

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 575 246**

51 Int. Cl.:

**A61K 35/744** (2015.01)

**A23C 9/13** (2006.01)

**A61K 36/48** (2006.01)

**A23C 9/123** (2006.01)

**A61P 35/00** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **21.10.2010 E 10825003 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **25.05.2016 EP 2471544**

54 Título: **Lactobacillus casei para uso en la reducción del riesgo de desarrollar cáncer**

30 Prioridad:

**22.10.2009 JP 2009243251**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

**27.06.2016**

73 Titular/es:

**KABUSHIKI KAISHA YAKULT HONSHA (100.0%)  
1-19, Higashi Shinbashi 1-chome, Minato-ku  
Tokyo 105-8660, JP**

72 Inventor/es:

**TOI, MASAKAZU y  
OHASHI, YASUO**

74 Agente/Representante:

**UNGRÍA LÓPEZ, Javier**

**ES 2 575 246 T3**

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

**DESCRIPCIÓN**

*Lactobacillus casei* para uso en la reducción del riesgo de desarrollar cáncer

5 **[Campo técnico]**

La presente invención se relaciona con un agente y con un producto alimenticio para uso en la reducción del riesgo de desarrollar cáncer de mama gracias a la ingestión continua del mismo.

10 **[Técnica anterior]**

15 El cáncer de mama es un cáncer que se desarrolla en los tejidos mamarios, y un medio terapéutico para curar el cáncer de mama es, en principio, la cirugía. Además, se usa quimioterapia o radioterapia en combinación con dicha cirugía. En los últimos años, ha aumentado rápidamente el número de incidencias del cáncer de mama, y el cáncer de mama ha ocupado la primera posición en cuanto a morbilidad entre los cánceres femeninos en Japón.

20 El mayor factor de riesgo de desarrollar cáncer de mama es la historia familiar. Además, se considera que un estado a largo plazo de exceso de estrógenos se refleja en el desarrollo de cáncer de mama. Concretamente, se conocen factores de riesgo, tales como la ausencia de historia de gestación/partos, la falta de experiencia en la lactancia tras el nacimiento del primer hijo, una edad temprana en la menarquia, una edad tardía en la menopausia y experiencia de terapia hormonal.

25 Se ha dicho que las isoflavonas de la soja tienen una acción de tipo hormonas femeninas y una acción inhibitoria sobre la carcinogénesis (Documentos no de patente 1-3 y Documento de patente 1). Por otro lado, se sabe que un grupo de bacterias acidolácticas del género *Streptococcus*, del género *Bifidobacterium*, del género *Lactobacillus* y similares tienen una acción inhibitoria sobre la recurrencia del cáncer de vejiga, actividad arginina desaminasa y similares (Documentos de patente 2 y 3). Además, también se sabe que las células muertas de microorganismos del género *Lactobacillus* tienen una acción anticarcinogénica (Documento de patente 4).

30 [Documentos de la técnica anterior]

[Documentos de patente]

- 35 [Documento de patente 1] JP-A-9-238647
- [Documento de patente 2] JP-B-3014148
- [Documento de patente 3] JP-A-2002-504324
- [Documento de patente 4] JP-B-6-96538

40 [Documentos no de patente]

- 45 [Documento no de patente 1] K. D. R. Setchell, In Estrogens in the Environment, ed. por J. A. Mclachlen, pp. 69-85, Elsevier Science Publishing Co., Inc., New York, 1985
- [Documento no de patente 2] Oncogene, 6, 219, 1991
- [Documento no de patente 3] J. Steroid Biochem. Mol. Biol, 43, 557, 1992

**[Resumen de la invención]**

**[Problemas que la invención ha de resolver]**

50 Un objeto de la presente invención es no tratar el cáncer de mama desarrollado, sino proporcionar un agente o un alimento o una bebida para reducir el riesgo de desarrollar cáncer de mama mediante su ingestión antes del desarrollo del cáncer de mama.

**[Medios para solucionar los problemas]**

55 Así, los presentes inventores han estudiado la relación existente entre la ingestión de bacterias acidolácticas y el riesgo de desarrollar cáncer de mama. Como resultado, los inventores han visto que la incidencia de cáncer de mama en mujeres que ingirieron una composición que contenía células vivas de *Lactobacillus casei* es significativamente inferior desde el punto de vista estadístico a la incidencia de cáncer de mama en mujeres que no ingirieron dicha composición. Además, los inventores también han descubierto que la incidencia de cáncer de mama en mujeres que ingirieron tanto *Lactobacillus casei* como un ingrediente derivado de la soja se ve aún más reducida, completando así la presente invención.

Por consiguiente, la presente invención proporciona un agente para uso en la reducción del riesgo de desarrollar cáncer de mama, incluyendo una composición que contiene células vivas de *Lactobacillus casei*.

5 La presente invención también proporciona un agente para uso en la reducción del riesgo de desarrollar cáncer de mama, incluyendo una composición que contiene células vivas de *Lactobacillus casei* y un ingrediente derivado de la soja.

10 La presente invención también describe un método para reducir el riesgo de desarrollar cáncer de mama, incluyendo la ingestión de una composición que contiene células vivas de *Lactobacillus casei* o una composición que contiene células vivas de *Lactobacillus casei* y un ingrediente derivado de la soja antes del desarrollo del cáncer de mama.

15 La presente invención también proporciona una composición que contiene células vivas de *Lactobacillus casei*, o una composición que contiene células vivas de *Lactobacillus casei* y un ingrediente derivado de la soja, para uso en la reducción del riesgo de desarrollar cáncer de mama.

La presente invención también describe el uso de una composición que contiene células vivas de *Lactobacillus casei* o de una composición que contiene células vivas de *Lactobacillus casei* y un ingrediente derivado de la soja para la producción de un agente para reducir el riesgo de desarrollar cáncer de mama.

