

## Formular pentru Consimțământul Informat

Numele și Prenumele participantului: .....

Acest Formular pentru Consimțământul Informat este adresat bărbaților și femeilor, cu vârste cuprinse între 40 și 75 de ani, toți sănătoși din punct de vedere medical, recrutați din rândul populației locale. Toți sunt în evidența CAS din Craiova, Dolj, România și au fost invitați să participe la cercetarea „**Supliment alimentar (cocktail) accesibil microbiotei intestinale pentru longevitate sănătoasă**” care vizează efectele asupra biomarkerilor de evaluare a longevității sănatoase.

Titlul public al proiectului nostru de cercetare este:

„**Supliment alimentar complex (cocktail) pentru longevitate sănătoasă**”(CoLoSaN), iar din punct de vedere științific proiectul de cercetare se intitulează:

**COCKTAIL ACCESIBIL MICROBIOTEI PENTRU O LONGEVITATE SĂNĂTOASĂ**  
(MICROBIOTA-ACCESSIBLE COCKTAIL FOR HEALTHY LONGEVITY)

Acest trial are loc într-un singur centru este randomizat și controlat fără placebo.

Numele Cercetătorului Principal: **Prof. dr. Romulus Ion Scorei**

Numele Organizației: **Institutul de Cercetare Bioboron, Craiova, Dolj, România**

Numele Sponsorului: **S.C. Natural Research S.R.L. Craiova și Universitatea de Medicină și Farmacie din Craiova, Dolj, România**

Acest Formular pentru Consimțământul Informat are două secțiuni:

- **Date despre trial** (împărtășirea informațiilor despre această cercetare cu participanții)
- **Certificatul de Consimțământ** (semnătura dvs prin care vă dați acordul de a lua parte la acest trial).

**Dvs. veți primi un exemplar al prezentului Formular pentru Consimțământul Informat!**

### SECȚIUNEA I: **Date despre trial**

#### **Introducere**

Sunt Prof. dr. Romulus Ion Scorei și coordonez activitatea de cercetare de la Institutul Bioboron. Împreună cu Universitatea de Medicină și Farmacie din Craiova realizăm o cercetare asupra unui supliment natural, amestec de prebiotice, stimulatori de autofagie și activatori senolitici și probiotice naturale, care se găsesc în legume și fructe, și care poartă denumirea: „**Supliment alimentar(cocktail) complex pentru longevitate sănătoasă**”(CoLoSan).

Dorim să evidențiem efectele acestuia asupra biomarkerilor de evaluare a longevității sănatoase pentru persoanele sănatoase din punct de vedere medical. Vă voi furniza toate informațiile necesare și vă invit să luați parte la această cercetare. Nu trebuie să vă decideți pe moment dacă participați sau nu la această cercetare. Înainte să luați o decizie, puteți vorbi cu orice persoană în care aveți încredere despre participarea la acest trial clinic. S-ar putea să existe unele cuvinte pe care să nu le înțelegeți. Vă rog să mă opriți de fiecare dată pentru a vi le explica pentru ca totul să fie foarte clar. Dacă aveți întrebări, mă puteți întreba în orice moment.

#### **Scopul cercetării**

Studiile paraclinice și clinice efectuate anterior au indicat ca toți compușii conținuți în acest cocktail supliment alimentar, CoLoSan, au acțiune benefică asupra menținerii unei vieți sănatoase și cu speranțe pentru o longevitate sănatoasă.

În acest sens, la începutul studiului este nevoie ca participanții să efectueze următoarele analize biochimice, care descriu foarte bine o sănătate bună și o viață lungă : **acidul uric, proteina C reactivă de**

**înalță sensibilitate** (hs-CRP), **profilul lipidic** (colesterol total, LDH, HDL și trigliceridele), **glucoza, testele biochimice hepatice** (gama-glutamil transferaza -GGT, fosfataza alcalina -ALP, lactat dehidrogenază-LDH), **creatinina, capacitatea totală de legare a fierului** (un test de capacitate totală de legare a fierului este un test de sânge care vă spune cât de mult transferina din sângele dumneavoastră se leagă de fier, ceea ce vă spune cât de bine funcționează fierul în corpul dumneavoastră) și **nivelul total de fier din ser, sideremia** (poate determina dacă o persoană are niveluri anormale de fier sau scăzute de fier în sânge; un nivel anormal de fier va fi de peste 145 µg/ dl pentru bărbați și peste 150 µg/ dl pentru femei).

