

АНТИТУМОРЕН ЕФЕКТ НА ПРОБИОТИЦИ – ЕКСПЕРИМЕНТАЛНИ И КЛИНИЧНИ ПРОУЧВАНИЯ

Георги Александров*, Калоян Георгиев², Мариета Георгиева²,
Иван Илиев³, Мария Пенева⁴

¹ Военномедицинска Академия – София, България

² Катедра по фармакология, токсикология и фармакотерапия, Медицински университет - Варна, България

³ Институт по експериментална морфология, патология и антропология с музей към Българска академия на науките, София, България

⁴ Медицински център “Евроздраве” София, България

**6та Югоизточно Европейска Конференция по химиотерапия, инфекциозни и
ракови заболявания
Ноември 2015, Солун, Гърция**

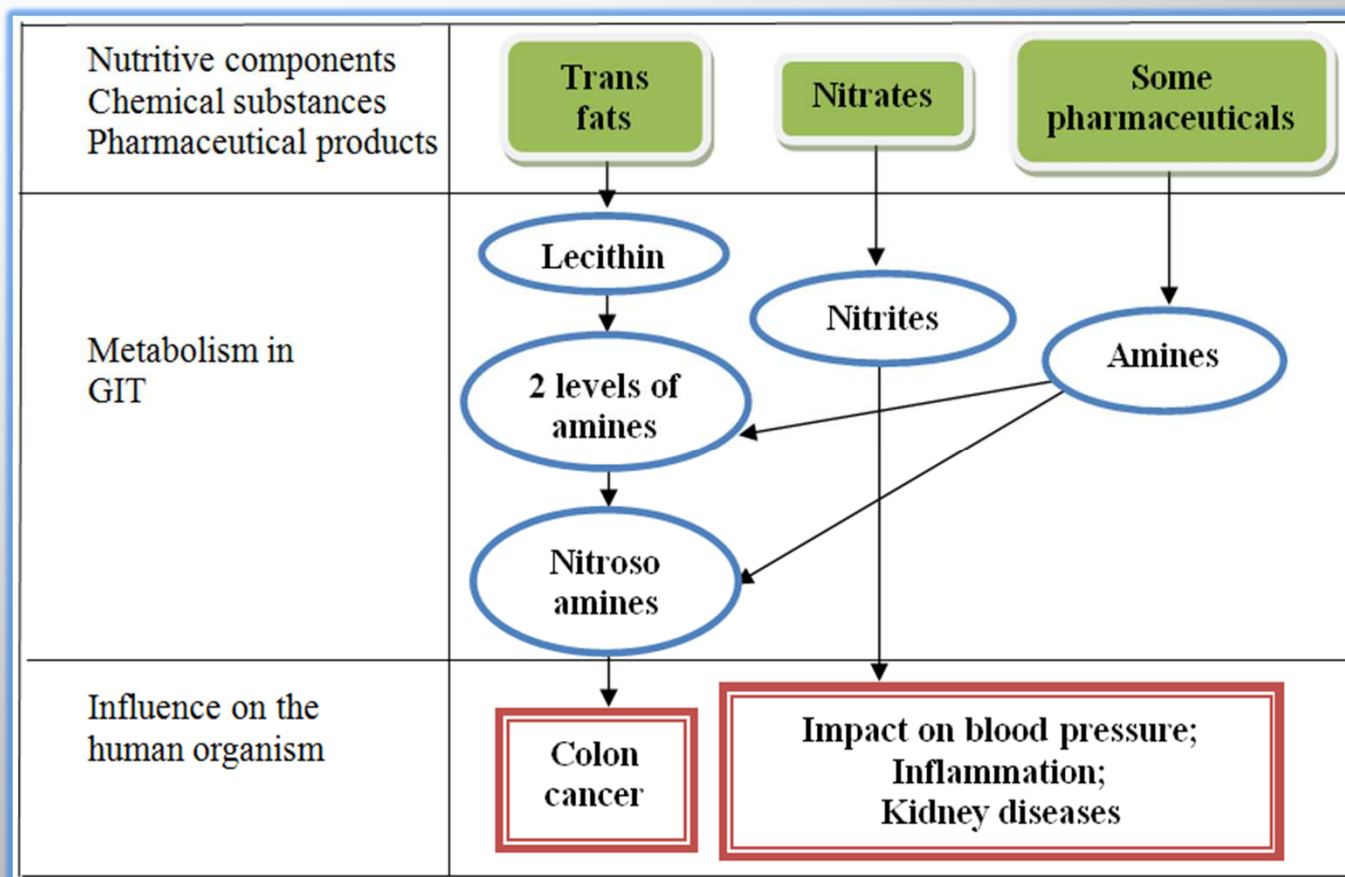
Въведение

- Пробиотиците според СЗО/ОПЗ са живи микроорганизми, които, когато се прилагат в достатъчни количества, предоставят полза за здравето на гостоприемника.
- Човекът съществува в симбиоза с над 1500 вида микроорганизми. Те населяват целия организъм – устата, кожата, косата, вагината. Повечето от тях се намират в дебелото черво – над 600 вида микроорганизми с тело 1,5 – 2кг.
- Според ефекта им за човешкия организъм, микроорганизмите се разделят на: патогенни, болестотворни (150 – 180 вида); полезни като пробиотиците (15 – 20 вида); латентни, които могат да бъдат условно патогенни, условно полезни или недостатъчно изучени (1000-1200 вида).

Въведение

- Микроорганизмите, населяващи човешкото тяло и образуващи вътрешната микрофлора, могат да бъдат индивидуални за всеки човек и общи за хора, населяващи определен географски район и водещи сходен начин на живот.
- Различните микроорганизми в тези специфични екосистеми обикновено поддържат стабилно равновесие в здравия организъм.