#### 20 **[Efectos de la invención]**

Según la presente invención, se puede reducir significativamente el riesgo de desarrollar cáncer de mama por ingestión de una composición que contiene células vivas de *Lactobacillus casei*.

#### 25 **[Breve descripción de los dibujos]**

[Fig. 1] La Fig. 1 es un gráfico que muestra la influencia de la ingestión de casei o de un ingrediente derivado de la soja sobre el índice de probabilidades del desarrollo de cáncer de mama (donde, en el gráfico, Bebida probiótica indica un producto alimenticio que contiene casei, Isoflavona de soja Q1 indica sujetos que no ingirieron isoflavonas derivadas de la soja (menos de 18,76 mg/día), Q2 indica un grupo de baja ingestión (de 18,76 a 28,81 mg/día), Q3 indica un grupo de ingestión media (de 28,81 a 43,75 mg/día) y Q4 indica un grupo de ingestión alta (43,75 o más mg/día)).

35 [Fig. 2] La Fig. 2 es un gráfico que muestra la interacción (índice de probabilidades) entre la ingestión de casei y la ingestión de un ingrediente derivado de la soja (donde, en el gráfico, Bebida probiótica indica un producto alimenticio que contiene casei, Isoflavona de soja Q1 indica sujetos que no ingirieron isoflavonas derivadas de la soja (menos de 18,76 mg/día), Q2 indica un grupo de baja ingestión (de 18,76 a 28,81 mg/día), Q3 indica un grupo de ingestión media (de 28,81 a 43,75 mg/día) y Q4 indica un grupo de ingestión alta (43,75 o más mg/día)).

#### 40 **[Realizaciones para llevar a cabo la invención]**

Un principio activo del agente para reducir el riesgo de desarrollar cáncer de mama de la presente invención consiste en células vivas de *Lactobacillus casei*, o una combinación de células vivas de *Lactobacillus casei* con un ingrediente derivado de la soja.

45 La forma útil de *Lactobacillus casei* en la composición usada en la presente invención no está particularmente limitada. El *Lactobacillus casei* puede estar liofilizado o desecado por aspersión, o puede ser también utilizado en forma de un producto de cultivo o de un producto procesado que contenga células del mismo. El *Lactobacillus casei* puede tener cualquier forma, siempre que las células puedan estar presentes vivas. La cepa de *Lactobacillus casei* no está particularmente limitada. Como ejemplos preferidos de la cepa de *Lactobacillus casei*, se incluyen *Lactobacillus casei* YIT 9018 (FERM BP-665), *Lactobacillus casei* YIT 9029 (FERM BP-1366) y *Lactobacillus casei* YIT 10003 (FERM BP-7707). De éstas, es particularmente preferible *Lactobacillus casei* YIT 9029.

55 La composición de la presente invención puede ser usada por administración oral o por administración parenteral. De éstas, es preferible la administración oral. Al realizar la administración, se puede mezclar una composición que contenga células vivas de *Lactobacillus casei* como principio activo con un soporte farmacéutico no tóxico sólido o líquido que sea adecuado para un método de administración tal como administración oral, administración intrarrectal o inyección, y administrarla luego en forma de una preparación farmacéutica de uso común. Como ejemplos de dicha preparación, se incluyen: agentes sólidos, tales como una tableta, un gránulo, polvo y una cápsula; agentes líquidos, tales como una solución, una suspensión y una emulsión; y preparaciones liofilizadas. Estas preparaciones pueden ser preparadas según un método ordinario para producir preparaciones. Como ejemplos del soporte farmacéutico no tóxico antes mencionado, se incluyen glucosa, lactosa, sacarosa, almidón, manitol, dextrina,

60

glicéridos de ácidos grasos, polietilenglicol, hidroxietilalmidón, etilenglicol, éster de polioxietilensorbitán y ácido graso, aminoácido, gelatina, albúmina, agua y solución salina. Además, se pueden añadir apropiadamente excipientes de uso común, tales como un estabilizador, un humectante, un agente emulsionante, un ligante, un agente de tonicidad y un diluyente, según sea necesario.

5 También se pueden usar productos que están disponibles como preparaciones farmacéuticas. Se pueden usar preferiblemente preparaciones farmacéuticas que contienen células vivas de *Lactobacillus casei*, que están fabricadas por Yakult Honsha Co., Ltd.. Como ejemplos específicos de dichas preparaciones farmacéuticas, se incluyen "Yakult BL Seichoyaku intestinal regulator" y "Yakult BL Seichoyaku intestinal regulator S-Tablet". También  
10 existe "Biolactis Powder" como un producto farmacéutico para uso médico.

La composición de la presente invención puede ser usada no sólo como preparación farmacéutica como se ha descrito anteriormente, sino también como un alimento o una bebida que contiene células vivas de *Lactobacillus casei*. Cuando se incorporan las células vivas de *Lactobacillus casei* a un alimento o a una bebida, pueden ser  
15 empleadas como tales o mezcladas con diversos ingredientes nutricionales. La composición de la presente invención puede ser usada como un alimento para la salud o como un material alimenticio que es útil para la reducción del riesgo de desarrollar cáncer de mama. Se puede adjuntar una indicación sobre dicho alimento o bebida o sobre un recipiente para los mismos con objeto de indicar que el producto tiene los efectos antes  
20 mencionados. Cuando se incorporan específicamente células vivas de *Lactobacillus casei* a un alimento o una bebida, se emplean aditivos que pueden ser usados para dichos alimentos y bebidas, según resulte apropiado, y se pueden procesar las células vivas de *Lactobacillus casei* por medios convencionales para obtener una forma adecuada para productos alimenticios, a saber, un gránulo, una partícula, una tableta, una cápsula, una pasta, etc. Además, se puede añadir la composición de la presente invención a diversos productos alimenticios, incluyendo, por  
25 ejemplo, productos cárnicos procesados, tales como jamón y salchichas, productos de marisco procesados, tales como *kamaboko* y *chikuwa*, pan, pastelería, mantequilla y leche en polvo. De manera alternativa, la composición de la presente invención puede ser también añadida a bebidas, tales como agua, zumo de frutas, leche, bebidas no  
alcohólicas y bebidas a base de té.