Motivul pentru care realizăm această cercetare este acela de a dovedi că acest cocktail „**Supliment alimentar complex (cocktail) pentru longevitate sănătoasă**”(CoLoSan) are acțiune asupra biomarkerilor dovediți că sunt implicați în prognosticul unei vieți lungi și sănătoase.

### Evaluarea cercetării - Informații despre cocktail

Prezentul studiu clinic implică administrarea orală a următoarelor 5 suplimente nutritive:

1. **Bor organic** (1 capsulă pe zi);
2. **Butirat de calciu** (1 capsulă pe zi);
3. **Chelatizatori de fier** (curcumina și epigalocatehina) (1 capsulă pe zi);
4. **Stimulatori de autofagie și activatori senolitici** (spermidina, glutamina, fisetina și quercitina) (1 capsulă pe zi);
5. **Complex Probiotic** (*Lactobacillus plantarum*, *Streptococcus thermophilus*, *Bifidobacterium animalis*, *B.adolescentis*, *B.longum*, *Bacillus subtilis* și *Bacillus coagulans*). (1 capsulă pe zi);

Suplimentele se vor lua în cursul aceleiași zile, după masa de dimineață, sau/și masa de prânz (o singură dată sau de 2 ori).

După terminarea celor 60 zile, studiul pilot va lua sfârșit, și se vor repeta analizele biochimice menționate mai sus.

Rolul fiecărei clase de compuși din acest complex de suplimente nutritive asupra stării de sănătate se menționează mai jos:

1. **Borul Organic:** este compus din fructoborat de calciu, un compus natural al borului, care se găsește în fructe, mai ales în struguri și stafide.

Revizii excelente privind știința fructoboratului și a borului organic se găsesc în aceste două lucrări, disponibile **aici** : <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC6373344/> și <https://www.mdpi.com/1422-0067/23/16/9147> . Rolul său fundamental este de a asigura o simbioză sănătoasă între microbiota intestinală și gazda umană. O revizie excelentă privind complexii naturali ai borului și efectele acestora asupra unei vieți lungi și sănătoase se găsește **aici**: <https://www.mdpi.com/2304-6740/12/12/308> .

2. **Butiratul de calciu:** este o sare de calciu a acidului butiric care ameliorează inflamația colonului, sugerând un posibil rol benefic în tratamentul bolilor inflamatorii ale colonului. Mai mult, butiratul de calciu a prezentat efecte antitumorale notabile *in vivo* și *in vitro*. Revizii științifice privind efectul butiratului asupra sănătății umane se găsesc **aici**: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2405654517301397> și **aici**: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34768480/> .

3. **Chelatizatorii de fier** (epigalocatehina-EGCG și curcumina - CCM):

**EGCG** este un ester al epigalocatehinei și acidul galic, fiind cel mai abundent compus polifenolic din ceaiul verde. EGCG este un polifenol care a făcut obiectul unor multiple cercetări clinice care investighează potențialul său de a ajuta sănătatea umană și de a ameliora unele boli. EGCG a relevat o activitate puternică de captare a radicalilor liberi 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH•) dependent de doză, care a fost mai mare decât cea a acidului L-ascorbic (vitamina C), la aceeași concentrație molară, deoarece conține opt grupări fenolice. Una dintre cele mai benefice proprietăți ale EGCG este capacitatea

sa de a chelatiza fierul liber (Fe) în corpul uman. EGCG este un agent care are rol atât în chelativarea Fe, cât și în creșterea capacității de producție a sideroforilor, împreună cu bacteriile probiotice *Bifidobacterium* spp. și *Bacillus* spp. Microorganismele dependente de Fe au dezvoltat o strategie pentru a rezolva problemele de biodisponibilitate și toxicitate a Fe prin sintetizarea sideroforilor (chelativatori specifici ai Fe<sup>3+</sup> cu greutate moleculară mică) utilizați pentru absorbția și stocarea Fe. *Bacillus* spp., din familia *Firmicutes*, sunt bacterii cu rol în producerea de siderofori chelativatori de Fe. Prin urmare, stimularea *Firmicutes* de către AI-2B în urma ingerării prebioticului B combinat cu acid butiric, stimulează capacitatea intestinului de a chelatiza Fe. Activitatea de chelativare a Fe de către EGCG a fost comparabilă cu cea a deferoxaminei (DFOA; vândut sub numele de marcă Desferal), care este un medicament care leagă Fe. S-a demonstrat că EGCG îmbunătățește declinul cognitiv legat de vârstă și protejează împotriva ischemiei cerebrale. O revizie excelentă privind EGCG se găsește **aici**: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/jfbc.14189> .

