



ΔΗΜΟΚΡΙΤΕΙΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΡΑΚΗΣ  
ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ  
Μεταπτυχιακό Πρόγραμμα Σπουδών  
«Κλινική Φαρμακολογία και Θεραπευτική»

Διπλωματική εργασία  
Τρόπος δράσης και εφαρμογή των προβιοτικών στην υγεία

Νικολάου Αναστάσιος

Επιβλέπων: Δρ. Αλέξης Γαλάνης  
Επ. Καθηγητής Μοριακής Βιολογίας

Φεβρουάριος 2013,  
Αλεξανδρούπολη

### Περιεχόμενα

- Εισαγωγή-Ιστορική αναδρομή
- Ευεργετικές επιδράσεις των προβιοτικών
  - Αναπνευστικό σύστημα
  - Καρδιαγγειακό σύστημα
  - Γαστρεντερικό σύστημα
  - Ουρογεννητικό σύστημα
  - Άλλες παθήσεις και διαταραχές
- Μηχανισμοί δράσης των προβιοτικών
- Επίλογος

2

### Εισαγωγή


#### Προβιοτικός

Pro (λατινικά) + Βιοτικός (ελληνικά) = προάγω τη ζωή

**Προβιοτικοί μικροοργανισμοί είναι  
οι ζωντανοί μικροοργανισμοί,  
οι οποίοι όταν χορηγηθούν  
σε επαρκή ποσότητα  
ωφελούν την υγεία του ξενιστή  
(FAO/WHO, 2002)**

3

### Ιστορική Αναδρομή

- 1892, Doderlein      Θεραπεία κολιτικών λοιμώξεων με λακτοβακίλλους
  - 1900, H. Tissier      Απομόνωση *B. Bifidus*
  - 1907, Elie Metchnikov (1845-1916)      Ρώσος Βιολόγος-Ζωολόγος
  - Κάτοχος Βραβείου Νόμπελ Ιατρικής (1908) από κοινού με τον Paul Ehrlich.
- Η κυτταρική γήρανση προκαλείται από τοξικά βακτήρια στο έντερο. Το γαλακτικό οξύ, θα μπορούσε να παρατείνει τη ζωή. Στο βιβλίο του «*The Prolongation of Life: Optimistic Studies*», αναφέρεται για τη δυναμική επιμήκυνση της ζωής, σε σχέση με τις ιδιότητες των οξυγαλακτικών βακτηρίων *Lactobacillus subsp. delbrueckii bulgaricus*
- 
- 1911, Douglas      «The Bacillus of long life»
  - 1917, A. Nissle      Απομόνωση του βακτηρίου *E. coli* 'Nissle' και χρήση του στη θεραπεία γαστρεντερικών διαταραχών
  - 1935, Rettger      Προτείνει τον *L. acidophilus* ως ιδανικό για χρήση σε κλινικές μελέτες

4

### Ιστορική Αναδρομή

- 1935, **Minoru Shirota (1899-1982)**

Ιάπωνας Μικροβιολόγος, Ιδρυτής της εταιρείας Yakult. Καλλιέργησε ένα στέλεχος οξυγαλακτικού βακτηρίου, το *L. casei 'shirota'*, ανθεκτικό στο όξινο περιβάλλον του στομάχου και κυκλοφόρησε στην αγορά ένα προϊόν γάλακτος με την εμπορική του ονομασία 'Yakult'.



- 1950 Πρώτη εμφάνιση του όρου «προβιοτικό»
- 1984, RR. Hull Πρώτη χρήση του *L. acidophilus* σε κλινικές μελέτες
- 1991, J.E. Hoicomp Χρήση του *B. bifidum* σε κλινικές μελέτες
- 2002, FAO/WHO Επίσημος ορισμός των προβιοτικών

