

El Kéfir y su efecto antitumoral

Salinas-Castañeda Alma Gabriela*^{1,2,4}, Reyes-Escobedo Fuensanta del Rocío⁴, González- Curiel Irma Elizabeth^{1,2}, Galván-Valencia Marisol^{1,3}, Cervantes-Villagrana Alberto Rafael^{1,2}

¹Maestría en Ciencias Biomédicas, Campus Siglo XXI, Carretera Zacatecas- Guadalajara Km. 6, Ejido la Escondida, C.P. 98160, Zacatecas, México.

²Laboratorio de Investigación en Inmunotoxicología y Terapéutica Experimental, Unidad Académica de Ciencias Químicas, Campus Siglo XXI, Carretera Zacatecas- Guadalajara Km. 6, Ejido la Escondida, C.P. 98160, Universidad Autónoma de Zacatecas, Zacatecas, México.

³Laboratorio de Investigación en Patologías y Productos Naturales, Unidad Académica de Ciencias Químicas, Campus UAZ siglo XXI, Carretera Zacatecas- Guadalajara Km. 6, Ejido la Escondida, C.P. 98160, Universidad Autónoma de Zacatecas, Zacatecas, México.

⁴Laboratorio de Microbiología, Unidad Académica de Ciencias Químicas, Campus UAZ siglo XXI, Carretera Zacatecas- Guadalajara Km. 6, Ejido la Escondida, C.P. 98160, Universidad Autónoma de Zacatecas, Zacatecas, México. *ln.gabysalinas@gmail.com

RESUMEN

Los probióticos son considerados como alimentos funcionales debido a los componentes bioactivos presentes en la leche fermentada como péptidos, polisacáridos y esfingolípidos, así mismo, participan en la síntesis de vitaminas del grupo B, ácidos grasos de cadena corta, además poseen la capacidad de colonizar el tracto gastrointestinal y producir sustancias antimicrobianas como ácido acético, ácido láctico, peróxido de hidrógeno y diacetilo. El Kéfir, es una leche fermentada elaborada a partir de gránulos de kéfir, los cuales están inmersos en una matriz de polisacáridos, compuesto por glucosa y galactosa. Se ha demostrado que el Kéfir tienen actividad antiinflamatoria, antibiótica, inmunomoduladora y antitumoral. En la presente revisión se abordarán los efectos antitumorales de Kéfir sobre líneas celulares de cáncer de; mama, leucemia, gástrico, colorectal y sarcoma. Los mecanismos involucrados incluyen detención del ciclo celular en fase pre G1, inducción de apoptosis, estimulación de la respuesta inmune por disminución de TGF- α e incremento de TGF- β 1 y perforación en la membrana de células leucémicas.

Palabras clave: Kéfir, Cáncer, Probióticos

ABSTRACT

Probiotics are considered as functional foods due to bioactive components present in fermented milk such as peptides, polysaccharides and sphingolipids, likewise, they participate in the synthesis of B vitamins, short chain fatty acids, they also have the ability to colonize the gastrointestinal tract and produce antimicrobial substances such as acetic acid, lactic acid, hydrogen peroxide and diacetyl. Kefir is a fermented milk made from Kefir granules, which are immersed in a matrix of polysaccharides, composed of glucose and galactose. Kefir has been shown to have anti-inflammatory, antibiotic, immunomodulatory and anti-tumor activity. In this review, the antitumor effects of Kefir on cancer cell lines of; breast, leukemia, gastric, colorectal and sarcoma. The mechanisms involved include arrest of the cell cycle in pre-G1 phase, induction of apoptosis, stimulation of the immune response by decreasing TGF- α and increasing TGF- β 1 and perforation in the membrane of leukemic cells.

