije izravno se obrađuju dendritičkim stanicama lamine proprije, u crijevnom lumenu preko transepitelnih dendrita. Osim toga, dendritičke stanice imaju sposobnost aktivacije naivnih limfocita T i usmjeravanja imunosnog odgovora preko pomoćničkih limfocita T_H1 ili T_H2 . Kombinacije probiotičkih vrsta mogu izazvati lučenje različitih profila citokina u usporedbi s jednom bakterijskom vrstom. U jednom istraživanju, uzgajane su dendritičke stanice lamine proprije u kombinaciji s osam različitih vrsta bakterija mliječne kiseline, uključujući *L. acidophilus*, *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *L. casei*, *L. plantarum*, *B. longum*, *B. infantis*, *B. breve* i *S. thermophilus*. Navedena kombinacija povećala je proizvodnju interleukina 10 (IL-10) i smanjila proizvodnju interleukina 12 (IL-12) u dendritičkim stanicama. Individualni sojevi pokazali su poseban imunomodulacijski

učinak na dendritičke stanice u kojima je povećan protuupalni učinak bio uzrokovan bifidobakterijskim sojevima, koji su povećali dendritičku proizvodnju interleukina 10 (IL-10), smanjili ekspresiju kostimulacijskih CD80 molekula i smanjili proizvodnju interferona γ (IFN- γ). Nasuprot tome, sojevi laktobacila smanjili su ili nisu imali značajan učinak na produkciju IL-10. Proupalni učinak lipopolisaharida, nakon dodatka probiotičke kombinacije, smanjen je supresijom proizvodnje IL-12 uz održavanje visoke proizvodnje IL-10 (Ashraf i Shah, 2014).



Slika 7. Glavni mehanizmi djelovanja probiotika. Preuzeto i prilagođeno iz Bermudez-Brito i sur. (2012).

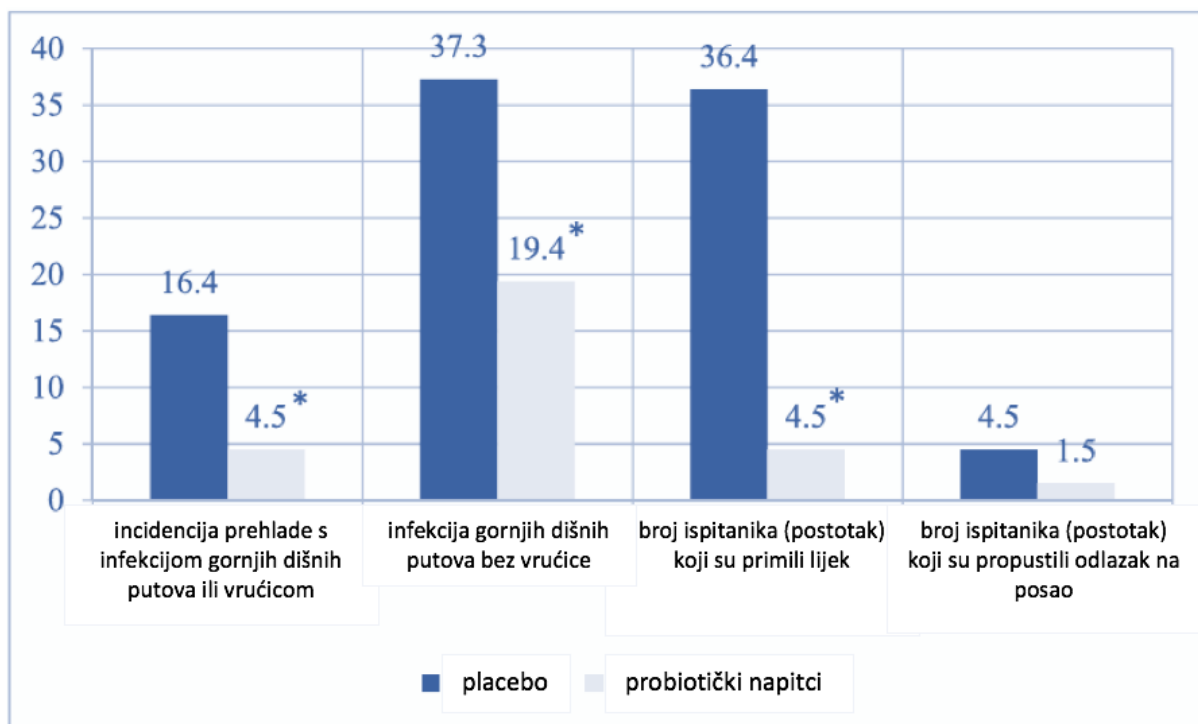
Intraepitelni limfociti, pretežito limfociti T, osiguravaju druge mehanizme mukoznog imuniteta. Te stanice reagiraju s epitelnim stanicama i štite sluznicu ubijajući zaražene stanice