Además, como alimentos y bebidas, se usan preferiblemente alimentos y bebidas fermentadas que contienen  
30 *Lactobacillus casei* vivo, tales como alimentos y bebidas de leche fermentada, leche de soja fermentada, zumo de frutas fermentado y zumo vegetal fermentado. De éstos, se usan de un modo particularmente preferible alimentos y bebidas a base de leche fermentada. Dichos alimentos y bebidas de leche fermentada pueden ser producidos según métodos ordinarios. Por ejemplo, cuando se produce leche fermentada, se inocula *Lactobacillus casei* en un medio  
35 de leche esterilizado, solo o simultáneamente con otros microorganismos, y se cultiva después. A continuación, se somete el cultivo obtenido a un tratamiento de homogeneización para obtener una base láctea fermentada. Posteriormente, se añade una solución de jarabe preparada por separado y se mezcla con la base láctea fermentada, y se homogeneiza entonces la mezcla obtenida con un homogenizador o similar. A continuación, se añade también un saborizante al producto resultante, para obtener un producto final. El alimento o la bebida de  
40 leche fermentada que se obtiene de este modo puede tener cualquier forma, a saber, un tipo simple que no contiene jarabe (edulcorante), un tipo suave, un tipo con sabor a frutas, un sólido, un líquido, etc.

Dicho alimento o bebida de leche fermentada puede contener cualesquiera ingredientes dados, incluyendo edulcorantes, tales como jarabe, emulsionantes, espesantes (estabilizadores) y diversos tipos de vitaminas. Como  
45 ejemplos del jarabe, se incluyen: azúcares, tales como glucosa, sacarosa, fructosa, jarabe de maíz de alto contenido en fructosa, jarabe de glucosa y fructosa, palatinosa, trehalosa, lactosa, xilosa, maltosa, miel y melaza; alcoholes de azúcares, tales como sorbitol, xilitol, eritritol, lactitol, Palatinit, jarabe de contenido reducido en azúcar y jarabe de contenido reducido en azúcar de malta; y edulcorantes de gran intensidad, tales como aspartame, taumatina, sucralosa, acesulfame K y stevia. Además, dicho alimento o bebida de leche fermentada puede contener también:  
50 emulsionantes, tales como ésteres de sacarosa y ácidos grasos, ésteres de glicerina y ácidos grasos, ésteres de poliglicerina y ácidos grasos, ésteres de sorbitán y ácidos grasos y lecitina; y espesantes (estabilizadores), tales como agar, gelatina, carragenina, goma guar, goma xantana, pectina, goma de algarrobia, goma gelana, carboximetilcelulosa, polisacáridos de la soja y alginato de propilenglicol. Además de estas sustancias, dicho alimento o bebida de leche fermentada puede también contener: vitaminas, tales como vitamina A, vitaminas B,  
55 vitamina C y vitaminas E; minerales, tales como calcio, magnesio, zinc, hierro y manganeso; acidulantes, tales como ácido cítrico, ácido láctico, ácido acético, ácido málico, ácido tartárico y ácido glucónico; grasas lácteas, tales como nata, mantequilla y nata agria; saborizantes, tales como saborizantes de yogur, frutos del bosque, naranja, membrillo, perilla, cítricos, manzana, menta, uva, albaricoque, pera, natillas, melocotón, melón, plátano, frutas tropicales, hierbas, té, café, etc.; extractos de hierbas; y extractos de azúcar moreno.

60 Se pueden usar microorganismos distintos de *Lactobacillus casei* en combinación con *Lactobacillus casei* para la producción de alimentos y bebidas de leche fermentada. Como ejemplos de dichos microorganismos, se incluyen: bacterias del género *Bifidobacterium*, tales como *Bifidobacterium breve*, *B. longum*, *B. bifidum*, *B. animalis*, *B. suis*,

5 *B. infantis*, *B. adolescentis*, *B. catenulatum*, *B. pseudocatenulatum*, *B. lactis* y *B. globosum*; bacterias del género *Lactobacillus*, tales como *L. acidophilus*, *L. plantarum*, *L. buchneri*, *L. gallinarum*, *L. amylovorus*, *L. brevis*, *L. rhamnosus*, *L. kefir*, *L. paracasei*, *L. crispatus*, *L. zeae*, *L. helveticus*, *L. salivarius*, *L. gasseri*, *L. fermentum*, *L. reuteri*, *L. crispatus*, *L. delbrueckii subsp. bulgaricus*, *L. delbrueckii subsp. delbrueckii* y *L. johnsonii*; bacterias del género *Streptococcus*, tales como *Streptococcus thermophilus*; bacterias del género *Lactococcus*, tales como *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* y *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*; bacterias del género *Enterococcus*, tales como *Enterococcus faecalis* y *E. faecium*; bacterias del género *Bacillus*, tales como *Bacillus subtilis*; y levaduras pertenecientes al género *Saccharomyces*, al género *Torulasporea* y al género *Candida*, tales como *Saccharomyces cerevisiae*, *Torulasporea delbrueckii* y *Candida kefir*. Dichos alimentos y bebidas de leche fermentada son
 10 preferiblemente producidos mediante el uso combinado de *Lactobacillus casei* con uno o más tipos seleccionados entre el grupo consistente en bacterias del género *Lactobacillus* distintas de *Lactobacillus casei*, bacterias del género *Streptococcus* y bacterias del género *Lactococcus*, ya que se puede obtener una gran palatabilidad y resulta fácil ingerir los alimentos y bebidas de leche fermentada así producidos.

