



H U 0 0 0 2 2 7 0 8 6 B 1

(19) **HU****MAGYAR KÖZTÁRSASÁG**
Magyar Szabadalmi Hivatal(11) Lajstromszám: **227 086**(13) **B1**

SZABADALMI LEÍRÁS

(21) A bejelentés ügyszáma: **P 99 04408**(51) Int. Cl.: **A61K 39/02** (2006.01)(22) A bejelentés napja: **1999. 11. 25.**(40) A közzététel napja: **2002. 03. 28.**(45) A megadás meghirdetésének dátuma a Szabadalmi
Közlöny és Védjegyértesítőben: **2010. 06. 28.**

(72) Feltalálók:

Bartus József, Sajóalgóc (HU);
dr. Lázár Erika, Budapest (HU);
dr. Varga Gyula, Kazincbarcika (HU);
dr. Újhelyi Károly, Budapest (HU)

(73) Jogosult:

Vakcina Kft. 1/1, Sajóalgóc (HU)

(74) Képviselő:

dr. Gárdonyi Zoltánné, DANUBIA Szabadalmi és
Védjegy Iroda Kft., Budapest(54) **Lactobacillus vakcina prosztatagyulladás és jóindulatú prostatahyperplasia kezelésére**

(57) Kivonat

A találmány prosztatagyulladás és jóindulatú prostatahyperplasia (I–II. stádium) kezelésére szolgáló vakcinára vonatkozik, amely a vakcinagyártásban szokásos vivőanyagok és/vagy egyéb segédanyagok mellett

olyan *Lactobacillus* törzseket tartalmaz elölt állapotban, amelyek más, sejtnekrózist okozó *Lactobacillus* törzsek ellen védőhatást mutatnak.

HU 227 086 B1

A találmány prosztatagyulladás és jóindulatú prostata-hyperplasia (I-II. stádium) kezelésére szolgáló, *Lactobacillus*-alapú vakcinára vonatkozik.

Egyes *Lactobacillus* törzsek patogén voltáról már 1938-ban beszámolt F. Marshall [Der Döderleinische *Bacillus vaginalis* als Endokarditiserreger, *Zentr. Bact. Parasit. Kde. I. Abt. Orig.*, 141, 153–159 (1938)], majd 1947-ben E. Biocca és A. Sepilli [Human infections caused by *Lactobacillii*, *J. Inf. Dis.*, 81, 112–115 (1947)], 1964-ben W. Sims [A pathogenic *Lactobacillus*, *J. Path. Bact.*, 87, 99–105 (1964)], 1965-ben B. Rosan és B. F. Hammond [Toxicity of *Lactobacillus casei*, *J. Dent. Res.*, 44, 783–787 (1965)], 1973-ban M. E. Sharpe, L. R. Hill és S. P. Lapage [Pathogenic *Lactobacillii*, *J. Med., Microbiol.*, 6, 281–286 (1973)].

G. Wied 1952-ben [*Zbl. Bact.*, 160, 413 (1952)] kimutatta, hogy egyes *Lactobacillus* törzseknek nyálkahártyát károsító hatása van. Rosan és Hammond (1965., id. h.) egérre is erősen patogén *Lactobacillus* törzseknél kimutatta, hogy mind az élő, mind a hővel előlt baktérium intrakután oltásával nyúl hátbőrén nekrozis keletkezik.

Újhelyi K. megállapította, hogy a hüvelyből kitenyésztett egyes *Lactobacillus* törzsekkel is nekrozist lehet előidézni. Vizsgálatai szerint a baktérium teste tartalmaz egy toxint, és ez felelős a hámsejtek károsításáért (Újhelyi K. et al.: Role of *Lactobacillus* in urogenital inflammations and their treatment with vaccination, Symposium cum participatione internationalis de Biocenosi Vaginae, Smolenie, 1983). Megállapította azt is, hogy a nyulakat vakcinázással immunizálni lehet a nekrotizáló hatás ellen. Nyulak hátbőrébe fecskendezve egyes *Lactobacillus* törzsek kisebb-nagyobb kiterjedésű nekrozist idéztek elő, míg más törzsek nem okoztak nekrozist, vagy pedig csak nagy koncentrációban. Megállapította azt is, hogy a nyulakat vakcinázással immunizálni lehet nekrotizáló hatás ellen. Egyes *Lactobacillus* törzsekből készített vakcinával intramuszkulárisan oltott nyulakat, majd hat héttel később a nyulak hátbőrébe olyan törzsekből készített szuszpenziót injektált, amelyek korábban nekrozist okoztak. Megfigyelte, hogy nekrozis nem következett be, vagy pedig csak lényegesen kisebb mértékű, mint a nem oltott nyulaknál.