5

### Προβιοτικοί μικροοργανισμοί

**Lactobacilli:** *L. casei*, *L. rhamnosus*, *L. acidophilus*, *L. delbrueckii*

**Bifidobacteria:** *B. bifidum*, *B. infantis*, *B. breve*

**Yeast:** *S. cerevisiae*, *S. boulardii*

**Άλλα:** *Streptococcus thermophilus*, *E. coli* Nissle, *Lactococcus lactis*

6

### Προβιοτικά τρόφιμα

- Γαλακτοκομικά προϊόντα: γιαούρτι, τυρί, κεφίρ, ξυνόγαλα
- Προϊόντα κρέατος: λουκάνικα, αλλαντικά
- Ψωμί
- Ροφήματα
- Χυμοί



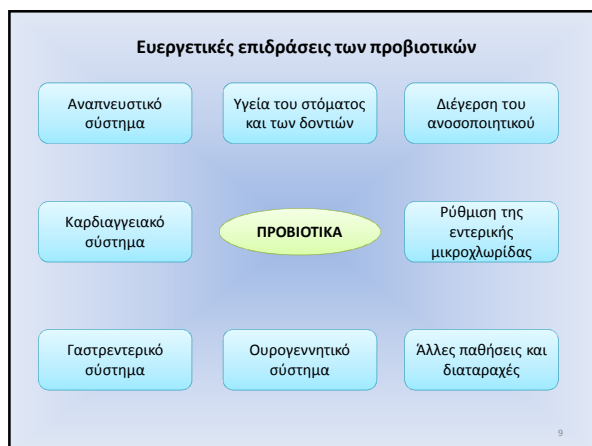
7

### Άλλα προβιοτικά προϊόντα

- Ταμπόν
- Τσιχλες
- Παστίλιες
- Οδοντόπαστα
- Καλαμάκι



8



**ΑΝΑΠΝΕΥΣΤΙΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ**

α) Λοιμώξεις του Ανώτερου Αναπνευστικού

- *Lactobacillus rhamnosus GG* (LGG), μειωμένος κίνδυνος εμφάνισης λοιμώξεων και μείωση των ημερών με αναπνευστικά συμπτώματα (Hojsak *et al.*, 2010).
- Η κατανάλωση Actimel από παιδιά και ηλικιωμένους οδήγησε σε μείωση των συμπτωμάτων και ειδικά στην περίπτωση της ρινοφαρυγγίτιδας (Guillemard *et al.*, 2010; Merenstein *et al.*, 2010).
- *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* και *S. salivarius* subsp. *thermophilus* επιφέρει προστατευτική δράση έναντι στο κοινό κρουσθόγημα (Makino *et al.*, 2010). Παρόμοια δράση οι *L. paracasei* 8700:2, *L. plantarum* HEAL 9 (Berggren *et al.*, 2011).

β) Αλλεργική ρινίτιδα  
Μείωση της βαρύτητας των συμπτωμάτων (Kopp & Saifeld, 2009; Soh *et al.*, 2009).

γ) Πνευμονία του αναπνευστήρα (VAP)  
Μείωση των συμπτωμάτων, της διάρκειας παραμονής στη ΜΕΘ, και του αποικισμού της αναπνευστικής οδού από παθογόνα όπως το *Pseudomonas aeruginosa* (Siempos *et al.*, 2008).

10

**ΚΑΡΔΙΑΓΓΕΙΑΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ**

Διασταυρούμενη μελέτη με 14 άτομα, Απλό γιαούρτι / προβιοτικό γιαούρτι. Προβιοτικά στελέχη *L. acidophilus* και *B. animalis* subsp. *lactis*. Κατανάλωση για 6 εβδομάδες με 4 εβδομάδες washout period.

Μείωση των επιπέδων της χοληστερόλης του αίματος μετά την κατανάλωση του προβιοτικού γιαουρτιού (Atoie-Jafari *et al.*, 2009).