Keywords: Kefir, Cancer, Probiotics

Área: Alimentos funcionales

Índice

1. Introducción	208
2. Kéfir como agente antiproliferativo	210
Tabla I. Principales mecanismos/efectos del Kéfir sobre líneas tumorales.	211
3. Inducción de apoptosis de células tumorales por Kéfir	211
4. El Kéfir en la modulación de la respuesta inmune antitumoral	212
5. Discusión y conclusiones	212
6. Bibliografía	213

1. INTRODUCCIÓN

Desde el nacimiento, el ser humano estará en contacto con bacterias probióticas, presentes en el canal de parto o bien al comienzo de la lactancia materna, de esta manera el aparato digestivo comenzará a poblarse de bacterias probióticas. Los probióticos se definen como microorganismos vivos que aplicados al hombre en cantidades adecuadas confieren efectos benéficos a la salud (OMS, 2004). A lo largo de la vida los seres humanos consumimos alimentos ricos en bacterias probióticas, provenientes principalmente de fermentados de origen lácteo, como yogurt y queso; en dicho proceso de fermentación se generan subproductos como péptidos, polisacáridos y esfingolípidos. Una vez que se consumen, en el proceso de la digestión se sintetizan vitaminas del grupo B, ácidos grasos de cadena corta, y además, poseen la capacidad de colonizar el tracto gastrointestinal y producir sustancias antimicrobianas como ácido acético, ácido láctico, peróxido de hidrógeno y diacetilo (Collado, Surono et al. 2007). Es por ello, que los probióticos son considerados como un alimento funcional (Roberfroid 2000).

Hoy en día, una de las bebidas probióticas que ha ganado popularidad entre la población, es el Kéfir, un tipo de bebida fermentada de origen caucásico elaborado a partir de gránulos de kéfir o búlgaros, los cuales están inmersos en una matriz de polisacáridos (Bottazzi and Bianchi 1980); dicha matriz contiene kefirán que es un polisacárido compuesto por glucosa y galactosa (Rodrigues, Caputo et al. 2005, ZAJŠEK, KOLAR et al. 2011). El término Kéfir, se deriva de la palabra Kef de origen turco, que significa "sabor agradable" (Guzel-Seydim, Seydim et al. 2000, de Oliveira Leite, Miguel et al. 2013). El Kéfir se produce al añadir a la leche una mezcla de bacterias ácido lácticas y levaduras provenientes de gránulos de kéfir, dichos gránulos son pequeños, duros, de forma irregular, de color blanco amarillento, con apariencia de granos de coliflor.

En búsqueda de microorganismos probióticos que mostraran tener propiedades antitumorales, Kato y colaboradores en 1981 estudiaron el efecto de *Lactobacillus casei* YIT 9018 sobre el crecimiento de sarcoma 180 y leucemia L1210 en un modelo animal (Kato, Kobayashi et al. 1981); dicha investigación dio pauta para continuar con investigaciones relacionadas a las propiedades antitumorales de las bacterias probióticas, específicamente por las derivadas del Kéfir, en donde se identificaron componentes bioactivos como péptidos, polisacáridos y esfingolípidos (Van 't Veer, van Leer et al. 1991, Furuya, Shimizu et al. 2011), mismos que pueden tener actividad antiinflamatoria, antibiótica, inmunomoduladora y antitumoral (Biffi, Coradini et al. 1997, Jalali, Sharifi et al. 2016).

En la presente revisión se abordarán diversos mecanismos por los cuales el Kéfir y sus subproductos inducen efectos antineoplásicos, destacando la detención del ciclo celular, la inducción de apoptosis, la estimulación de la respuesta inmune y el efecto citotóxico causado sobre células neoplásicas