- Нездравословното хранене, използването на антибиотици, пестициди, нитрати, токсини и др. може да доведе до нарушение на микробния баланс, дисбактериоза и различни заболявания.

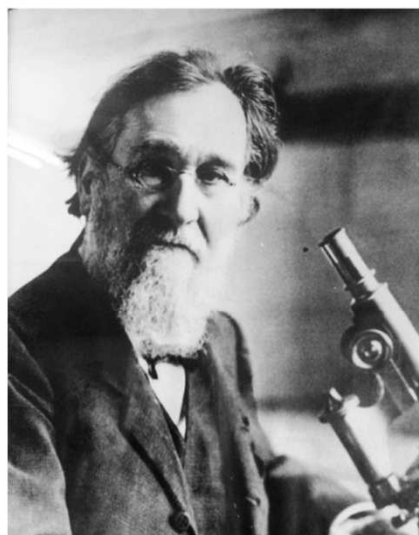
Метаболизъм на някои субстанции и връзката им със заболявания на гастроинтестиналния тракт



Съвременните проучвания показват, че заболявания на гастроинтестиналния тракт, колити, заболявания на черния дроб и жлъчката и алергии са причинени от дисбаланс във вътрешната микробна флора.

Пробиотиците поддържат нормалния вътрешен баланс на микрофлората и регулират функциите на гастроинтестиналния тракт.

История на пробиотиците



I. Mechnikov
1845-1916

"Our aging
is a disease
that must be treated
like any other
disease."

A handwritten signature in cursive script, reading "Ил. Мечников." (Ilya Mechnikov).

Основата на
съвременната
теория за
пробиотиците
създава в началото
на XX
век Нобеловият
лауреат Иля
Мечников. След
посещението си на
28 страни той пише:

“Дълголетието на населението, населяващо българските земи се дължи на ежедневната консумация на йогурт и други млечнокисели продукти, съдържащи специфичната българска бактерия”. По това време в България има 4/1000 столетници и много ниска ракова заболяемост.

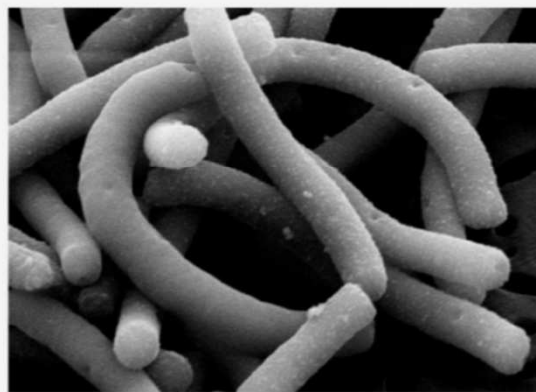
История на *Lactobacillus bulgaricus*

През 1905 в Женева, българският студент Ст. Григоров изолира специфичния български лактобацил от йогурт, донесен от България. През 1914 бактерията получава наименованието *Lactobacillus bulgaricus*.