11

**ΓΑΣΤΡΕΝΤΕΡΙΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ**

A) *H. pylori*

- *S. boulardii* για 4 εβδομάδες (κατά την διάρκεια της κλασικής τριπλής θεραπείας) και 1 εβδομάδα μετά το πέρας αυτής. Αύξηση των ποσοστών εκρίζωσης κατά 10% (Song *et al.*, 2010; Szajewska *et al.*, 2010).
- 90 παιδιά συμπτωματικά θετικά για *H. pylori*. Μείωση των παρενεργειών που σχετίζονται με τη λήψη αντιβιοτικών. Μείωση συμπτωμάτων όπως η διάρροια, η ναυτία αλλά και οι διάφορες διαταραχές γεύσης (Imase *et al.*, 2008; Hurdac *et al.*, 2009).
- 40 ενήλικες ασθενείς, *L. reuteri* ATCC 55730. Σημαντική μείωση στην κλίμακα έντασης των γαστρεντερικών συμπτωμάτων (Gastrointestinal Symptom Rating Scale - GSRS), συγκριτικά με την τιμή πριν την θεραπεία (Francavilla *et al.*, 2008).

12

### ΓΑΣΤΡΕΝΤΕΡΙΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ

#### Β) Ίδιοπαθείς φλεγμονώδεις νόσοι του εντέρου

##### Ελκώδης κολίτιδα

Προβιοτικό μίγμα VSL#3 για 6 εβδομάδες μαζί με τη φαρμακευτική αγωγή ασθενών οι οποίοι δεν ανταποκρίθηκαν στην κλασική θεραπεία. Καταστολή της νόσου, είτε απόκριση στο 77% των ασθενών (Bibiloni *et al.*, 2005).

Το VSL#3 φαίνεται να μειώνει το ποσοστό του δείκτη ενεργότητας της ελκώδους κολίτιδας (UC-Activity Index - UCDAI) (Tursi *et al.*, 2010).

##### Νόσος του Crohn

Δεν υπάρχει καμία διαφορά είτε στον βαθμό επαγωγής είτε στο βαθμό διατήρησης της καταστολής της νόσου ανάμεσα σε προβιοτικά σκευάσματα και placebo.

Σε ασθενείς με νόσο του Crohn σε καταστολή, η κατανάλωση σκευάσματος με τον προβιοτικό *S. boulardii* βελτιώνει την εντερική διαπερατότητα (Garcia Vilela *et al.*, 2008).

13

### ΓΑΣΤΡΕΝΤΕΡΙΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ

#### Γ) Διάρροιες

##### Σχετιζόμενες με αντιβιοτικά

- Μετα-ανάλυση με 10 κλινικές μελέτες, 1862 ανήλικοι και ενήλικες ασθενείς. Λήψη σκευάσματος με λακτοβάκιλλο ή placebo. Η λήψη λακτοβακίλλων καθ' όλη τη διάρκεια της θεραπείας (5-14 ημέρες) μείωσε τον κίνδυνο εμφάνισης διάρροιας στους ενήλικες αλλά όχι στους ανήλικους (Kale-Pradman *et al.*, 2010).
- Μετα-ανάλυση 35 κλινικών δοκιμών, 2810 ασθενείς. *S. boulardii*, LGG και μίγματα προβιοτικών μικροοργανισμών εμφανίζουν δυνητικά προστατευτικό αποτέλεσμα από τις σχετιζόμενες με αντιβιοτικά διάρροιες (McFarland LV, 2006).

14

### ΓΑΣΤΡΕΝΤΕΡΙΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ

#### *C. difficile*

- Μετα-ανάλυση με 6 μελέτες και συνολικά 354 ενήλικες ασθενείς. *S. boulardii*, πέτυχε αισθητή μείωση και προστασία από τις επαναλαμβανόμενες μολύνσεις με *C. difficile*, σε ασθενείς που ταυτόχρονα λάμβαναν βανκομυκίνη (McFarland LV, 2006).
- Σκεύασμα με τους *L. casei*, *L. bulgaricus* και *S. thermophilus* μπορεί να μειώσει την πιθανότητα εμφάνισης διάρροιας (Hickson *et al.*, 2007).

#### Οξείες ιογενείς διάρροιες

Παιδιά κάτω των 2 ετών. Σκεύασμα με τον προβιοτικό *S. boulardii* / *S. boulardii* σε μίγμα με άλλα στελέχη όπως *L. acidophilus*, *L. rhamnosus* και *B. longum*. Η ομάδα ελέγχου λάμβανε απλή θεραπεία επανυδάτωσης (Grandy *et al.*, 2010).