2. KÉFIR COMO AGENTE ANTIPROLIFERATIVO

No todos los mecanismos de acción del Kéfir se han descrito con precisión, sin embargo, se sabe que los extractos de Kéfir intervienen en la detención del ciclo celular en el proceso tumoral y consecuentemente se propicia el decremento del tumor, esto se sustenta con el estudio realizado por Je-Ruei Liu, en donde los ratones implantados con células tumorales de Sarcoma 180 tratados con Kéfir de leche y Kéfir de soya disminuyeron asombrosamente el tamaño tumoral en un 64.8% y 70.9% respectivamente (Liu, Wang et al. 2002). A partir del experimento de Je-Ruei Liu en donde se observó el decremento de un tumor “sólido”, surgió la necesidad de probar los extractos de Kéfir en líneas celulares de leucemia (Rizk, Maalouf et al. 2009, Jalali, Sharifi et al. 2016), en donde se observó un aumento de células en fase pre G1, el cual es un indicativo de que el tratamiento con extractos de Kéfir detiene el ciclo celular, propiciando que las células tumorales no lleguen a la mitosis y, consecuentemente se genera el efecto antiproliferativo.

Durante la carcinogénesis, el TGF- α es una de las citocinas que participa activamente en la mitosis y consecuentemente es sobrepresada en el microambiente tumoral (Liu, Woo et al. 1990). Se ha mostrado evidencia en la cual, el Kéfir durante este proceso, disminuye la expresión de dicha citocina (Rizk, Maalouf et al. 2009, Maalouf, Baydoun et al. 2011). El estudio se realizó en células HuT-102 (linfocitos T malignos positivos para HTLV-1) en donde las células se incubaron con diferentes concentraciones de Kéfir, y mediante RT-PCR se analizaron los niveles de ARNm del TGF- α tras el tratamiento con Kéfir; finalmente la fracción libre de células de Kéfir provocó la regulación a la baja de TGF-alfa, y con ello se observó un marcado aumento de células en fase pre-G1.

Por su parte, TGF- β 1 participa normalmente en la supresión de tumores, sin embargo, se ha demostrado que la respuesta de una célula tumoral a TGF- β 1 depende de la línea celular (Khoury, El-Hayek et al. 2014). Es así que, una expresión a la baja de ésta citocina será indicativo de una alta proliferación de células tumorales. Experimentos en líneas celulares de leucemia tratadas con extractos de Kéfir demostraron que al aumentar la expresión de TGF- β 1 se genera la detención del ciclo celular necesaria para propiciar el efecto antiproliferativo (Maalouf, Baydoun et al. 2011).

Particularmente, se pudiera asumir que el efecto antiproliferativo de los extractos de Kéfir es más fuerte en sitios localizados al tracto gastrointestinal como el intestino grueso; por ello, se probó el efecto antiproliferativo en líneas celulares de cáncer colorrectal (Caco-2 y HT-29), en donde se hicieron estudios de citometría de flujo, encontrando que el tratamiento con Kéfir tiene un efecto antiproliferativo mediante el arresto del ciclo celular en fase G1, peculiarmente en la línea Caco-2; para demostrar dicho efecto se evaluó expresión de TGF- α y TGF- β 1 en donde los resultados mostraron únicamente la regulación negativa TGF- α en células HT-29 (Khoury, El-Hayek et al. 2014).

Tabla I. Principales mecanismos/efectos del Kéfir sobre líneas tumorales.					
Agente evaluado	Modelo	Línea experimental	Mecanismo de acción	Efecto	Bibliografía
Fracción de kéfir libre de células	<i>In vitro</i>	CME y Jurkat (leucemia)	Disminución de TGF- α y aumento de TGF- β 1	Antiproliferativo y proapoptótico	(Maalouf, Baydoun et al. 2011)
			Aumento fase preG1 del ciclo celular		
Fracción de kéfir libre de células	<i>In vitro</i>	SGC-7901(cáncer gástrico)	Inhibición de la fase G1 /	Antiproliferativo y proapoptótico	(Gao, Fengying et al. 2013)
			Regulación negativa de Bcl-2 y regulación positiva de Bax		
Fracción de kéfir libre de células	<i>In vitro</i>	Caco-2 y HT-29 (cáncer colorectal)	Detención del ciclo celular en la fase G1	Antiproliferativo y proapoptótico	(Khoury, El-Hayek et al. 2014)
			Regulación negativa de TGF- α y TGF- β 1		
			Aumento en la relación Bax: Bcl-2		