i privlačeći druge imunosne stanice u borbi protiv infekcije. Antigeni koji se prenesu preko M stanica, prezentirani su limfocitima T lamine proprije koji potom diferenciraju u različite efektorske stanice. Probiotičke bakterije mogu djelovati protuupalno na način da uspostave supresiju proliferacije limfocita i proizvodnje citokina limfocitima T. U istraživanju Kankaanpää i sur. (2003) uspoređivao se antiproliferacijski učinak nekoliko probiotičkih sojeva u njihovim nevjabilnim oblicima. Probiotički sojevi su kultivirani odvojeno i obrađeni ultrazvukom, homogenati su filtrirani te je određeno da je enzimska aktivnost beznačajna. Da bi odredili mitogenima posredovane proliferacijske odgovore mononuklearnih stanica periferne krvi na te homogenate, testovi transformacije limfocita provedeni su u zdravih odraslih osoba. Mitogeni su tvari koje induciraju ili stimuliraju mitozu. U svim pokusima s probiotičkim homogenatima uočeno je suzbijanje učinka mitogenima inducirane limfocitne proliferacije, te je učinak ovisio o primijenjenoj dozi. Supresijski učinak 10 M deksametazona usporediv je s učinkom uspješnih probiotika, što ukazuje na to da specifične probiotičke bakterije posjeduju značajna protuupalna svojstva koja se mogu usporediti s terapijskim farmaceutskim proizvodima. Ovi rezultati impliciraju na potencijalnu uporabu probiotičkih bakterija kao imunomodulacijskih sredstava (Isolauri i sur., 2001).

Probiotik *L. casei* kontrolira intestinalnu upalu inhibirajući aktivaciju limfocita T kroz sposobnost senzibilizacije limfocita T na programiranu staničnu smrt. Navedena istraživanja ukazuju na protuupalno djelovanje probiotika u intestinalnom mukoznom imunosnom sustavu supresijom proliferacije limfocita T (Delcenserie i sur., 2008).

2.5.5. ULOGA PROBIOTIKA U LIJEČENJU INFEKCIJA GORNJIH DIŠNIH PUTOVA

Provedeno je istraživanje na odraslim osobama koje su u proteklih godinu dana oboljele četiri ili više puta od uobičajene prehlade. Ispitanici su tijekom 12 tjedana konzumirali probiotičke napitke koji sadrže sojeve *Lactobacillus paracasei* (najmanje 3×10^7 CFU/mL), *Lactobacillus casei* 431 (najmanje 3×10^7 CFU/mL) i *Lactobacillus fermentum* PCC (najmanje 3×10^6 CFU/mL) ili placebo bez probiotika. Konzumacija probiotika znatno je smanjila incidenciju infekcije gornjih dišnih putova ($p < 0,023$) i simptoma sličnih gripi s oralnom temperaturom višom od 38 °C ($p < 0,034$) u usporedbi s placebo. Ispitanici koji su konzumirali probiotičke pripravke pokazali su značajno višu razinu interferona γ (IFN- γ) u serumu ($p < 0,001$) i sekretijskog imunoglobulina A (sIgA) u crijevima ($p < 0,010$). Rezultati (Slika 8) ovog istraživanja pokazali su da su probiotici sigurni i djelotvorni u tretmanu uobičajene prehlade i respiratornih infekcija jačanjem imunosnog sustava (Zhang i sur., 2018).



Slika 8. Incidencija ispitanika koji boluju od infekcije gornjih dišnih putova (engl. *upper respiratory infection*, URI) s vrućicom, ispitanika koji boluju od infekcije gornjih dišnih putova bez vrućice, ispitanika koji su uzimali lijekove i ispitanika koji su propustili odlazak na posao zbog infekcije. Pritom '*' upućuje na statističku značajnost. Preuzeto i prilagođeno iz Zhang i sur. (2018).

2.5.6. ULOGA PROBIOTIKA U LIJEČENJU KRONIČNIH UPALNIH BOLESTI CRIJEVA

Upalu često prati neravnoteža crijevne mikrobiote. Zdravi su pojedinci tolerantni na vlastitu mikrobiotu, dok s druge strane ta tolerancija nije prisutna u bolesnika s upalnim crijevnim bolestima. Sve veći broj kliničkih i eksperimentalnih istraživanja ukazuje na važnost rezidualne mikrobiote unutar crijevnog lumena u poticanju upalnih odgovora kod Chronove bolesti i ulceroznog kolitisa. Suplementacija probioticima može manipulirati crijevnom mikrobiotom, što bi moglo poslužiti kao alternativna terapija kroničnih upalnih bolesti crijeva.