15 Además, también se pueden usar productos comerciales como dichos alimentos y bebidas de leche fermentada. Se pueden usar preferiblemente alimentos y bebidas de leche fermentada que contienen células vivas de *Lactobacillus casei*, fabricados por Yakult Honsha Co., Ltd.. Como ejemplos específicos de dichos productos, se incluyen productos de Yakult, tales como "Yakult," "Yakult 300V," "Yakult SHEs" y "Yakult 400", y otros productos, tales como "Joie," "Sofuhl," "Purela" y "Pretio". De éstos, se usan particular y preferiblemente los productos de Yakult, ya que
 20 contienen un gran número de células vivas de *Lactobacillus casei*.

25 La composición de la presente invención que contiene células vivas de *Lactobacillus casei* que se usa como principio activo ha sido convencionalmente utilizada como producto alimenticio, y se ha confirmado su seguridad. Por consiguiente, cuando se usa la composición de la presente invención, su ingestión no está estrictamente limitada. Su ingestión es preferiblemente de  $10^5$  ufc a  $10^{13}$  ufc, y en particular preferiblemente de  $10^8$  ufc a  $10^{12}$  ufc, de células vivas de *Lactobacillus casei* al día. Desde el punto de vista de la reducción efectiva del riesgo de desarrollar cáncer de mama, la frecuencia de ingestión de la composición es preferiblemente alta, y particular y preferiblemente de 4 o más veces a la semana. Además, el período durante el cual se ingiere la composición es preferiblemente largo, y en particular preferiblemente la composición es ingerida de manera continua durante 10 o
 30 más años. Más aún, con respecto a la edad del sujeto que ingiere la composición, un sujeto, de aproximadamente 20 años de edad, al que le faltarían de 20 a 35 años para desarrollar cáncer de mama, preferiblemente ingiere la composición 4 o más veces a la semana.

35 La composición para uso en la presente invención puede contener un ingrediente derivado de la soja. Ingeriendo dicho ingrediente derivado de la soja junto con células vivas de *Lactobacillus casei*, se puede reducir más eficazmente el riesgo de desarrollar cáncer de mama. Dicho ingrediente derivado de la soja puede ser usado en forma de soja como tal o de un producto procesado de soja. Como ejemplos del producto procesado de soja, se incluyen *miso*, *tofu*, *koya-tofu*, *shimi-dofu*, *nama-age*, *atsu-age*, *abura-age*, *natto*, leche de soja, salsa de soja, tempeh y suplementos y productos alimenticios para la salud que contienen un ingrediente derivado de la soja, tal como isoflavonas.
 40

45 El momento adecuado para ingerir el ingrediente derivado de la soja no está particularmente limitado. Puede ser ingerido simultáneamente al *Lactobacillus casei*, o puede ser ingerido antes o después de la ingestión del *Lactobacillus casei*. Un ejemplo preferido del ingrediente derivado de la soja, que se ingiere simultáneamente al *Lactobacillus casei*, es la leche de soja fermentada que contiene células vivas de *Lactobacillus casei*. La ingestión del ingrediente derivado de la soja es de 18,76 mg o más, preferiblemente de 28,81 mg o más y más preferiblemente de 43,75 mg o más, al día, tal como se describe en los siguientes Ejemplos.

50 Si se ingiere la composición de la presente invención antes del desarrollo del cáncer de mama, se puede reducir el riesgo de desarrollar cáncer de mama, y, por lo tanto, se puede prevenir el desarrollo de cáncer de mama. Más aún, incluso tras el desarrollo de cáncer de mama, se puede reducir el riesgo de recurrencia del cáncer de mama por ingestión de la composición de la presente invención después de haber extirpado, de haber reducido o de haber hecho desaparecer el cáncer de mama por cirugía, administración de fármacos, radioterapia, etc.

## 55 [Ejemplos]

A continuación, se describirá la presente invención con más detalle por medio de Ejemplos.

## 60 Ejemplos

En términos de la ingestión habitual de una composición que contenía *Lactobacillus casei*, se examinó a pacientes con cáncer de mama y a personas sin cáncer de mama usando cuestionarios autoadministrados y según técnicas de

entrevista. Además, en términos de ingestión también de isoflavonas de soja, se las examinó por los mismos métodos que los antes descritos.

1. Sujetos

Casos: 306 casos, mujeres pacientes con cáncer de mama de 40 a 55 años de edad (en el plazo de 1 año desde la cirugía) Controles: 662 controles, sujetos sin cáncer de mama, cuyo sexo, edad y área de residencia fueron cotejados con los de los casos antes mencionados. (Hay que hacer notar que 1 caso de control fue eliminado del análisis debido a deficiencia de un factor de ajuste).

En la Tabla 1 se muestran los antecedentes de los sujetos. Los datos que aparecen en la tabla están indicados cada uno de ellos con n (número) (%) o un valor medio (desviación estándar).