Stamen Grigorov
Bulgarian Biologist
and Physician
1878-1945

Lactobacillus delbrueckii
subsp. *bulgaricus*



Lactobacillus Bulgaricus е единственият пробиотичен микроорганизъм, носещ името на определена географска територия и народ. При опити за размножаване в други географски региони на света той мутира и спира развитието си.

По време на ферментацията *L. Bulgaricus* произвежда D(-) млечна киселина за разлика от всички останали млечнокисели бактерии.

Проучвания на атитуморен ефект на *Lactobacillus bulgaricus*

За над 100 години са направени многобройни проучвания на антитуморни и лъчезащитни ефекти на различни щамове на *Lactobacillus Bulgaricus*.

- През 1956 И.Богданов доказва, че щам *L. Bulgaricus* LB51 потиска растежа и разпространението на ракови клетки в мишки. Когато *L. Bulgaricus* LB51 се инжектира интраперитонеално в мишки, предварително заразени с Крокър сарком (S180), щамът лекува напълно 30% от животните. Подобни резултати са събрани и при изследвания проведени с тумор на Ерлих. При повторно заразяване на излекуваните мишки с Крокър сарком или тумор на Ерлих, ракът не може да се развие. Богданов говори за антираков имунитет.
- Множество проучвания на различни български учени (Н.Александров, Б.Гьошева, М. Георгиева) в периода 1985 – 2010, проведени върху мъжки плъхове Вистар показват добър лъчезащитен ефект на щамовете *L. Bulgaricus* LBL4 и LB144. Щамовете увеличават устойчивостта на кръвотворната система към нелетално гама облъчване, което може да се обясни чрез засилване на имунитета и потискане на свободната липидна пероксидация.

Проучвания на антитуморен ефект на *Lactobacillus bulgaricus*

➤ Експериментално изследване, проведено през 2005 от Р.Еникова показва антитуморен ефект на щамове *L. Vulgaricus* Lb4 и Lb5 при химично предизвикана туморогенеза при бели мъжки плъхове Вистар. Щамове *L. Vulgaricus* Lb4 и Lb5 потискат и забавят развитието на карцином на дебелото черво.

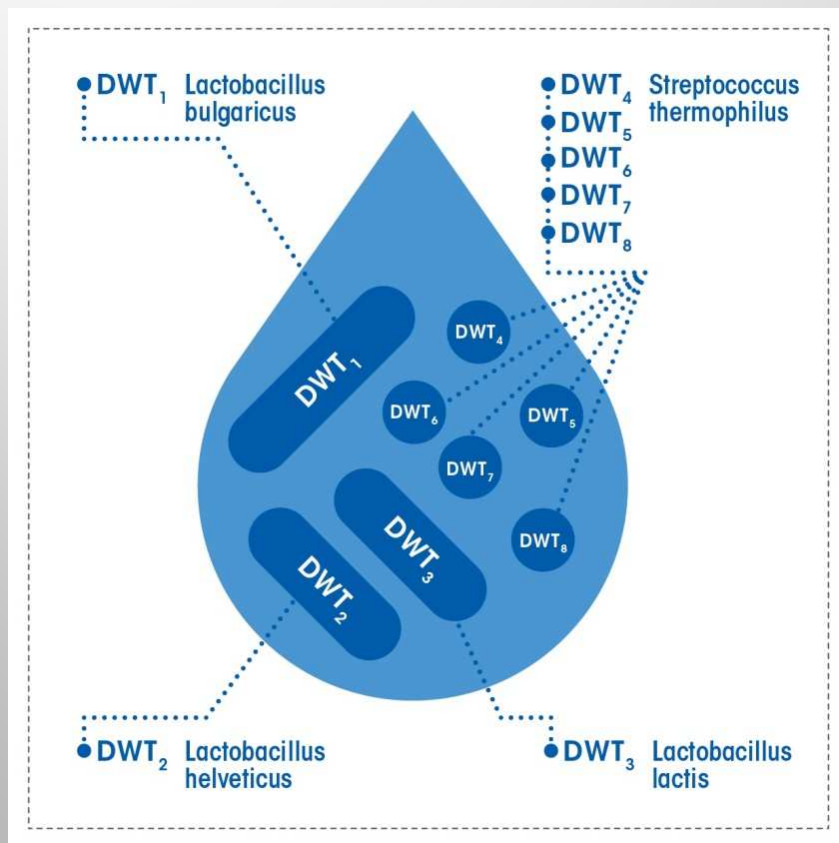


➤ Финансирани от Японско-Българска програма JICA, японските учени Хосоно и Китагава доказват антитуморен ефект на *Lactobacillus* в йогурт върху мишки с имплантирани туморни клетки.