3. INDUCCIÓN DE APOPTOSIS DE CÉLULAS TUMORALES POR KÉFIR

La muerte celular programada es un proceso fundamental para el mantenimiento de las diversas funciones celulares; normalmente, la apoptosis está regulada mediante la expresión de proteínas tanto antiapoptóticas como proapoptóticas, sin embargo, en el proceso tumoral surge una serie de alteraciones en la apoptosis, lo cual permite no solo el desarrollo y la progresión del tumor, sino también la resistencia y poca respuesta a la terapia antitumoral. Un sello distintivo de las células tumorales es que la apoptosis puede estar mermada debido a la sobreexpresión de proteínas antiapoptóticas como Bcl-2, Bcl-xL, Bcl-W, Bfl-1 y Mcl-1 mismas que dotarán de supervivencia a las células tumorales al frenar la apoptosis bloqueando la liberación mitocondrial del Citocromo-C; de manera contraria, también podemos encontrar en el proceso tumoral la evasión de la proteína p53, que es una de las proteínas supresoras de tumores, y de ésta manera, las células tumorales buscarán burlar el proceso de apoptosis.

Si bien, la mayoría de los fármacos antitumorales, se dirigen a las vías de señalización apoptóticas con la finalidad de desencadenar la muerte de las células cancerosas, existen mecanismos que evaden el proceso de apoptosis como ya se mencionó con anterioridad, lo que limita la eficacia de las terapias, por lo tanto, se buscan alternativas que pueden aumentar la sensibilidad de las células cancerosas para restablecer su umbral apoptótico, tal es el caso de extractos derivados del Kéfir (Tabla I).

Los extractos de Kéfir fueron probados en la línea tumoral SGC-7901 de cáncer gástrico, en dónde se midió la proliferación celular utilizando el ensayo de MTT y por citometría de flujo se observó la detención del ciclo celular en fase G1 / S, además de que se midió la expresión de genes

proapoptóticos (Bax) y antiapoptóticos (Bcl-2) por medio de PCR en tiempo real, demostrando la regulación negativa de Bcl-2 y regulación positiva de Bax, generando así el efecto proapoptótico por extractos de Kéfir (Gao, Fengying et al. 2013)

Se ha demostrado también, que los extractos de Kéfir ejercen efecto pro-apoptótico sobre células de cáncer colorrectal (Caco-2 y HT-29) (Khoury, El-Hayek et al. 2014); se realizaron ensayos de citometría de flujo que mostraron un descenso celular en fase G2/M en células las HT-29, y, para comprobar la muerte celular se realizó análisis de PCR en tiempo real al medir la expresión de Bax y Bcl-2, en donde se observó una disminución de la expresión de Bcl-2, un indicativo más de la muerte de las células tumorales.

Otros compuestos de Kéfir como la PFT (mezcla compuesta principalmente de *Lactobacillus kefir* P-IF) han sido probados contra células de leucemia mieloide resistente a múltiples fármacos HL60/AR, en donde el tratamiento con PFT indujo apoptosis por la vía intrínseca al promover la activación de las caspasas 3 y 9, así mismo disminuyó la expresión de Bcl-2 y disminuyó la polarización de membrana mitocondrial. Además, se mostró mediante microscopía electrónica de barrido que PFT tenía la capacidad de generar agujeros en células HL60/AR al lesionar directamente la membrana celular, lo cual nos sugiere que la PFT puede actuar como agente antitumoral novedoso al ejercer un efecto directo sobre la célula tumoral (Ghoneum and Gimzewski 2014).