[Tabla 1]

	Caso	(n = 306)	Control	(n = 662)
Edad	47,5	(4,1)	47,3	(3,7)
En los 40	199	(65,0%)	461	(69,6%)
En los 50	107	(35,0%)	201	(30,4%)
Antecedentes académicos				
Distintos de universidad o escuela de postgrado	264	(86,3%)	518	(78,3%)
Universidad, escuela de postgrado o educación superior	42	(13,7%)	144	(21,8%)
Nivel de actividad física (Mets/día)	26	(13,3)	27	(12,8)
Anamnesis de tumor mamario benigno	51	(16,7%)	41	(6,2%)
Historia familiar de cáncer de mama	29	(9,5%)	28	(4,2%)
Edad en la menarquia (años)	13	(1,3%)	13	(1,3%)
Número de partos	2	(1,0%)	2	(1,1%)
Historia de lactancia materna	232	(75,8%)	528	(79,8%)
Menopausia	111	(36,3%)	200	(30,2%)
Historia de uso de un agente hormonal femenino				
No usado	254	(83,0%)	553	(83,5%)
Durante el uso/previamente usado	52	(17,0%)	109	(16,5%)
≥ 2.500 g	270	(88,2%)	584	(88,2%)
< 2.500 g	21	(6,8%)	48	(7,3%)
Desconocido/datos no disponibles	15	(4,9%)	30	(4,5%)
IMC (kg/m <sup>2</sup> ) a los 20 años de edad	20	(2,4%)	20	(2,2%)
Consumo de tabaco	38	(12,4%)	78	(11,8%)
Ingestión de energía (1.000 kcal/día)	2	(0,8%)	2	(0,8%)

2. Composición que contiene *Lactobacillus casei*

"Yakult" (fabricado por Yakult Honsha Co., Ltd.) "Productos de yogur que contienen *Lactobacillus casei*, tales como Joie y Sofuhl"

Los productos antes mencionados (Yakult, Joie y Sofuhl) contienen todos ellos células vivas de *Lactobacillus casei* YIT 9029.

3. Ingrediente derivado de la soja

Como productos alimenticios que contienen isoflavonas de soja, se examinaron los siguientes 9 productos alimenticios en términos de frecuencia de ingestión y de ingesta media para una ingestión simple.

- Sopa de miso
- Tofu (tofu hervido, tofu frío)
- Nama-age, atsu-age
- Natto
- Productos y suplementos alimenticios para la salud que contienen isoflavonas de soja
- Tofu (como relleno de la sopa de miso)
- Koya-tofu, shimi-dofu
- Abura-age
- Leche de soja

4. Análisis de los puntos de evaluación principales (estudios en cuanto a la relación entre la ingestión de *Lactobacillus casei* (abreviado de aquí en adelante como "casei") y el desarrollo de cáncer de mama)

(i) Definición de ingesta de casei

Como alimentos y bebidas (de aquí en adelante abreviados como "productos alimenticios") que contienen casei, se examinaron los dos productos alimenticios antes mencionados en términos de frecuencia de ingestión y de ingesta media para una ingestión simple.

Se define una variable binaria de la presencia o ausencia de exposición a casei en estos productos alimenticios (a saber, si un sujeto ha ingerido o no casei) para mujeres desde los grados superiores de la escuela primaria, quienes se supone que han experimentado, en general, la menarquia. Concretamente, se define un caso en el que la frecuencia de ingestión media de casei es inferior a 4 veces por semana como "no expuesta". Se define un caso en el que la frecuencia de ingestión media de *Lactobacillus casei* es de 4 o más veces por semana en "los grados superiores de la escuela primaria (de 10 a 12 años de edad)", "a aproximadamente los 20 años de edad" y "de 15 a 10 años atrás" como "expuesta".

Además, con objeto de estudiar la relación dosis-respuesta entre el desarrollo de cáncer de mama y la ingestión de casei, se usaron también 4 categorías, a saber, "no come (no bebe)", "de 1 a 3 veces al mes", "de 1 a 3 veces a la semana" y "4 o más veces a la semana". Como método para categorizar la frecuencia de ingestión de casei antes mencionada, se puntúan las frecuencias de ingestión en "los grados superiores de la escuela primaria (de 10 a 12 años de edad)", "a aproximadamente los 20 años de edad" y "de 15 a 10 años atrás" y se clasifican como sigue.

<Método de puntuación>

(1) Con respecto a la frecuencia de ingestión de cada producto alimenticio en cada período, se decide, en principio, que, como frecuencia de ingestión, se ingiere casei una vez al día durante 28 días (1 mes) (= 7 días/semana x 4), y se puntúa el número de días de ingestión de casei como sigue. Hay que indicar que, en cuanto al período cuestionado mientras se proporciona un cierto rango, se adopta un período como media del mismo.

- 2 o más veces cada día = 56 (= 2 veces/día x 28 días/mes)
- 1 vez cada día = 28 (= 1 vez/día x 28 días/mes)
- de 4 a 6 veces por semana = 20 (= 1 vez/día x 5 días/semana x 4 semanas/mes)
- 2 ó 3 veces por semana = 10 (= 1 vez/día x 2.5 días/semana x 4 semanas/mes)
- 1 vez por semana = 4 (= 1 vez/día x 1 día/semana x 4 semanas/mes)
- 2 ó 3 veces al mes = 2,5 (= 1 vez/día x 2,5 días/mes)
- 1 vez al mes = 1 (= 1 vez/día x 1 día/mes) No bebe = 0

(2) Se calcula un valor obtenido sumando todas las puntuaciones descritas en el punto (1) anterior de los períodos individuales y los productos alimenticios individuales y dividiendo luego la puntuación total entre {número de períodos (tres períodos) x número de semanas en un mes (4 semanas)}, a saber, la frecuencia de ingestión media para una semana (a la que de aquí en adelante se hará referencia como una "puntuación media"). Hay que indicar que dicha puntuación media es redondeada hasta el número entero más próximo.

(3) Se categorizan las puntuaciones medias obtenidas de la manera siguiente: "no bebe", "menos de 1 vez a la semana", "de 1 a 3 veces a la semana" y "4 o más veces a la semana."

(ii) Método de análisis

En primer lugar, en cuanto a la presencia o ausencia de ingestión de casei y a la presencia o ausencia del desarrollo de cáncer de mama, se calcula el intervalo de confianza del 95% a partir del índice de probabilidades y de la prueba de Wald. Para una prueba de hipótesis nula, se aplica una prueba de McNemar.