Újhelyi K. megállapította továbbá, hogy a *Trichomonas vaginalis* a hüvelyi *Lactobacillus* törzsek által termelt tejsav fogyasztásával emeli a hüvely pH-ját, ezzel elősegíti a lactobacillusok túlszaporodását, miáltal a termelt toxin nagyobb koncentrációban van jelen, ami a hüvely nyálkahártyáját károsítva sejtn nekrozist okoz.

Ismeretes továbbá, hogy vannak *Lactobacillus* törzsek, amelyek receptorgátló és antibiotikus, valamint pH-módosító hatásuk következtében antagonista hatásúak gennykeltő mikroorganizmusokkal szemben [Reddy et al.: Natural antibiotic activity of *Lactobacillus*, *Dairy Prod. J.*, 18, 15–22 (1983); Salminen et al.: Lactic acid bacteria in the gut in normal and disordered states, *Dig. Dis.*, 10, 227–238 (1992)].

Az elmúlt években kimutatták, hogy egyes *Lactobacillus* törzsek direkt módon képesek T-lymphocytákhoz kapcsolódni, ugyanis mind a segítő T-sejtek, mind az ölt T-sejtek rendelkeznek speciális receptorral a lactobacillusok számára. Ezenkívül a lactobacillusok fokozzák a lymphocyták γ -interferontermelését és a természetes öltsejtek citotoxikus aktivitását [De Simone C. et al.: Enhancement of immune response of murine Peyer's patches by a diet supplemented with yoghurt, *J. Immunopharmacol.*, 1, 87–95 (1987)]. Kimutatták továbbá, hogy a lactobacillusok nem specifikus módon fokozzák az IgM és az IgG termelését (Blocksmá et al.: Adjuvant activity of *Lactobacillii*, different effects of viable and killed bacteria, *Clin. Exp. Immunol.*, 37, 367–373). Ezenkívül a lactobacillusok kísérleti körülmények között antitumor hatásúak, és a makrofágokat aktiválják [Kato I. et al.: Antitumor activity of *Lactobacillus casei* in mice, *Gann*, 72, 517–523 (1983); Oda M. et al.: Antitumor polysaccharide from *Lactobacillus* sp., *Agric Biol. Chem.*, 47, 1623–1627 (1983)]. Rüttgers H. megállapította, hogy lactobacillusok által kifejtett immunstimulációval tartósan és szignifikánsan emelkedik a hüvelyben a szekretoros IgA-szint [Bacterial vaginitis: Protection against infection and secretory immunoglobulin levels in the vagina after immunization therapy with Gynatren, *Gynecol. Obstet Invest.*, 26, 240–249 (1988)].

Újhelyi és munkatársai (1983. id. h.) aspecifikus immunstimulációra parenterálisan alkalmaztak lactobacillusokat, és megállapították, hogy más aspecifikus immunstimulációval szemben (például BCG, endotoxinok stb.) az alkalmazott *Lactobacillus* törzsek bizonyos bakteriális toxinok ellen is védőhatásúak. Különösen érvényes ez a toxikus *Lactobacillus* törzsekre.