Новооткрития произход на *Lactobacillus bulgaricus* на Балканите

Досега различни щамове на *Lactobacillus Bulgaricus* са изолирани от:

- Домашни млекодайни животни и техните продукти
- Фекални маси от малки деца в България
- Растения

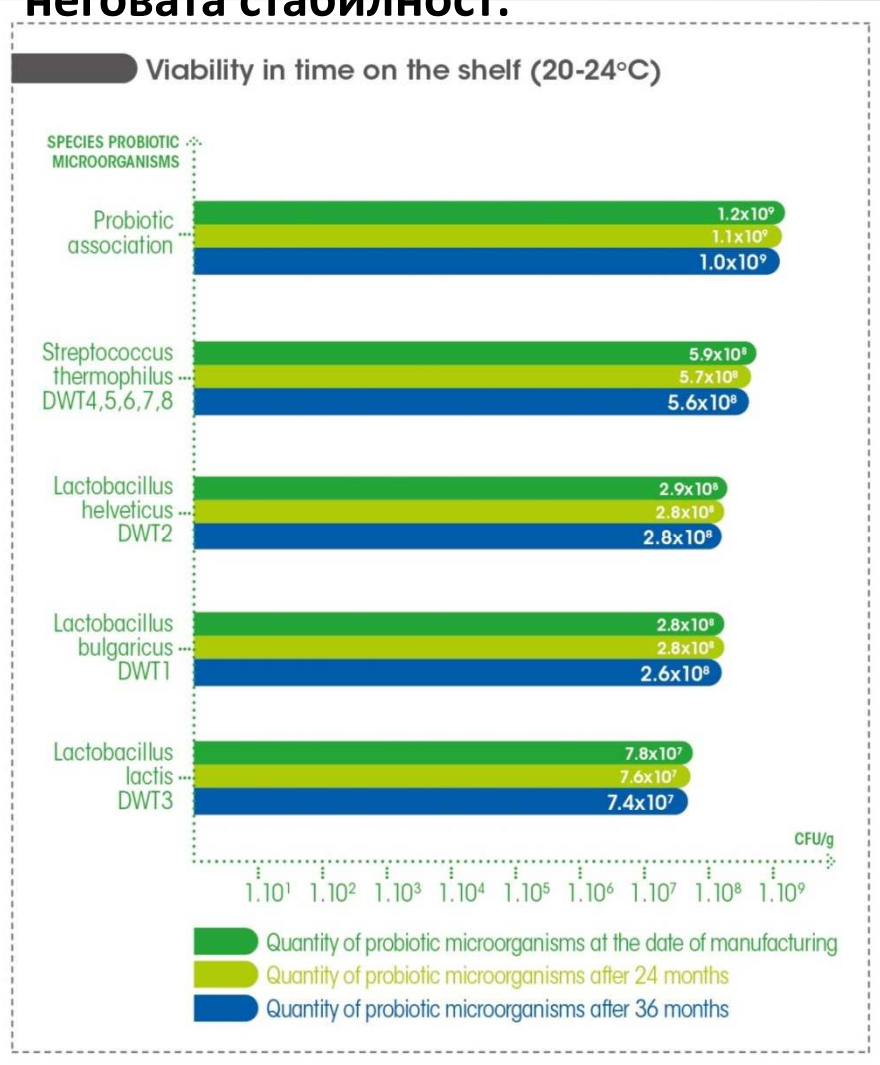


За първи път в света през 2011г. Н. Александров и Д.Петрова изолират 8 нови, изцяло непознати, оригинални щамове на *Lactobacillus Bulgaricus*, *Lactobacillus helveticus*, *Lactobacillus lactis* и *Streptococcus thermophilus* от изворна вода в Стара планина, близо до тракийско селище.