En segundo lugar, se calcula el intervalo de confianza del 95% a partir del índice de probabilidades y de la prueba de Wald basada en un análisis de regresión logístico condicional, en donde se toman en consideración factores de correspondencia de área de residencia y edad y una pluralidad de factores de ajuste. Los factores de ajuste aquí utilizados como datos continuos incluyen la edad en el momento de la menarquia, la ingesta energética, el momento, el número de partos y el Índice de Masa Corporal a una edad de alrededor de 20 años. Por otro lado, los factores de ajuste aquí utilizados como datos categóricos incluyen el estado civil, los antecedentes académicos, el hábito de fumador, el uso de agentes hormonales femeninos, haber sufrido una mastopatía, la presencia o ausencia de un miembro de la familia que sufrió/sufre cáncer de mama, la historia de lactancia materna y el peso corporal al nacer.

Además, se calcula el intervalo de confianza del 95% a partir del índice de probabilidades y de la prueba de Wald basada en un análisis de regresión logístico condicional, en donde se usa sólo el área de residencia como factor de cotejo y se usa la edad como variable continua y se considera con una pluralidad de otros factores de ajuste.

Además, se calcula el intervalo de confianza del 95% a partir del índice de probabilidades y de la prueba de Wald basada en un análisis de regresión logístico condicional, en donde se usa sólo el área de residencia como factor de cotejo y se categoriza la edad en los 40 y los 50 y se considera con una pluralidad de otros factores de ajuste.

5 Hay que indicar que el análisis antes descrito es llevado a cabo de dos formas, a saber, un análisis en el que se considera el cotejo y un análisis en el que no se considera el cotejo. Además, se realiza un análisis incluso basado en la experiencia de la menopausia.

10 5. Estudios en cuanto a la relación entre la duración del período de ingestión de casei y el desarrollo de cáncer de mama

(i) Definición de duración del período de ingestión de casei

15 La duración del período de ingestión de casei se clasifica en 4 categorías, a saber, "no ingerido", "menos de 5 años", "de 5 años o más a menos de 10 años" y "10 o más años". Se examinó la relación dosis-respuesta en términos de la presencia o ausencia del desarrollo de cáncer de mama y del período de ingestión de casei.

(ii) Método de análisis

20 Se aplica el mismo método de análisis que el descrito anteriormente.

6. Estudios en cuanto a la relación entre ingestión de isoflavonas de soja y desarrollo de cáncer de mama

(i) Definición de ingesta de isoflavonas de soja

25 La ingesta de isoflavonas de soja se clasifica en 4 categorías en base a puntos de cuartiles. Se examinó la relación dosis-respuesta en términos de la presencia o ausencia del desarrollo de cáncer de mama y de la ingesta de isoflavonas de soja.

30 (ii) Método de cálculo de la ingesta de isoflavonas de soja

Se calcula la ingesta de isoflavonas de soja usando el siguiente método de cálculo.

35 <Isoflavonas de soja, método de cálculo>

• Ingesta de productos de soja

40 (1) Se pone un valor numérico apropiado seleccionado entre los siguientes en una categoría como opción de frecuencia de ingestión de cada producto alimenticio.  
Menos de 1 vez al mes = 0

45 de 1 a 3 veces al mes = 2/30  
1 ó 2 veces a la semana = 1,5/7  
3 ó 4 veces a la semana = 3,5/7  
5 ó 6 veces a la semana = 5,5/7  
1 vez cada día = 1  
2 ó 3 veces cada día = 2,5  
de 4 a 6 veces cada día = 5  
7 o más veces cada día = 8

50 (2) Se pone un valor numérico apropiado seleccionado entre los siguientes en una categoría como opción de ingesta media.

55 Inferior a la ingesta media = 1/2  
Igual a la ingesta media = 1  
Superior a la ingesta media = 3/2

(3) Cálculo de la ingesta del producto de soja

60 Ingesta (g/día) de tofu (como relleno de sopa de miso) = valor (1) \* valor (2) \* 20

Ingesta (g/día) de tofu (tofu hervido, tofu frío o similar) = valor (1) \* valor (2) \* 75

## ES 2 575 246 T3

Ingesta (g/día) de koya-tofu o shimi-dofu = valor (1) \* valor (2) \* 60

Ingesta (g/día) de nama-age o atsu-age = valor (1) \* valor (2) \* 60

5 Ingesta (g/día) de abura-age = valor (1) \* valor (2) \* 2

Ingesta (g/día) de natto = valor (1) \* valor (2) \* 50

### • Ingesta de leche de soja

10 (4) Se pone un valor numérico apropiado seleccionado entre los siguientes en una categoría como opción de frecuencia de ingestión de leche de soja.  
Menos de 1 vez a la semana = 0

15 1 ó 2 veces a la semana = 1,5/7

3 ó 4 veces a la semana = 3,5/7

5 ó 6 veces a la semana = 5,5/7

1 copa al día = 1

2 ó 3 copas al día = 2,5

20 de 4 a 6 copas al día = 5

de 7 a 9 copas al día = 8

10 o más copas al día = 11

(5) Cálculo de la ingesta de leche de soja

25 Ingesta (g/día) de leche de soja = valor (4) \* 200

### • Ingesta de sopa de miso

30 (6) Se pone un valor numérico apropiado seleccionado entre los siguientes en una categoría como opción de frecuencia de ingestión de sopa de miso.  
Apenas se ingiere = 0

35 de 1 a 3 veces al mes = 2/30

1 ó 2 veces a la semana = 1,5/7

3 ó 4 veces a la semana = 3,5/7

5 ó 6 veces a la semana = 5,5/7

Se ingiere cada día = 1

40 (7) Se pone un valor numérico apropiado seleccionado entre los siguientes en una categoría como opción de ingesta de sopa de miso.  
Menos de 1 tazón = 0,5

45 1 tazón = 1

2 tazones = 2

3 tazones = 3

4 tazones = 4

5 tazones = 5

6 tazones = 6

50 de 7 a 9 tazones = 8

Más de 10 tazones = 11

(8) Se pone un valor numérico apropiado seleccionado entre los siguientes en una categoría como opción de sabor de la sopa de miso.