#### Βακτηριακές διάρροιες

Μόνο μια μελέτη εμφάνισε θετικά αποτελέσματα από τη χρήση του στελέχους *Lactobacillus paracasei* ST1 (Sarker *et al.*, 2005).

15

### ΓΑΣΤΡΕΝΤΕΡΙΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ

Διάρροια του ταξιδιώτη (Oksanen *et al.*, 2010).

Διάρροιες που σχετίζονται με έκθεση σε ακτινοβολία (O Delia *et al.*, 2007).

Διάρροιες που οφείλονται στη χημειοθεραπεία (Osterlund *et al.*, 2007).

Διάρροιες που οφείλονται στην εντερική σίτιση με σωλήνα (Bleichner *et al.*, 1997).

Διάρροιες σε ηλικιωμένα άτομα (Pitkala *et al.*, 2007).

16

### ΓΑΣΤΡΕΝΤΕΡΙΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ

#### Δ) Σύνδρομο ευερέθιστου εντέρου (Camilleri M, 2006a; 2006b)

- Αύξηση του πληθυσμού λακτοβακίλλων και *Bifidobacterium* στο κόλον με επακόλουθη πληθυσμιακή μείωση στους μικροοργανισμούς *Clostridia* και *Veillonella* και μείωση των βακτηριακά παραγόμενων αερίων.
- Αύξηση της παραγωγής λιπαρών οξέων μικρής αλυσίδας (SCFA) στο κόλον.
- Μείωση της δυσασπορόφησης των χολικών οξέων
- Προώθηση αντιφλεγμονωδών δράσεων στο εντερικό βλεννογόνο.

#### Ε) Δυσανεξία στη λακτόζη

- Ανασκόπηση του 2005 (Levri *et al.*, 2005) κατέληξε ότι δεν αποδεικνύονταν η χρησιμότητα των προβιοτικών για την θεραπεία της συγκεκριμένης συμπτωματολογίας.
- Ανασκόπηση, 7 διασταυρούμενες μελέτες (cross-over) και 1 παράλληλη. Τα αποτελέσματα των μελετών είτε δεν ανέφεραν σημαντική διαφορά στο σκορ συμπτωμάτων είτε ανέφεραν βελτίωση σε κλινικά ασήμαντες διαφορές όπως το φούσκωμα (Witt *et al.*, 2010).

17

### ΓΑΣΤΡΕΝΤΕΡΙΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ

#### ΣΤ) Καρκίνος του παχέος εντέρου

- Τροποποίηση των μεταβολικών δραστηριοτήτων της εντερικής μικροχλωρίδας.
- Πρόσδεση και αποικοδόμηση δυνητικών παθογόνων.
- Παραγωγή αντι-ογκογονικών ή αντι-νεοπλασματικών παραγόντων.
- Ενίσχυση της ανοσολογικής απόκρισης του ξενιστή.

#### Ζ) Νεκρωτική εντεροκολίτιδα νεογνών (NEC)

- Ανασκόπηση από τυχαιοποιημένες κλινικές μελέτες, χαμηλότερο ποσοστό εμφάνισης της NEC στα νεογνά στα οποία χορηγήθηκαν προβιοτικά (Deshpande *et al.*, 2007).
- Μετα-ανάλυση, έδειξε πως η χορήγηση προβιοτικών μείωσε σημαντικά την πιθανότητα εμφάνισης βαριάς μορφής NEC (Alfaieh *et al.*, 2009).

18

### ΟΥΡΟΓΕΝΝΗΤΙΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ

- *L. rhamnosus* GR-1 και *L. reuteri* RC-14 τη δεκαετία του '80.
- *L. reuteri* RC-14 παράγει επιφανειοδραστικές ουσίες που επηρεάζουν σε σημαντικό βαθμό την πρόσδεση των Gram θετικών βακτηρίων (Heinemann *et al.*, 2000) και την ιική μολυσματικότητα (Laughton *et al.*, 2006).