Преживяемост на *Lactobacillus bulgaricus* от воден произход

Полезните ефекти на пробиотиците зависят от тяхната преживяемост.

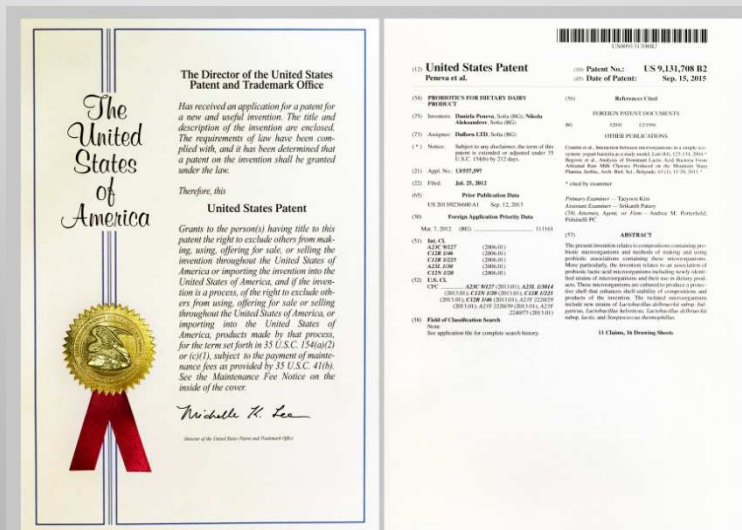
Проучванията на *Lactobacillus bulgaricus* DWT1 от воден произход доказват неговата стабилност:



- По време на производствения процес
- След рехидратация при преминаване през целия стомашно-чревен тракт на човека, в екстремални експериментали условия в продължение на 7 часа в човешкия стомах и черва. Те се колонизират в дебелото черво много добре.
- Щамовете от воден произход в пробиотичната формула остават живи при стайна температура (20-24°C) за повече от 36 месеца.

Нова пробиотична формула Laktera Nature®

- Използвайки метода на био-копиране на естествените процеси в природата и пренасяйки ги в модерната биотехнология, Н.Александров и Д.Петрова успяват да създадат нова пробиотична формула Laktera Nature®.
- Laktera Nature® е уникална комбинация от 8 оригинални щама на млечнокисели бактерии от воден произход и естествени хранителни вещества.
- Laktera Nature® е с доказана здравна претенция в ЕС според Регламент 432/2012 и потвърдена от Министерството на здравеопазването и социалните грижи на Гърция. Според претенцията този пробиотик подобрява смилането на лактозата.