Az Újhelyi által kitenyésztett törzsekből készült vakcinával (Gynevac®, Gynatren®, illetve SolcoTrichovac®) végzett vizsgálatokban megállapították, hogy más terápiás eljárásokkal szemben a lactobacillusok által kifejtett immunstimuláció helyreállítja a hüvely biológiai egyensúlyát, normalizálja a pH-t, csökkenti a patogén baktériumok számát, és hatására szaporodik a Döderlein-flóra. Ma már elfogadott tény, hogy a bakteriális és *Trichomonas*-eredetű gyulladásos hüvelymegbetegedések az ilyen vakcinával jobban gyógyíthatók, mint más terápiával, másrészt az, hogy az ilyen gyulladások a koraszülés legjelentősebb okai. Ezért a koraszülés gyakorisága is csökkenthető ilyen terápiával. Az erre vonatkozó összefoglalókat lásd például: Karkut G.: Wirkung einer *Lactobacillus*-Immuntherapie auf die Genitalinfektion der Frau (SolcoTrichovac/Gynatren), *Geburtsch. u. Frauenheilk.*, 44, 311 (1984); Lázár E., Varga Gy., Institoris I., Újhelyi K.: A koraszülést befolyásoló tényezők vizsgálata Kazincbarcikán, különös tekintettel a *Lactobacillus* vakcinációra, *Magyar Nőorvosok Lapja*, 51, 353–356 (1986); Lázár E., Varga Gy., Institoris I., Újhelyi K.: Kis súlyú újszülöttek arányszámának csökkentése terhesek lactobact vakcinációjával, *Orvosi Hetilap*, 37, 2263–2268 (1981); Rüttgers, 1988. id. h.; Újhelyi K., Philipp Gy., Plank Gy., Sági V.: A Trichomo-

nas syndrome I., *Magyar Nőorvosok Lapja*, 36, 433–442 (1973); Sharon *et al.*, *New England Journal*, 1995. december 28.

Az ötven év feletti férfiak több mint 50%-ának van prostatahyperplasiája és/vagy prosztatagyulladás. Számos ismert és alkalmazott terápia ellenére ezek a betegek évekig szorulnak gyógykezelésre – sokszor eredménytelenül. Az ismert, általánosan elfogadott kóroktan alapján nem feltételezhető, hogy a *Lactobacillus*-vakcina az ilyen betegségeket hatásosan gyógyítja.

Kutatásaink során felismertük azonban, hogy a prosztatában levő viszonyok kedveznek a lactobacillusok szaporodásának. Krónikus prosztatagyulladásos és prostatahyperplasiás betegektől gyakran lehet kitenyészteni patogén lactobacillusokat, ezért kutatást végeztünk *Lactobacillus*-vakcinák ilyen betegek gyógyításában történő alkalmazására.

A találmány tehát prosztatagyulladás és jóindulatú prostatahyperplasia (I–II. stádium) kezelésére szolgáló vakcinára vonatkozik, amely *Lactobacillus* törzseket tartalmaz.

A találmány szerinti vakcinában alkalmazott *Lactobacillus* törzsek ismert, a fent említett, kereskedelmi forgalomban levő Gynevac®, Gynatren®, illetve SolcoTrichovac® vakcinák alapját képező *Lactobacillus* törzsek, amelyeket korábban nőgyógyászati bakteriális eredetű gyulladásban szenvedő nőkből tenyésztettünk ki. Alkalmazhatók az egyes kitenyésztett törzsek önmagukban vagy törzskeverék formájában.

A találmány szerinti vakcinát a vakcinagyártásban ismert módszerekkel állíthatjuk elő. Előnyösen úgy járunk el, hogy a kitenyésztett törzseket liofilizált állapotban tároljuk, majd felhasználáskor módosított Man-Rogosa-Sharpe táptalajon 45 °C-on végzett tenyésztéssel szaporítjuk.

A táptalaj összetétele az alábbi, és készítése a következőképpen történik.

2300 ml steril desztillált vízbe egymás után, az előző komponens feloldódása után bemérjük a következő komponenseket:

30 g Baktotripton (Reanal)

30 g Lablemko (Reanal)

6 g K₂HPO₄

6 g triammónium-citrát

15 g nátrium-acetát

30 g glükóz

30 g laktóz

9 g maltóz

15 g élesztőkivonat (Reanal)

3 ml Tween 80

15 ml sóoldat (összetételt lásd alább)

majd steril desztillált vízzel 3 literre kiegészítjük, G4-es szűrőn át szűrve kisebb adagokba szétöltjük, és 121 °C-on 20 percig sterilizáljuk.