**CCM** este un polifenol natural extras din turmeric (o plantă perenă care a fost utilizată pe scară largă de secole în calitate de condiment și ca remediu medicinal natural tradițional în China și India) este un important chelativator al Fe liber în corpul uman.

În concordanță cu ipoteza conform căreia CCM acționează ca un chelativator de Fe, șoarecii hrăniți cu dietele suplimentate cu Fe au arătat o scădere a nivelurilor proteinei de feritină hepatică. Aceste rezultate sugerează că chelativarea Fe poate fi un mod suplimentar de acțiune al CCM. Cercetări recente indică faptul că aportul oral de CCM poate duce la niveluri crescute de CCM rezidual în sistemul gastro-intestinal (GI), sugerând potențialul CCM de a influența direct microbiota intestinală. Diverse studii pe modele animale au arătat că administrarea orală de CCM crește abundența bacteriilor benefice precum *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, scăzând în același timp numărul de bacterii precum *Prevotella*, *Bacteroidaceae*, precum și *Rikenellaceae*, care sunt frecvent asociate cu boli sistemice. Revizii excelente privind CCM se găsesc **aici**: <https://www.nature.com/articles/s41420-019-0234-y> și **aici**: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC6901436/>

**EGCG** și **CCM** sunt doi polifenoli cu efecte multiple asupra microbiomului, dar cel mai important efect este chelativarea excesului de Fe în corpul uman. În plus, stimulează bacteriile producătoare de siderofori și a bacteriilor producătoare de butiric și stochează și elimină excesul de Fe din dietă.

#### 4. **Stimulatori de autofagie și activatori senolitici** ( spermidina-**SPER**, glutamina-**GLUT**, fisetina-**FIS** și quercitina-**QRC**)

**SPER** este o poliamină biogenă care joacă un rol crucial în homeostazia celulară, creșterea proliferării celulare și autofagie. Poliaminele (inclusiv **SPER**) din lumenul intestinului provin din alimentele prelucrate de microbiota intestinală, secrețiile pancreatic-biliare și celulele intestinale degradate. Aportul alimentar zilnic mediu de **SPER** în țările europene variază de la aproximativ 10 până la 15 mg. Exemple de alimente cu concentrații foarte mari de **SPER** sunt brânza cheddar (200 mg/kg), ciupercile (90 mg/kg), cartofii, legumele, salata verde, perele și merele și mazărea. **SPER** are un efect de autofagie care o face foarte interesantă pentru sănătatea creierului și îmbătrânire. Suplimentarea **SPER** este utilizată în îmbătrânirea sănătoasă. De fapt, administrarea **SPER** exogenă prelungeste durata de viață în diferite modele de îmbătrânire prin modificări epigenetice, inducerea autofagiei și suprimarea necrozei. **SPER** este o poliamină naturală care a demonstrat un aport substanțial în lupta împotriva îmbătrânirii. S-a constatat că îmbătrânirea reduce concentrațiile endogene de **SPER**, un fenomen neobservat la centenari, care au niveluri **SPER** relativ ridicate. S-a raportat că **SPER** previne senescența celulară și exercită efecte anticancer prin reglarea apoptozei celulare. Revizii excelente privind **SPER** se găsesc **aici**: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24481223/> și **aici**: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34881079/> .

**GLUT** este un nutrient esențial pentru funcționarea intestinului subțire. Funcționează ca un semnal de îmbunătățire a supraviețuirii celulelor în intestin, fiind necesar pentru stabilizarea joncțiunii strânse și având efecte antiinflamatorii în intestin (de exemplu scade producția de IL-proinflamatoare, îmbunătățește producția de IL-10 antiinflamatoare și reduce expresia proteinei factor kappa B (NF-kB)).