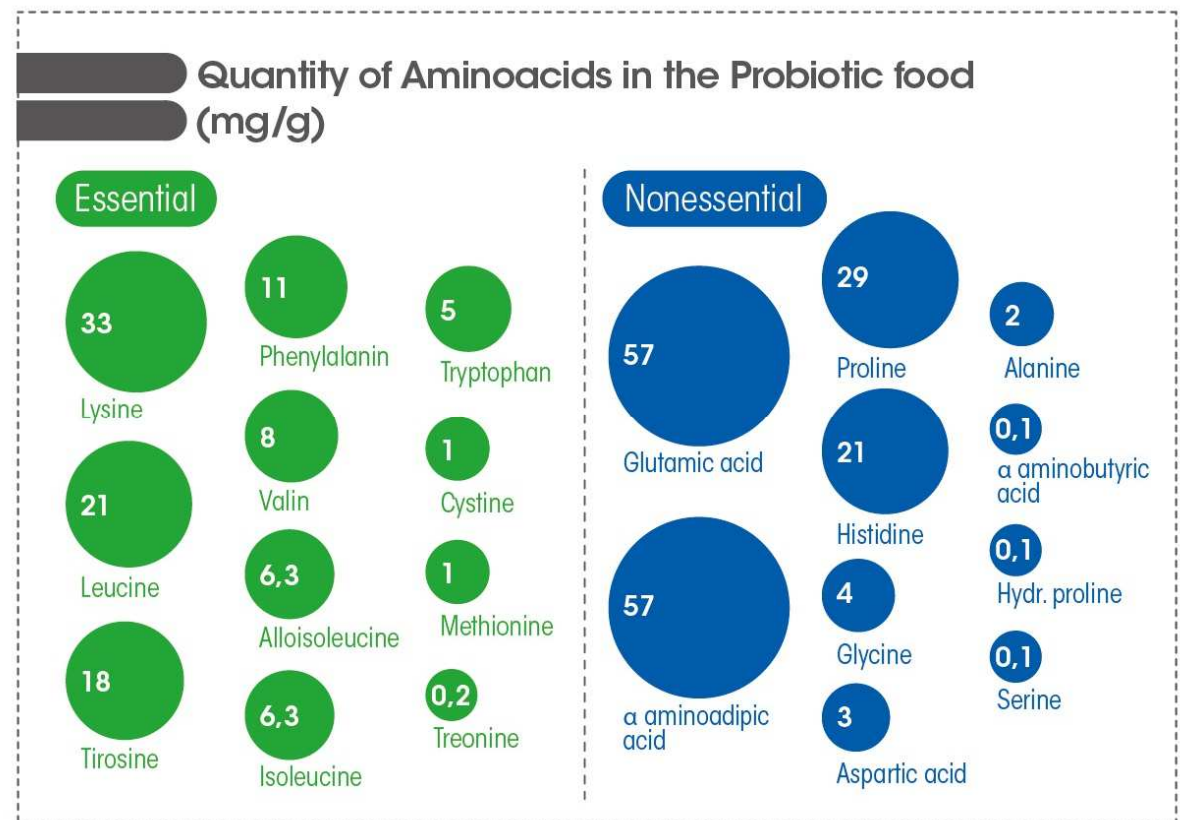


Laktera Nature® и всички пробиотици, съдържащи щамовете от воден произход са патентно защитени в САЩ с официален патент номер US 9,131,708 B2 / Sep. 15, 2015

Хранителни съставки на Laktera Nature®

Милиарди КОЕ (колоно-образуващи единици) на *L. Bulgaricus* DWT1, *L. helveticus* DWT2, *L. lactis* DWT3 и *Streptococcus thermophilus* DWT4-8, изолирани от изворна вода

- Всички 21 заменими и незаменими аминокиселини, включително Левцин, Изолевцин и Валин, наречени още “коктейл на живота”
- Нискомолекулни мастни киселини - Капронова, Каприлова, Капринова и Лауринова и полиненаситени мастни киселини
- Монозахариди – глюкоза, галактоза, ниско лактозно съдържание.
- Млечни витамини, минерали и микроелементи



Полезни ефекти на Laktera Nature® – експериментални и клинични проучвания

- ✓ През 2011 Н. Александров и Д. Петрова доказват, че пробиотичната формула има силен бактериостатичен ефект като потиска развитието на *E. coli*, *Salmonella*, *Sh. flexneri*, *Pr. Mirabilis*, *St. aureus* и умерен бактерициден ефект.
- ✓ През 2013 Г. Александров доказва, че Laktera Nature® значително подобрява абсорбцията на протеините, преодолява хипо- и диспротеинемията и намалява усложненията и смъртността в ранен постоперативен период след високоспециализирани големи коремни операции



През 2015 К.Георгиев и М. Георгиева провеждат изследване за антипролиферативно действие на Laktera Nature® на клетъчни линии на карцином на дебело черво. Това изследване показва, че във висока концентрация (250-1000µg/ml) Laktera Nature® възпрепятства развитието на карцином на колона на клетъчна линия HT-29.

Ново изследване на антитуморна активност на Laktera Nature ® върху клетъчни линии на рак на дебелото черво