Mnoga *in vivo* istraživanja otkrila su zaštitne učinke nekoliko probiotičkih sojeva u kroničnim upalnim bolestima crijeva. U više istraživanja korišten je probiotički pripravak VSL#3, sastavljen od živih stanica *Lactobacillus casei*, *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus acidophilus*,

Bifidobacterium breve, *Bifidobacterium infantis* i *Bifidobacterium longum*. Istraživanje je bilo provedeno u bolesnika s ulceroznim kolitisom i Chronovom bolesti za procjenu zaštitnog učinka pripravka VSL#3. Pokazano je da je suplementacija pripravkom VSL#3 smanjila stopu povratka bolesti u bolesnika s ulceroznim kolitisom te da je smanjila simptome Chronove bolesti. Ovaj učinak pripisuje se smanjenju produkcije proupalnih citokina djelovanjem probiotičkih bakterija iz VSL#3 (Sivamaruthi, 2018).

Iako su klinička istraživanja uspjela dokazati da su gotovo sve probiotičke intervencije sigurne i donose poboljšanje ishoda bolesti, neka istraživanja su deficitarna u veličini uzoraka, odgovarajućim kontrolama i praćenju. Nadalje, potrebna su nova, bolje razrađena ispitivanja kako bi se otkrio probiotički soj ili njihove kombinacije za liječenje i kontrolu kroničnih upalnih bolesti crijeva te za održavanje remisije.

2.5.7. IMUNOMODULACIJA PROBIOTICIMA U DOJENČADI

Uspostava normalnih bakterijskih populacija tijekom ranog dojenja mogla bi spriječiti kolonizaciju potencijalnih patogena u gastrointestinalnom traktu (Isolauri i sur., 2001; Isolauri, 2012). Izloženost mikrobima zajedno s probiotičkim intervencijama u dojenštvu mogla bi pomoći u sazrijevanju imunskog sustava za liječenje i prevenciju bolesti posredovanih imunskim sustavom tijekom dojenačke dobi i u djetinjstvu.

U dvostruko slijepom, randomiziranom, kontroliranom istraživanju jedna skupina dojenčadi konzumirala je žitarice obogaćene probiotikom *L. paracasei* subsp. *paracasei* F19 (doza $10^8 - 10^{10}$ CFU/dan), a kontrolna skupina konzumirala je neobogaćene žitarice (West i sur., 2008). Obje su grupe bile imunizirane toksoidom difterije i tetanusa te polio i Hib cjepivima. Probiotik *L. paracasei* subsp. *paracasei* F19 poboljšao je imunski odgovor povećanjem koncentracije protutijela protiv difterijskog toksina.

Pošto je nespecifični imunski sustav urođen, suplementacija majki s probiotičkim mikroorganizmima mogla bi utjecati na fetalne imunski markere kao i na imunomodulacijske čimbenike u majčinom mlijeku. Trudnicama su davani dodaci s probioticima *Lactobacillus rhamnosus*, *Bifidobacterium lactis* ili placebo tijekom perioda od dva do pet tjedana prije poroda te još šest mjeseci tijekom dojenja. Uzorci plazme krvi pupkovine i majčino mlijeko sakupljali su se tri do sedam dana, tri mjeseca i šest mjeseci nakon rođenja djeteta. Kod skupine koja je uzimala probiotike uočena je veća koncentracija IFN- γ u krvi pupkovine u odnosu na kontrolnu skupinu te su osim toga u skupini koja je konzumirala probiotike detektirane i veće razine IgA u majčinom mlijeku. Dakle, suplementacija probioticima tijekom

trudnoće može pozitivno utjecati na fetalne imunosne markere, kao i na razinu imunomodulacijskih faktora u majčinom mlijeku (Ashraf i Shah, 2014).

3. ZAKLJUČAK

Konsumacija probiotičkih mikroorganizama u obliku prehrambenih proizvoda ili dodataka prehrani može djelovati povoljno na jačanje imunskog sustava. Crijevna mikrobiota utječe na sazrijevanje i funkciju imunskog sustava, stoga modulacija crijevne mikrobiote probioticima može omogućiti poboljšanje imunskog odgovora u zdravih i nezdravih pojedinaca.