Prin urmare, **GLUT** joacă un rol cheie în metabolismul celulelor cu diviziune rapidă, inclusiv enterocite și limfocite, care pot contribui la efectele sale clinice benefice. **GLUT** poate juca un rol în efectul protector intestinal, contribuind la supraviețuirea celulelor în timpul stresului fiziologic prin inducerea autofagiei, prin modularea funcției de barieră intestinală în condiții bazale și inflamatorii. **GLUT** este un regulator cheie al creșterii celulare controlate de aminoacizi prin calea de semnalizare mTOR. Studiile au sugerat o legătură între metabolismul **GLUT** și îmbătrânire. De exemplu, nivelurile **GLUT** sunt mai scăzute în creierul pacienților cu AD, iar suplimentarea cu **GLUT** poate reduce activarea ciclului celular neuronal indusă de inflamație. În general, studiile oferă noi dovezi pentru disponibilitatea **GLUT** ca strategie anti-îmbătrânire prospectivă. Un studiu recent a arătat că deficiența de **GLUT** accelerează îmbătrânirea, în timp ce suplimentarea combinată cu **SPER** și **GLUT** reduce senescența indusă de stresul oxidativ la oameni prin reglarea autofagiei. Revizii excelente privind GLUT se găsesc aici: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC4892310/> și aici: <https://www.nature.com/articles/s42003-024-06000-3>.

**FIS** a avut cele mai puternice efecte senoterapeutice (anti îmbătrânire) în comparație cu alți compuși polifenolici în mai multe tipuri de celule *in vitro* și a demonstrat efecte anti îmbătrânire puternice *in vivo*. Celulele senescente (îmbătrânite) sunt rare la indivizii tineri, dar cresc cu vârsta în mai multe țesuturi, în primul rând, intestin, inclusiv în țesutul adipos, mușchiul scheletic, rinichii și în pielea tuturor vertebratelor testate. De exemplu, celulele senescente se acumulează odată cu vârsta la locurile de patogeneză în bolile cronice. Reducerea celulelor senescente poate duce la reducerea inflamației, scăderea disfuncției macromoleculare și îmbunătățirea funcției celulelor stem/progenitoare. **FIS** este un produs natural găsit în alimente obișnuite și este disponibil ca supliment alimentar oral și nu are efecte secundare adverse raportate. **FIS** a restabilit sănătatea intestinală prin creșterea abundenței *Akkermansia muciniphila*, care este corelată negativ cu senescența și inflamația. **FIS** ameliorează bolile de rinichi induse de hiperuricemie prin reglarea metabolismului triptofanului mediat de intestin. Revizii excelente privind **FIS** se găsesc aici: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC6197652/> și aici: [https://www.thelancet.com/article/S2352-3964\(18\)30373-6/fulltext](https://www.thelancet.com/article/S2352-3964(18)30373-6/fulltext).

**QRC** este un polifenol și poate acționa ca un potențial agent senolitic și antiinflamator în adipocitele senescente, precum și în preadipocitele senescente. QRC a demonstrat efecte benefice asupra cartilajului atât în studiile pe animale, cât și la oameni. QRC mărește funcția de barieră intestinală și restabilește compoziția și structura bacteriană sănătoasă la șoarecii tratați cu antibiotice, prezentând efecte benefice, în special, o creștere a abundenței relative a *F. rodentium*, *E. caecimuris*, *E. mucosicola*, *A. muciniphila* și *R. hominis*. Revizii excelente privind QRC se găsesc aici: <https://www.nature.com/articles/s41467-021-25453-2> și aici <https://www.mdpi.com/1424-8247/16/7/1020>.

S-a descoperit că rolurile anticancerigene, antiinflamatorii și antioxidante prezentate de acești flavonoli (**FIS** și **QRC**) sunt asociate cu capacitatea lor de a activa apoptoza, de a opri ciclul celular, de a regla remodelarea matricei extracelulare și de a inhiba apariția celulelor senescente.

##### 5. **Complex Probiotic** (*Lactobacillus plantarum*, *Streptococcus thermophilus*, *Bifidobacterium animalis*, *B.adolescentis*, *B.longum*, *Bacillus subtilis* și *Bacillus coagulans*).

###### ***Lactobacillus plantarum*.**

La adulți, *Firmicutes* domină în mare măsură intestinul, urmat de *Bacteroidetes*. S-a constatat că adulții mai în vârstă au *Firmicutes* mai mici și abundențe crescute de *Bacteroidetes*, în concordanță cu dovezile anterioare care sugerează că raportul *Firmicutes/Bacteroidetes* crește la vârsta adultă, dar scade din nou la vârsta mai înaintată. S-a demonstrat că raportul *Firmicutes/Bacteroidetes* crește brusc de la copilărie la vârsta adultă și apoi scade la fel de brusc de la maturitate până la bătrânețe. Dovezile anterioare au arătat că atât rapoartele *Firmicutes/Bacteroidetes* anormal de mari, cât și anormal de scăzute sunt implicate în tulburările metabolice. Luate împreună, aceste rezultate sugerează că echilibrul dintre aceste populații bacteriene de bază poate fi un indicator al sănătății și longevității, dar că acest echilibru poate depinde parțial de factori de mediu unici.