4. EL KÉFIR EN LA MODULACIÓN DE LA RESPUESTA INMUNE ANTITUMORAL

Es sabido que la respuesta inmune está disminuida en un proceso neoplásico y que, a su vez, desciende drásticamente la producción de inmunoglobulinas como la IgA, misma que es secretada mayormente en las mucosas del tracto gastrointestinal, en respuesta a la estimulación de las placas de Peyer mediante diversos antígenos, como bacterias ácido-lácticas contenidas en alimentos como el Kéfir. Existen experimentos como el de Liu que se realizaron con la finalidad de conocer el efecto inmunomodulador del Kéfir al medir la producción de IgA; para éste estudio se utilizaron ratones implantados con células tumorales de sarcoma S180 en donde se comparó el efecto del Kéfir proveniente de una leche vegetal (leche de soya) y el Kéfir de leche de vaca; mediante un ensayo ELISA se observó cómo los grupos tratados con Kéfir de leche y Kéfir de soya reflejaron un aumento en la producción de IgA, así mismo, en fotomicrografía se apreció la formación de centros germinales en las placas de Peyer, lo cual es un indicativo de que la administración oral de Kéfir de leche y Kéfir de soya activa los folículos linfoides subepiteliales localizados en el intestino delgado mejorando así la respuesta inmune (Liu, Wang et al. 2002).

5. DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

Si bien, se ha demostrado que los probióticos participan en mecanismos dirigidos a la inhibición y progresión de células cancerosas, aún falta conocer con precisión qué señales y receptores participan en la quimiotaxis entre las células cancerosas y las bacterias probióticas; una vez identificadas estas vías o mecanismos, los probióticos podrían representar un agente coadyuvante en el tratamiento antitumoral. Específicamente es prometedor el panorama de los extractos del Kéfir ya que de manera contundente muestran efectos antitumorales sobre líneas celulares de leucemia, sarcoma, cáncer de mama, cáncer gástrico y cáncer colorectal. Los mecanismos involucrados incluyen detención del ciclo celular en fase pre G1, inducción de apoptosis, estimulación de la respuesta inmune por disminución de TGF- α e incremento de TGF- β 1 y perforación en la membrana de células leucémicas.