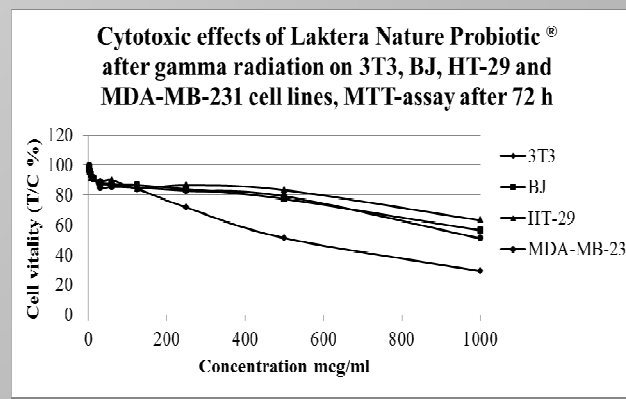
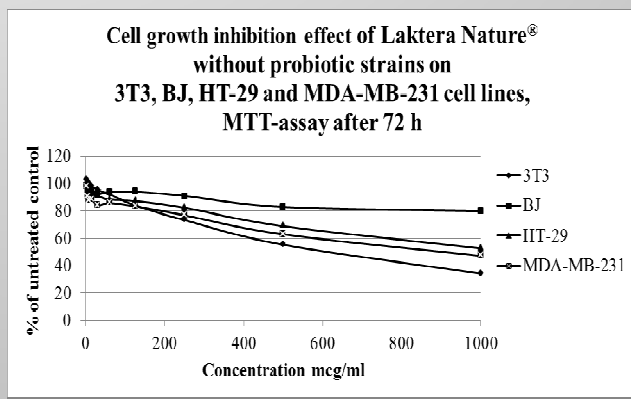
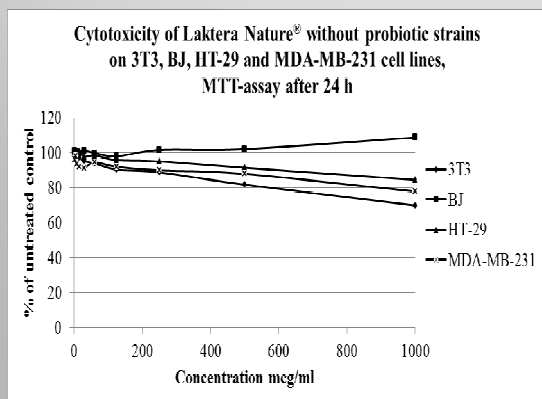
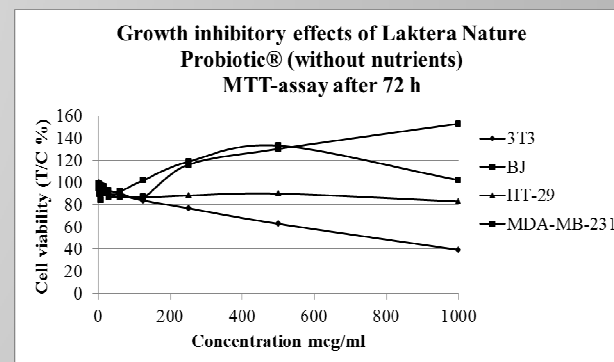
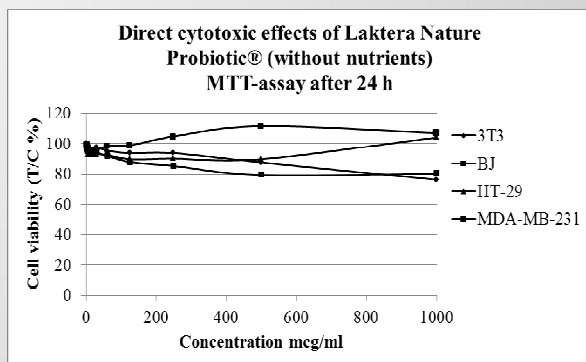
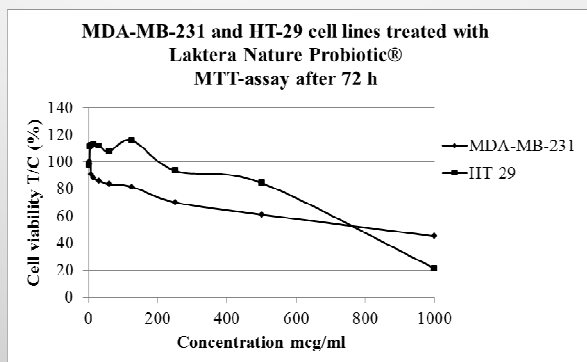
Материали и методи:

Използвани са четири типа клетъчни линии: 3T3, VJ, HT-29 и MDA-MB-231. Цитотоксичността е определена от MTT-dye редукционен анализ. Изследвани са директната цитотоксичност, измерена на 24-тия час и антипролиферативната активност, измерена на 72-рия час. Използвани са четири различни проби от Laktera Nature® :