19

### Άλλες παθήσεις και διαταραχές

#### α) HIV/AIDS

- Αναδρομική μελέτη παρατήρησης, 150 άτομα θετικά για τον HIV ιό, μετρήσεις πληθυσμών CD4<sup>+</sup> T κυττάρων για 3 χρόνια. Σύγκριση των πληθυσμών των CD4<sup>+</sup> T, προβιοτικό γιαούρτι (68 άτομα) / ομάδα ελέγχου (82 άτομα). Μερίδες των 200ml με 10<sup>9</sup>cfu/ml *L. rhamnosus* GR-1, 1 φορά την εβδομάδα για 2 μήνες. Στατιστική αύξηση στον πληθυσμό των CD4<sup>+</sup> T κυττάρων. Μείωση των γαστρεντερικών συμπτωμάτων (Irvine *et al.*, 2010).
- 76 παιδιά μολυσμένα με τον ιό HIV. Γάλα-σκόνη με 2,5x10<sup>10</sup>cfu των *Bifidobacterium bifidum* και *Streptococcus thermophilus*, έναντι ενός εικονικού σκευάσματος. 2 μήνες, αύξηση στους πληθυσμούς των CD4<sup>+</sup> T κυττάρων σε σχέση με μείωση στην ομάδα ελέγχου (Trois *et al.*, 2007).

20

### Άλλες παθήσεις και διαταραχές

β) Υγεία του στόματος και των δοντιών (Mohanty *et al.*, 2012).

γ) Αλλεργικές διαταραχές (Doerge *et al.*, 2012).

δ) Κυστική ίνωση (Bruzzese *et al.*, 2004).

ε) Ρευματοειδής αρθρίτιδα (Hatakka *et al.*, 2003).

στ) Ασθένεια μοσχεύματος-εναντίον-ξενιστή (Gerbitz *et al.*, 2004).

ζ) Παχυσαρκία και μεταβολικές διαταραχές (Musso *et al.*, 2010).

21

### Μηχανισμοί δράσης των προβιοτικών

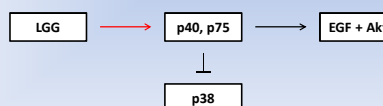
- Επαγωγή της σύνθεσης κυτταροπροστατευτικών πρωτεϊνών (Tao *et al.*, 2006)  
**hsp25** (σταθεροποίηση της ακτίνης), **hsp72** (αποτροπή της μετουσίωσης)

- Σηματοδοτικά μονοπάτια στα επιθηλιακά εντερικά κύτταρα



- *L. plantarum* ~~→~~ Φωσφορυλίωση/Ουβικιτίνωση **IκB** (Petrof *et al.*, 2009).
- VSL#3 ~~→~~ πρωτεασωμική αποικοδόμηση **IκB** (Iijon *et al.*, 2004).

- Ρύθμιση της απόπτωσης (Yan *et al.*, 2007).



22

### Μηχανισμοί δράσης των προβιοτικών

- Έκκριση στρώματος βλέννης

Αύξηση της έκφρασης MUC2 (Kim *et al.*, 2008).

- Έκφραση αντιμικροβιακών πεπτιδίων από τα κύτταρα του ξενιστή  
Καθελιδίνες και ντιφενσίνες, Symbioflor 2 (Symbiopharm) (Mondel *et al.*, 2008).

- Προβιοτικοί αντιμικροβιακοί παράγοντες

- Λιπαρά οξέα μικρής αλυσίδας (SCFA) (Ogawa *et al.*, 2001).
- Μείωση του pH (Asahara *et al.*, 2004).
- Βακτηρισίνες και μικροκίνες (Duquesne *et al.*, 2007).

- Προσκόλληση στο εντερικό επιθήλιο και ανταγωνισμός για τους πόρους  
(Grozdanov *et al.*, 2004; Wu *et al.*, 2008).

- Στεγανοί σύνδεσμοι (tight junctions) των επιθηλιακών κυττάρων  
(Yan *et al.*, 2007).