A fenti sóoldat összetétele: 250 ml steril desztillált vízben feloldott 28,75 g MgSO₄·7H₂O, 6 g MnSO₄·2H₂O és 1,7 g FeSO₄·7H₂O.

A tenyésztés után centrifugálással kapott és fiziológias konyhasóoldatban szuszpendált sejttöredéket for-

maldehiddel kezeljük. Az előlt sejteket összegyűjtjük, és fiziológias konyhasóoldatban szuszpendáljuk. A hígítás mértékét a szuszpenzió fehérjetartalma alapján állítjuk be. A találmány szerinti vakcina fehérjetartalma legalább 0,08 mg/ml és lehet 1 mg/ml vagy ennél több, előnyösen 0,08–0,32 mg/ml, még előnyösebben 0,16 mg/ml.

A találmány szerinti vakcina alkalmazott dózisa és adagolásának gyakorisága a kezelendő beteg állapotától és a kezelendő tünetek súlyosságától függ, a dózis és az adagolás gyakoriságának meghatározása a kezelőorvos hatáskörébe tartozik. Tapasztalatunk szerint előnyös, ha egy kúra során a vakcinát hetenként egyszer 1 ml mennyiségben intramuszkulárisan adagoljuk, összesen mintegy 5 alkalommal.

A találmány szerinti megoldást a következő példával szemléltetjük a korlátozás szándéka nélkül.

Példa

A találmány szerinti vakcinát krónikus prosztatagyulladás és/vagy prostatahyperplasia (I–II. stádium) diagnózissal kezelendő betegeken vizsgáltuk. A betegek 5 héten át heti egy alkalommal intramuszkulárisan 1 ml találmány szerinti *Lactobacillus*-vakcinát kaptak, miközben más gyógykezelésben nem részesültek.

A kezelés után végzett kontrollvizsgálatok eredményeit az alábbi táblázatokban foglaltuk össze.

Kezelt betegek száma: 127.

Diagnózis: prostatahyperplasia I–II.

Kezelés után eltelt idő	4–8 hét	2–4 hónap	6 hónap
Gyógyult	52 (40,94%)	állapotromlás egyetlen betegnél sem volt megfigyelhető	94 megvizsgált beteg 60%-a tünetmentes volt
Javult	47 (37,0%)		
Változatlan	28 (22,0%)		
Romlott	0		

Kezelt betegek száma: 168.

Diagnózis: krónikus prosztatagyulladás

Kezelés után eltelt idő	4–8 hét	2–4 hónap	6 hónap
Gyógyult	76 (45,23%)	állapotromlás egyetlen betegnél sem volt megfigyelhető	79 megvizsgált beteg 70%-a tünetmentes volt
Javult	61 (36,31%)		
Változatlan	31 (18,45%)		
Romlott	0		

A táblázatokból látható, hogy a találmány szerinti vakcinával kezelt betegek jelentős része gyógyult, illetve állapotuk lényegesen javult.

SZABADALMI IGÉNYPONTOK

1. Sejtnekrózist okozó *Lactobacillus* törzsek ellen védőhatást mutató *Lactobacillus* törzsek alkalmazása prosztatagyulladás és jóindulatú prostatahyperplasia (I–II. stádium) kezelésére szolgáló vakcina előállítására.

5

2. Eljárás *Lactobacillus* törzseket tartalmazó, prosztatagyulladás és jóindulatú prostatahyperplasia (I–II. stádium) kezelésére szolgáló vakcina előállítására, *azzal jellemezve*, hogy *Lactobacillus* törzseket – amelyek sejtnekrózist okozó *Lactobacillus* törzsek ellen védőhatást mutatnak – elölt formában, szokásos módon vakcinává alakítunk.