Mikroorganizmi koji imaju status probiotika sposobni su preživjeti nepovoljne uvjete u probavnom traktu te razmnožavati se i provoditi metaboličku aktivnost u ciljanom području primjene. Bakterije iz roda *Lactobacillus* i *Bifidobacterium* najčešće su korištene u probiotičkim pripravcima. Žive probiotičke bakterije inhibiraju adheziju patogenih mikroorganizama na intestinalni epitel, povećavaju razinu sIgA u humoralnom odgovoru, potiču poboljšanu sekreciju mucina u epitelnim stanicama crijeva, pojačavaju fagocitoznu aktivnost fagocitnih stanica te smanjuju intestinalni upalni odgovor inhibicijom proliferacije limfocita T.

Probiotici su sigurni i djelotvorni u liječenju infekcija gornjih dišnih putova. Osim toga, suplementacija majki probiotičkim pripravcima tijekom trudnoće može povoljno utjecati na imunosne markere u majčinom mlijeku, povećavajući razinu IgA koji zatim mogu nastaniti intestinalni trakt dojenčeta. Zahvaljujući njihovom protuupalnom djelovanju, probiotici bi mogli poslužiti kao inovativni alat u liječenju kroničnih upalnih bolesti crijeva. Iako postoje jaki dokazi da probiotički mikroorganizmi posjeduju imunomodulacijska svojstva, potrebna su daljnja istraživanja kako bi se potvrdio njihov učinak u kontroli i liječenju različitih bolesti.

4. LITERATURA

1. Abbas A. K., Lichtman A. H., Pillai S. (2017) Osnove imunologije: funkcije i poremećaji imunološkog sustava, 5. izd., Sveučilište u Splitu, Medicinski fakultet.
2. Andreis I., Batinić D., Čulo F., Grčević D., Lukinović-Škudar V., Marušić M., Taradi M., Višnjić D. (2010) Imunologija, 7. izd., Medicinska naklada, Zagreb.
3. Ashraf R., Shah N. P. (2014) Immune system stimulation by probiotic microorganisms. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* **54**: 938 – 956.
4. Bermudez-Brito M., Plaza-Díaz J., Muñoz-Quezada S., Gómez-Llorente C., Gil A. (2012) Probiotic mechanisms of action. *Annals of Nutrition and Metabolism* **61**: 160 – 174.
5. Collado M. C., Meriluoto J., Salminen S. (2007) Role of commercial probiotic strains against human pathogen adhesion to intestinal mucus. *Letters in Applied Microbiology* **45**: 454 - 460.
6. Collins J. K., Thornton G., Sullivan G. O. (1998) Selection of probiotic strains for human applications. *International Dairy Journal* **8**: 487 – 490.
7. Corthésy B., Gaskins H. R., Mercenier A. (2007) Cross-talk between probiotic bacteria and the host immune system. *The Journal of Nutrition* **137**: 781 - 790.
8. Delcenserie V., Martel D., Lamoureux M., Amiot J., Boutin Y., Roy D. (2008) Immunomodulatory effects of probiotics in the intestinal tract. *Current Issues in Molecular Biology* **10**: 37 - 54.
9. Hemarajata P., Versalovic J. (2013) Effects of probiotics on gut microbiota: mechanisms of intestinal immunomodulation and neuromodulation. *Therapeutic Advances in Gastroenterology* **6**: 39 – 51.
10. Herich R., Levkut M. (2002) Lactic acid bacteria, probiotics and immune system. *Veterinary Medicine – Czech* **47**: 169 – 180.
11. Isolauri E., Sütas Y., Kankaanpää P., Arvilommi H., Salminen S. (2001) Probiotics: effects on immunity. *The American Journal of Clinical Nutrition* **73**: 444 - 450.
12. Isolauri E. (2012) Development of healthy gut microbiota early in life. *Journal of Paediatrics and Child Health* **48**: 1 – 6.
13. Kankaanpää P., Sütas Y., Salminen S., Isolauri E. (2003) Homogenates derived from probiotic bacteria provide down-regulatory signals for peripheral blood mononuclear cells. *Food Chemistry* **83**: 269 – 277.
14. Kerry R. G., Kumar Patra J., Gouda S., Park Y., Shin H.-S., Das G. (2018) Benefaction of probiotics for human health: A review. *Journal of Food and Drug Analysis*: 1 - 13.