Încrângătura bacteriana *Firmicutes* include bacterii Gram-pozitive, cu pereți celulari rigizi sau semi-rigizi care sunt predominant la genurile *Bacillus*, *Clostridium*, *Enterococcus*, *Lactobacillus* și *Ruminococcus*, în timp ce încrângătura bacteriana *Bacteroidetes* include aproximativ 7000 de specii diferite de bacterii Gram-negative care sunt predominant din genurile *Bacteroides*, *Alistipes*, *Parabacteroides* și *Prevotella*. S-a demonstrat că populația bacteriană cea mai variabilă este *Proteobacteria*, care contribuie la disbioza (DYS) și este corelată cu o scădere a *Firmicutes*. *L. plantarum* este o bacterie producătoare de acid lactic care este în general recunoscută ca sigură (GRAS). Aceste rezultate au indicat că *L. plantarum* GKM3 a întârziat procesul de îmbătrânire, a atenuat tulburările cognitive legate de vârstă și a redus stresul oxidativ.

S-a demonstrat recent că *L. plantarum* îmbunătățește longevitatea și îmbătrânirea sănătoasă prin modularea căilor de semnalizare antioxidante, imunității înnăscute și serotoninei. *L. plantarum* GKM3 a întârziat procesul de îmbătrânire, a atenuat tulburările cognitive legate de vârstă și a redus stresul oxidativ. AI-2 promovează colonizarea *L. rhamnosus* GG pentru a îmbunătăți funcția barierei intestinale și creșterea concentrației de acid butiric pentru a ameliora deteriorarea funcției de barieră a mucoasei intestinale în DYS intestinal indus de antibiotice. Antibioticele afectează grav MG, ducând la scăderea activității intestinale AI-2. Revizii excelente privind *L. plantarum* se găsesc [aici](https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC8401498/): <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC8401498/> și [aici](https://www.frontiersin.org/journals/microbiology/articles/10.3389/fmicb.2024.1260793/full): <https://www.frontiersin.org/journals/microbiology/articles/10.3389/fmicb.2024.1260793/full>

#### ***Streptococcus thermophilus***

*S. thermophilus* TCI633 este un probiotic care a fost izolat mai recent din laptele matern uman și poate produce acid hialuronic (HA) atunci când colonizează tractul gastro-intestinal al rozătoarelor și al oamenilor. Un studiu recent a stabilit că *S. thermophilus* TCI633 poate reduce inflamația țesutului sinovial și are potențialul de a reduce progresia OA. *S. thermophilus* este un tip de bacterie probiotică care trăiește în mod normal în sistemul digestiv, urinar și genital uman fără a provoca boli. Îmbătrânirea pielii este simbolul procesului de îmbătrânire a corpului uman și majoritatea oamenilor acordă la fel de multă atenție pielii lor, precum și sănătății personale. Conținutul de HA epidermic scade de la 0,03% la femeile cu vârsta cuprinsă între 19-47 de ani la 0,015% la femeile în vârstă de 60 de ani, înjumătățindu-se din nou la 0,007% la femeile în vârstă de 70 de ani. Într-un studiu recent, HA care a fost secretată de *S. thermophilus* TCI633 poate modula substanțial formarea de colagen la oameni, textura pielii, ridurile și petele de pe obraji pot fi îmbunătățite prin utilizarea pe termen lung a *S. thermophilus* TCI633. Revizii excelente privind *S. thermophilus* se găsesc [aici](https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC8764109/): <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC8764109/> și [aici](https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1111/jocd.14445): <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1111/jocd.14445> .

#### ***Bifidobacterium animalis***

*Bifidobacterium* spp. joacă un rol important în efectul de barieră, întărind sistemul imunitar și este asociat cu o serie de efecte benefice asupra sănătății. Bacteriile *Bifidobacterium* spp. reprezintă filiația cea mai profund ramificată din filul *Actinobacteria* și cuprind în prezent 94 de (sub)specii recunoscute. Molecula de semnalizare bacteriană AI-2 joacă un rol crucial în influențarea colonizării acestor microorganisme simbiotice în ecosistemul intestinal. *B. animalis* subsp. lactis BPL1™ este o tulpină probiotică cu un efect mare de reducere a grăsimilor. Chiar dacă *Bifidobacteriile* nu produc BUT în mod direct, ele produc lactat care poate fi transformat în BUT. Revizii excelente privind *Bifidobacterium animalis* se găsesc [aici](https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1756464620301626): <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1756464620301626> și [aici](https://link.springer.com/article/10.1007/s10068-024-01631-y): <https://link.springer.com/article/10.1007/s10068-024-01631-y> .