55 Sabor significativamente ligero = 0,5

Sabor ligeramente ligero = 0,75

Sabor normal = 1

Sabor ligeramente fuerte = 1,25

60 Sabor significativamente fuerte = 1,5

(9) Cálculo de la ingesta de sopa de miso

$$\text{Ingesta (g/día) de sopa de miso} = \text{valor (6)} * \text{valor (7)} * \text{valor (8)} * 150$$

5 (10) Cálculo de la ingesta de isoflavonas  
Utilizando los valores (3), (5) y (9) anteriores,

$$\begin{aligned} & \text{genisteína (mg/día)} \\ & = \text{ingesta (g/día) de tofu (como relleno de sopa de miso)} * (27 \text{ mg}/100 \text{ g}) \\ 10 & + \text{ingesta (g/día) de tofu (tofu hervido, tofu frío o similar)} * (27/100) \\ & + \text{ingesta (g/día) de koya-tofu o shimi-dofu} * (9/100) \\ & + \text{ingesta (g/día) de nama-age o atsu-age} * (26/100) \\ & + \text{ingesta (g/día) de abura-age} * (18/100) \\ 15 & + \text{ingesta (g/día) de natto} * (61/100) \\ & + \text{ingesta (g/día) de leche de soja} * (16/100) \\ & + \text{ingesta (g/día) de sopa de miso} * (2/100) \end{aligned}$$

y

$$\begin{aligned} 20 & \text{ daidzeína (mg/día)} \\ & = \text{ingesta (g/día) de tofu (como relleno de sopa de miso)} * (17/100) \\ & + \text{ingesta (g/día) de tofu (tofu hervido, tofu frío o similar)} * (17/100) \\ & + \text{ingesta (g/día) de koya-tofu o shimi-dofu} * (3/100) \\ & + \text{ingesta (g/día) de nama-age o atsu-age} * (15/100) \\ 25 & + \text{ingesta (g/día) de abura-age} * (8/100) \\ & + \text{ingesta (g/día) de natto} * (37/100) \\ & + \text{ingesta (g/día) de leche de soja} * (8/100) \\ & + \text{ingesta (g/día) de sopa de miso} * (2/100) \end{aligned}$$

$$30 \quad \text{Isoflavonas (mg/día)} = \text{genisteína (mg/día)} + \text{daidzeína (mg/día)}.$$

(iii) Método de análisis

35 Se aplica el mismo método de análisis que el descrito anteriormente.

7. Estudios en cuanto a la interacción de casei con isoflavonas

40 Se analizó también la interacción de la ingestión de casei con la ingestión de isoflavonas de soja. En el análisis de dicha interacción, se usan 8 combinaciones de 2 categorías de casei (menos de 4 veces por semana y 4 o más veces por semana) y 4 categorías de isoflavonas de soja (puntos de cuartiles). Se usa entonces un grupo en el que se ingiere casei menos de 4 veces por semana y no se ingieren isoflavonas de soja como categoría estándar, y se supone el índice de probabilidades de cada grupo. Se usan aquí los mismos modelos de análisis que los antes descritos.

45 8. Estudios en cuanto a la relación entre la ingestión de Yakult y el desarrollo de cáncer de mama

(i) Definición de la categorización de la ingesta de Yakult

50 Se examinó la ingesta de Yakult mediante el mismo método que el empleado en el caso de "casei", que es un factor de exposición en los puntos de evaluación principales. Por consiguiente, se aplica la misma categorización que la descrita anteriormente a la ingesta de Yakult.

(ii) Método de análisis

55 Se aplica el mismo método de análisis que el antes descrito.

9. Resultados

60 (i) Se vio que el índice de probabilidades del desarrollo de cáncer de mama en personas que ingirieron productos alimenticios que contenían casei 4 o más veces por semana era de 0,647 (intervalo de confianza (IC) del 95%: 0,420-0,997,  $p = 0,0483$ ), cuando se compararon con personas que no ingirieron dichos productos alimenticios (Fig. 1). En particular, se vio que el índice de probabilidades del desarrollo de cáncer de mama en personas que

ingirieron productos alimenticios que contenían casei 4 o más veces por semana cuando tenían aproximadamente 20 años de edad era de 0,583 (IC del 95%: 0,371-0,915,  $p = 0,0190$ ), cuando se compararon con personas que no ingirieron dichos productos alimenticios. Si se realizó el análisis en base a la experiencia de menopausia, antes de experimentar menopausia, se vio que el índice de probabilidades del desarrollo de cáncer de mama en personas que ingirieron productos alimenticios que contenían casei 4 o más veces por semana era de 0,779 (IC del 95%: 0,460-1,321,  $p = 0,3542$ ), cuando se compararon con personas que no ingirieron dichos productos alimenticios. Por otro lado, tras experimentar la menopausia, se vio que el índice de probabilidades del desarrollo de cáncer de mama en personas que ingirieron productos alimenticios que contenían casei 4 o más veces por semana era de 0,429 (IC del 95%: 0,186-0,985,  $p = 0,0461$ ), cuando se compararon con personas que no ingirieron dichos productos alimenticios. Además, el índice de probabilidades del desarrollo de cáncer de mama en personas que ingirieron productos alimenticios que contenían casei durante 10 o más años resultó ser de 0,815 (IC del 95%: 0,539-1,234), cuando se compararon con personas que no ingirieron dichos productos alimenticios.

La ingestión de productos alimenticios que contenían casei 4 o más veces por semana o durante 10 o más años tendía a disminuir el desarrollo de cáncer de mama.