15. Konturek P. C., Haziri D., Brzozowski T., Hess T., Heyman S., Kwiecien S., Konturek S. J., Koziel J. (2015) Emerging role of fecal microbiota therapy in the treatment of gastrointestinal and extra-gastrointestinal diseases. *Journal of Physiology and Pharmacology* **66**: 483 - 491.
16. La Fata G., Weber P., Mohajeri M. H. (2018) Probiotics and the gut immune system: indirect regulation. *Probiotics and Antimicrobial Proteins* **10**: 11 - 21.
17. Maldonado Galdeano C., Perdígón G. (2006) The probiotic bacterium *Lactobacillus casei* induces activation of the gut mucosal immune system through innate immunity. *Clinical and Vaccine Immunology* **13**: 219 - 226.
18. Malenica B. (2005) Nespecifična i specifična imunost. *Paediatrica Croatica* **49**: 23 – 30.
19. Nova E., Wörnberg J., Gómez-Martínez S., Díaz L. E., Romeo J., Marcos A. (2007) Immunomodulatory effects of probiotics in different stages of life. *British Journal of Nutrition* **98**: 90 - 95.
20. Oyetayo V. O., Oyetayo F. L. (2005) Potential of probiotics as biotherapeutic agents targeting the innate immune system. *African Journal of Biotechnology* **4**: 123 - 127.
21. Pagliari D., Saviano A., Newton E. E., Serricchio M. L., Dal Lago A. A., Gasbarrini A., Cianci R. (2018) Gut microbiota-immune system crosstalk and pancreatic disorders. *Mediators of Inflammation*.
22. Perdígón G., de Macias M. E., Alvarez S., Oliver G., de Ruiz Holgado A. (1988) Systemic augmentation of the immune response in mice by feeding fermented milks with *Lactobacillus casei* and *Lactobacillus acidophilus*. *Immunology* **63**: 17 – 23.
23. Rummel F. M., Bier D., Marteau P., Rechkemmer G., Bourdet-Sicard R., Walker W. A., Goulet O. (2009) Clinical evidence for immunomodulatory effects of probiotic bacteria. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition* **48**: 126 - 141.
24. Sanders M. E., Benson A., Lebeer S., Merenstein D. J., Klaenhammer T. R. (2018) Shared mechanisms among probiotic taxa: implications for general probiotic claims. *Current Opinion in Biotechnology* **49**: 207 - 216.
25. Soccol C. R., Porto de Souza Vandenberghe L., Rigon Spier M., Bianchi Pedroni Medeiros A., Tiemi Yamaguishi C., De Dea Lindner J., Pandey A., Thomaz-Soccol V. (2010) The potential of probiotics: A review. *Food Technology and Biotechnology* **48**: 413 - 434.
26. Sivamaruthi B. S. (2018) A comprehensive review on clinical outcome of probiotic and synbiotic therapy for inflammatory bowel diseases. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine* **8**: 179 - 186.

27. Šušković J., Brkić B., Matošić S. (1997) Mehanizam probiotičkog djelovanja bakterija mliječne kiseline. *Mljekarstvo* **47**: 57 - 73.
28. Šušković J., Kos B., Beganović J., Leboš Pavunc A., Habjanič K., Matošić S. (2010) Antimicrobial activity – the most important property of probiotic and starter lactic acid bacteria. *Food Technology and Biotechnology* **48**: 296 – 307.
29. Šušković J., Kos B., Frece J., Beganović J., Leboš Pavunc A. (2009) Probiotički koncept – probiotici kao dodaci hrani i probiotici kao bioterapeutici. *Hrvatski časopis za prehrambenu tehnologiju, biotehnologiju i nutricionizam* **4**: 77 - 84.
30. Šver L. (2017) Interna skripta iz modula „Imunologija za nutricioniste“, Prehrambeno-biotehnoški fakultet Sveučilišta u Zagrebu.
31. West C. E., Gothefors L., Granström M., Käyhty H., Hammarström M. L. K. C., Hernell O. (2008) Effects of feeding probiotics during weaning on infections and antibody responses to diphtheria, tetanus and Hib vaccines. *Pediatric Allergy and Immunology* **19**: 53 – 60.
32. Zhang H., Yeh C., Jin C., Ding L., Liu B. Y., Zhang L., Dannelly H. K. (2018) Prospective study of probiotic supplementation results in immune stimulation and improvement of upper respiratory infection rate. *Synthetic and Systems Biotechnology* **3**: 113 - 120.

Izjava o izvornosti

Izjavljujem da je ovaj završni rad izvorni rezultat mojeg rada te da se u njegovoj izradi nisam koristila drugim izvorima, osim onih koji su u njemu navedeni.

Doris Filipović

Doris Filipović