23

### Μηχανισμοί δράσης των προβιοτικών

- Εκκριτική IgA

Τα προβιοτικά φαίνεται να αυξάνουν την ολική αλλά και την αντιγονο-ειδική IgA, ενώ δεν προκαλούν την παραγωγή IgA για τα ίδια (Galdeano & Perdigon, 2006).

- Ανοσορύθμιση

- Δενδριτικά κύτταρα

Παραγωγή IL-10 (Foligne *et al.*, 2007), ασθενείς με ελκώδη κολίτιδα που λάμβαναν το μίγμα VSL#3 εμφάνισαν υψηλά επίπεδα IL-10 σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου (Ng *et al.*, 2008).

- Τ ρυθμιστικά κύτταρα

IL-10 και οι παράγοντες TGF-β, COX-2 και IDO οδηγούν σε CD4<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup> T ρυθμιστικά κύτταρα (Tregs) (Kwon *et al.*, 2010).

- NK κύτταρα

*L. pentosus* σε επαφή με DCs, παραγωγή IL-12, ενεργοποίηση NK και παραγωγή IFN-γ (Fink *et al.*, 2007).

- Μακροφάγα

Είσχυση της φαγοκυτταρικής ικανότητάς τους (Villena *et al.*, 2009).

24


### Προβιοτικά και μάρκετινγκ

25 εκατομμύρια μπουκάλια Yakult, καταναλώνονται ημερησίως

1,4 δις € οι πωλήσεις του Actimel για το 2006

28.8 δις € 2015 παγκόσμια αξία της αγοράς προβιοτικών


**Μεγάλο περιθώριο κέρδους:** Το Yakult κοστίζει στην Ολλανδία 4.79 € το λίτρο έναντι 0.75 € ενός κανονικού γιαουρτιού. Αντίστοιχα το Actimel κοστίζει στην Ελλάδα 6.82 € το λίτρο έναντι 3.02 € ενός κανονικού γιαουρτιού




25

### Ευεργετική δράση των προβιοτικών τροφίμων

Κατά πόσο τα υπάρχοντα δεδομένα επαρκούν για την εξαγωγή ασφαλών συμπερασμάτων;  
Μπορούν οι αντίστοιχες εταιρείες να ισχυριστούν ότι η κατανάλωση των εν λόγω προϊόντων τους έχει ευεργετικά οφέλη στην υγεία του καταναλωτή;



26

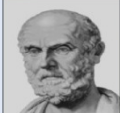
### Νομικές ρυθμίσεις

- FDA's Center for Food Safety and Applied Nutrition
- European Food Safety Authority (EFSA)

**Ετικέτα-Σήμανση**

Supplement Facts		
Serving Size 1 capsule		
Servings Per Container 100		
Amount Per Serving		%DV
L. Acidophilus (DDS-1™)	1,150 Billion CFU	*
L. Rhamnosus	1,150 Billion CFU	*
L. Rhamnosus (Type B, Bifidus)	775 Million CFU	*
S. Lactis	275 Million CFU	*
Bifidobacterium Longum	275 Million CFU	*
B. Bifidum	275 Million CFU	*
S. Thermophilus	150 Million CFU	*
Proprietary Blend	215 mg	*
FOS (fructooligosaccharides) and ulmus lva (inner bark).		

27



**«Φάρμακό σας ας γίνει η τροφή σας και η τροφή σας ας γίνει φάρμακό σας»**

Ιπποκράτης  
4ος π.Χ. αιώνας

Στο «Περί Διαίτης» έργο του (παρ. 2) αναφέρει : «Θεωρώ ότι, όποιος πρόκειται να συγγράψει ορθά για την ανθρώπινη διατροφή, πρέπει πρωτίστως να γνωρίζει και να διακρίνει την ανθρώπινη φύση...Εκτός όμως από αυτά ο συγγραφέας **πρέπει να γνωρίζει και τον ρόλο που παίζουν όλες οι τροφές** και τα ποτά που συνθέτουν την διατροφή μας, **ποια δύναμη έχει το καθένα** απ' την φύση, την ανάγκη και την ανθρώπινη επεξεργασία...»

28

Σας ευχαριστώ