6. BIBLIOGRAFÍA

- Arslan, S. (2015). "A review: chemical, microbiological and nutritional characteristics of kefir." *CyTA - Journal of Food* **13**(3): 340-345.
- Biffi, A., D. Coradini, R. Larsen, L. Riva and G. Di Fronzo (1997). "Antiproliferative effect of fermented milk on the growth of a human breast cancer cell line." *Nutrition and Cancer* **28**(1): 93-99.
- Bottazzi, V. and F. Bianchi (1980). "A note on scanning electron microscopy of micro-organisms associated with the kefir granule." *Journal of Applied Bacteriology* **48**(2): 265-268.
- Chen, C., H. M. Chan and S. Kubow (2007). "Kefir extracts suppress in vitro proliferation of estrogen-dependent human breast cancer cells but not normal mammary epithelial cells." *J Med Food* **10**(3): 416-422.
- Collado, M. C., I. S. Surono, J. Meriluoto and S. Salminen (2007). "Potential probiotic characteristics of Lactobacillus and Enterococcus strains isolated from traditional dadih fermented milk against pathogen intestinal colonization." *J Food Prot* **70**(3): 700-705.
- de Oliveira Leite, A. M., M. A. Miguel, R. S. Peixoto, A. S. Rosado, J. T. Silva and V. M. Paschoalin (2013). "Microbiological, technological and therapeutic properties of kefir: a natural probiotic beverage." *Braz J Microbiol* **44**(2): 341-349.
- Furuya, H., Y. Shimizu and T. Kawamori (2011). "Sphingolipids in cancer." *Cancer Metastasis Rev* **30**(3-4): 567-576.
- Gao, J., G. Fengying, H. Guoqing, R. Hui, H. Jie and C. Qihe (2013). "Induction of apoptosis of gastric cancer cells SGC7901 in vitro by a cell-free fraction of Tibetan kefir." *International dairy journal* **30**(1): 14-18.
- Ghoneum, M. and J. Gimzewski (2014). "Apoptotic effect of a novel kefir product, PFT, on multidrug-resistant myeloid leukemia cells via a hole-piercing mechanism." *Int J Oncol* **44**(3): 830-837.
- Jalali, F., M. Sharifi and R. Salehi (2016). "Kefir induces apoptosis and inhibits cell proliferation in human acute erythroleukemia." *Med Oncol* **33**(1): 7.
- Kato, I., S. Kobayashi, T. Yokokura and M. Mutai (1981). "Antitumor activity of Lactobacillus casei in mice." *Gan* **72**(4): 517-523.
- Khoury, N., S. El-Hayek, O. Tarras, M. El-Sabban, M. El-Sibai and S. Rizk (2014). "Kefir exhibits antiproliferative and proapoptotic effects on colon adenocarcinoma cells with no significant effects on cell migration and invasion." *Int J Oncol* **45**(5): 2117-2127.
- Kok-Tas, T., A. C. Seydim, B. Ozer and Z. B. Guzel-Seydim (2013). "Effects of different fermentation parameters on quality characteristics of kefir." *J Dairy Sci* **96**(2): 780-789.
- Leite, A. M., B. Mayo, C. T. Rachid, R. S. Peixoto, J. T. Silva, V. M. Paschoalin and S. Delgado (2012). "Assessment of the microbial diversity of Brazilian kefir grains by PCR-DGGE and pyrosequencing analysis." *Food Microbiol* **31**(2): 215-221.
- Liu, C., A. Woo and M. S. Tsao (1990). "Expression of transforming growth factor-alpha in primary human colon and lung carcinomas." *Br J Cancer* **62**(3): 425-429.
- Liu, J. R., S. Y. Wang, Y. Y. Lin and C. W. Lin (2002). "Antitumor activity of milk kefir and soy milk kefir in tumor-bearing mice." *Nutr Cancer* **44**(2): 183-187.
- Maalouf, K., E. Baydoun and S. Rizk (2011). "Kefir induces cell-cycle arrest and apoptosis in HTLV-1-negative malignant T-lymphocytes." *Cancer Manag Res* **3**: 39-47.
- Magalhaes, K. T., G. V. de Melo Pereira, C. R. Campos, G. Dragone and R. F. Schwan (2011). "Brazilian kefir: structure, microbial communities and chemical composition." *Braz J Microbiol* **42**(2): 693-702.
- Rizk, S., K. Maalouf and E. Baydoun (2009). "The antiproliferative effect of kefir cell-free fraction on HuT-102 malignant T lymphocytes." *Clin Lymphoma Myeloma* **9 Suppl 3**: S198-203.

- Roberfroid, M. B. (2000). "Prebiotics and probiotics: are they functional foods?" Am J Clin Nutr **71**(6 Suppl): 1682S-1687S; discussion 1688S-1690S.
- Rodrigues, K. L., L. R. Caputo, J. C. Carvalho, J. Evangelista and J. M. Schneedorf (2005). "Antimicrobial and healing activity of kefir and kefir extract." Int J Antimicrob Agents **25**(5): 404-408.
- Sabir, F., Y. Beyatli, C. Cokmus and D. Onal-Darilmaz (2010). "Assessment of potential probiotic properties of Lactobacillus spp., Lactococcus spp., and Pediococcus spp. strains isolated from kefir." J Food Sci **75**(9): M568-573.
- Shanahan, F. (2000). "Probiotics and inflammatory bowel disease: is there a scientific rationale?" Inflamm Bowel Dis **6**(2): 107-115.
- Van 't Veer, P., E. M. van Leer, A. Rietdijk, F. J. Kok, E. G. Schouten, R. J. Hermus and F. Sturmans (1991). "Combination of dietary factors in relation to breast-cancer occurrence." Int J Cancer **47**(5): 649-653.
- ZAJŠEK, K., M. KOLAR and A. GORŠEK (2011). "Characterisation of the exopolysaccharide kefir produced by lactic acid bacteria entrapped within natural kefir grains." International Journal of Dairy Technology **64**(4): 544-548.