(ii) Se vio que el índice de probabilidades del desarrollo de cáncer de mama en personas que ingirieron Yakult 4 o más veces por semana era de 0,742 (IC del 95%: 0,397-1,389,  $p = 0,3515$ ), cuando se compararon con personas que no ingirieron Yakult, y, por lo tanto, la ingestión de Yakult tendía a disminuir el desarrollo de cáncer de mama.

(iii) Con respecto a la ingestión de soja (productos de soja), se vio que el índice de probabilidades del desarrollo de cáncer de mama en un grupo de baja ingestión (de 18,76 a 28,81 mg/día) era de 0,763 (IC del 95%: 0,517-1,126), que en un grupo de ingestión media (de 28,81 a 43,75 mg/día) era de 0,532 (IC del 95%: 0,352-0,805) y que en un grupo de alta ingestión (43,75 o más mg/día) era de 0,476 (IC del 95%: 0,311-0,727), cuando se compararon con personas que no ingirieron dichos productos de soja (menos de 18,76 mg/día). Por lo tanto, la ingestión de productos de soja tendía a disminuir el desarrollo de cáncer de mama (linealidad  $p = 0,0002$ ) (Fig. 1).

Otros estudios también han reportado una reducción del riesgo de desarrollar cáncer de mama por ingestión de sojas. Dichos resultados de otros estudios respaldan la precisión del presente estudio y aumentan la fiabilidad del resultado de que la ingestión habitual de productos alimenticios que contienen casei, tales como Yakult, reduce el riesgo de desarrollar cáncer de mama.

(iv) La combinación de la ingestión de casei con la ingestión de un ingrediente derivado de la soja tendía a disminuir el índice de probabilidades del desarrollo de cáncer de mama, cuando los productos alimenticios que contenían casei eran ingeridos 4 o más veces por semana. En particular, se observaba dicha tendencia significativamente en personas que ingirieron una pequeña cantidad de ingrediente derivado de la soja. Mediante la ingestión de casei, el riesgo de desarrollar cáncer de mama tendía a reducirse aún más (Fig. 2).

(v) Estos resultados fueron obtenidos mediante un análisis de regresión logístico condicional, en donde sólo se usó el área de residencia como factor de cotejo y se categorizó la edad en los 40 y los 50, y se tomó en consideración con una pluralidad de otros factores de ajuste. Además, se realizó otro análisis usando los múltiples modelos descritos en el anterior punto (ii) Método de análisis para estudiar la relación entre la ingestión de *Lactobacillus casei* y el desarrollo de cáncer de mama, y se confirmó la solidez de los resultados.

**REIVINDICACIONES**

- 5 1. Una composición que contiene células vivas de *Lactobacillus casei* para uso en la reducción del riesgo de desarrollar cáncer de mama.
2. La composición para el uso según la reivindicación 1, donde la composición que contiene células vivas de *Lactobacillus casei* es un alimento o una bebida que contiene células vivas de *Lactobacillus casei*.
- 10 3. La composición para el uso según la reivindicación 1 ó 2, donde la composición que contiene células vivas de *Lactobacillus casei* es un alimento o una bebida de leche fermentada que contiene células vivas de *Lactobacillus casei*.
- 15 4. La composición para el uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, donde la composición es ingerida antes del desarrollo de cáncer de mama.
5. La composición para el uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, donde la composición es ingerida 4 o más veces por semana.
- 20 6. La composición para el uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, donde la composición es ingerida de manera continua durante 10 o más años.
7. La composición para el uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, donde la composición contiene además un ingrediente derivado de la soja.
- 25 8. Un agente para uso en la reducción del riesgo de desarrollar cáncer de mama, comprendiendo dicho agente la composición definida en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7.

Fig. 1

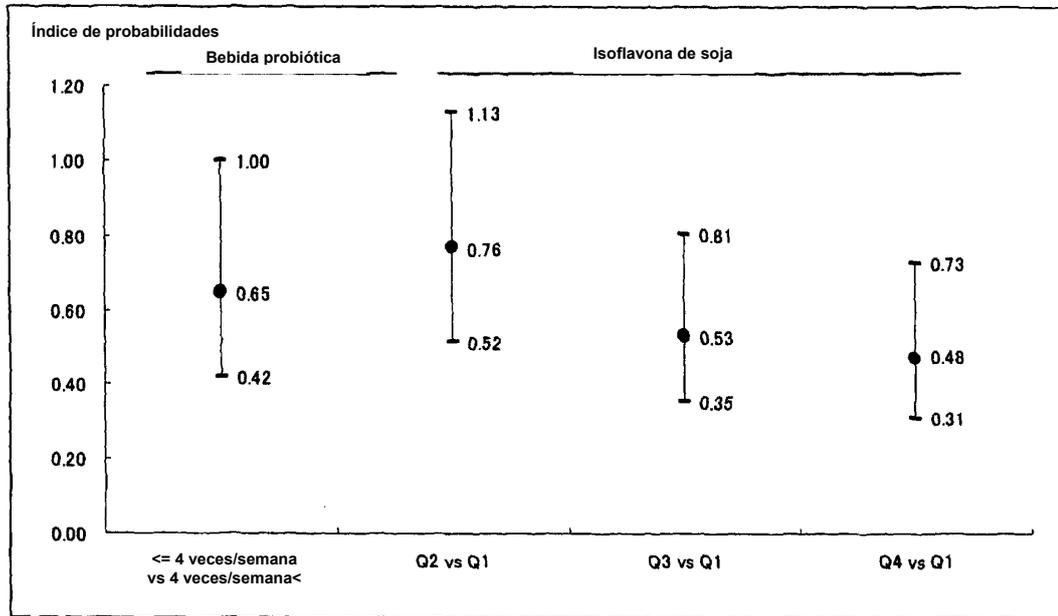


Fig. 2