- проба 1 (оригинална пробиотична формула, съдържаща живи клетки на *Lactobacillus bulgaricus* DWT1, *Streptococcus thermophilus* DWT4 и 21 млечни аминокиселини);
- проба 2 (само пробиотичните щамове без аминокиселините);
- проба 3 (само 21 млечни аминокиселини без пробиотичните щамове);
- проба 4 (оригиналната пробиотична формула, преминала гама-стерилизация 10 Gy, при която пробиотичните щамове са умъртвени, като са останали само клетъчните им стени)

Ново изследване на антитуморната активност на Laktera Nature® върху клетъчни линии на рак на дебелото черво

На фигурите са показани обобщените резултати за четирите проби:



Ново изследване на антитуморната активност на Laktera Nature® върху клетъчни линии на рак на дебелото черво

Effect Sample	Direct cytotoxicity at the 24 th hour	Antiproliferative activity at the 72 nd hour
1	+	++
2	+	-
3	+	+
4	+	+

Резултати: четирите проби показват незначителна директна цитотоксичност на тестваните клетъчни линии, измерена на 24-тия час. Проби 3 и 4 показват дозозависим и времезависим цитотоксичен ефект

Интересно е, че проба 2 (само пробиотичните щамове) не показва очаквания антипролиферативен ефект (в случая MDA-MB-231).

Проба 1 (оригиналната пробиотична формула Laktera Nature®, съдържаща живи пробиотични щамове и 21 аминокиселини) демонстрира значителен антипролиферативен ефект и възпрепятстване на растежа на раковите клетъчни линии HT-29 и MDA-MB-231 с IC50 стойности - $711,69 \pm 82,1$ и респективно $934,21 \pm 43,5$ mcg/ml, измерени на 72-рия час.

Клинично изследване на ефектите на Laktera Nature® при пациенти преминали операции за колоректален крцином

- Клинично изследване е проведено за периода 2012 – 2015 при 13 пациента, на възраст от 53 до 75 години, всички преминали операции за колоректален крцином
- При изследваните пациенти хистологичната диагноза е: pT(1-3)N(0-1)M(0-1)V(0-1)G(1-3).
- Всички те провеждат химиотерапия с 5FU + Leucovorin , последвана от лъчетерапия до 54 Gy.
- Пациентите са разделени случайно на 2 групи – първа (7 пациента) и втора (6 пациента). Пациентите от първата група приемат и допълнителна хранителна терапия Laktera Nature® 15гр./24ч.
- Пациентите са проследени по 6 групи показатели. Резултатите са представени на следната таблица:



Клинично изследване на ефектите на Laktera Nature® при пациенти преминали операции за колоректален крцином - резултати

Indicators	Patients	I group (who have taken Laktera Nature®)	II group
Astheno-adynamic syndrome		29%	66%
Consumptive syndrome		14%	33%
Nausea & Vomiting		29%	83%
Frequent morbidity of viral and other infections		29%	50%
Disruption or delay in the treatment regimen due to side effects or complications		14%	50%
Mortality		14%	33%

Клиничното изследване показва, че хранителната терапия с Laktera Nature® значително намалява страничните ефекти на химио- и лъчетерапията и в повечето случаи позволява провеждането на пълния курс на лечение.

Експерименталните и клинични проучвания за антитуморен ефект на Laktera Nature® продължават.

Дискусия

Оригиналната пробиотична формула Laktera Nature® възпрепятства растежа на ракови клетъчни линии HT-29 и MDA-MB-231.



Хранителната терапия с Laktera Nature® подобрява качеството на живот и социалните функции на пациентите с карциноми и техните семейства.

Заклучение

Ние предлагаме нова триединна технологична лечебна схема на колоректален карцином:



Оперативно лечение за отстраняване на тумора

Химио- и лъчетерапия за унищожаване на останалите ракови клетки и намаляване риска от метастази

Хранителна терапия с пробиотична формула с *Lactobacillus Vulgaricus* за оздравяване на пациенти с колоректален карцином

**Благодарим на
партньорите от Medicaир Bioscience Laboratories
и
МІКА Nutri-Pharma
за цялостната им подкрепа!**

Благодаря за вниманието!

**6та Югоизточно Европейска Конференция по
химиотерапия, инфекциозни и ракови заболявания
Ноември 2015, Солун, Гърция**