#### ***Bifidobacterium adolescentis***

S-a demonstrat că *B. adolescentis* inversează îmbătrânirea în intestin (întinerire intestinală). Aceste rezultate sunt foarte încurajatoare pentru intervențiile de longevitate bazate pe microbiom și sugerează că *B. adolescentis* este un probiotic promițător. *B. adolescentis* a scăzut cel mai mult odată cu vârsta. Ca și oamenii, șoarecii în vârstă au avut niveluri mai scăzute de *B. adolescentis* intestinal, demonstrând că *B. adolescentis* poate inversa aspectele îmbătrânirii. Revizii excelente privind *Bifidobacterium adolescentis* se găsesc [aici](https://link.springer.com/article/10.1007/s10068-024-01631-y): <https://link.springer.com/article/10.1007/s10068-024-01631-y> și [aici](https://www.nature.com/articles/s41467-023-41827-0): <https://www.nature.com/articles/s41467-023-41827-0> .

### ***Bifidobacterium longum***

*B. longum* este o bacterie comensala care locuiește în tractul gastrointestinal, fiind recunoscută ca o componentă semnificativ al intestinului uman, fiind și cea mai abundentă specie din intestinul sugarului. Are numeroase efecte benefice asupra sănătății. Astfel, mai multe tulpini de *B. longum* au fost dezvoltate ca probiotice – „microorganisme vii care, atunci când sunt administrate în cantități adecvate, conferă un beneficiu pentru sănătatea gazdei”. Eficacitatea acestei specii în protecția anti-îmbătrânire a fost demonstrată în modele preclinice și în studii clinice la începutul vieții umane și nu numai. Recent, a fost demonstrată asocierea dintre *B. longum* și longevitate, această bacterie fiind predominantă în microbiota intestinală atât a centenarilor, cât și a bătrânilor mai tineri. Revizii excelente privind *Bifidobacterium longum* se găsesc [aici](https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1756464620301626): <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1756464620301626> și [aici](https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1756464618306510): <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1756464618306510> .

### ***Bacillus subtilis***

*B. subtilis* este util pentru o mare varietate de aplicații. Acestea includ producția de alimente tradiționale în Asia prin fermentarea boabelor de soia, precum „natto” în Japonia, sau producția de vitamine, aminoacizi și enzime. În dieta obișnuită a populației japoneze, există hrana milenară numită „natto” („brânză de legume”), un aliment natural care constă în boabe de soia fermentate de celulele *B. subtilis*. Deoarece *B. subtilis* este ingredientul activ al acestui aliment popular și străvechi, este tentant să acordăm atenție acestei bacterii probiotice, care ar putea contribui în mod natural la longevitate sănătoasă a poporului japonez. *B. subtilis* este înrudit cu mulți agenți patogeni Gram pozitivi importanți, cum ar fi *B. anthracis*, *Staphylococcus aureus* sau *Listeria monocytogenes*. *B. subtilis* servește ca organism model pentru acești agenți patogeni și pentru toți ceilalți din filul bacterian *Firmicutes*. În cele din urmă, *B. subtilis* crește foarte repede și poate fi ușor manipulat genetic datorită capacității sale de a prelua ADN străin și chiar de a integra acest ADN în propriul genom. Astfel, *B. subtilis* a devenit extrem de popular în microbiologie și industrie și a fost chiar numit „Microbul anului” de către Asociația Germană pentru Microbiologie Generală și Aplicată în 2023.

Dintre toate procesele industriale care utilizează *B. subtilis* pentru a genera o moleculă organică prin fermentare, producția de vitamina B<sub>2</sub> (riboflavină) este probabil cea mai semnificativă. Fiind un precursor al coenzimelor flavinici, flavin adenin dinucleotid (FAD) și flavin mononucleotid (FMN), vitamina B<sub>2</sub> este esențială pentru metabolismul tuturor celulelor vii. Pentru creșterea și reproducerea lor, animalele și oamenii în special, depind de aportul de riboflavină sub formă de suplimente nutritive și aditivi pentru hrana animalelor. Găsit în mod natural în sol și compost, *B. subtilis* este o specie sigură de bacterii care formează spori. S-a constatat că aceste bacterii au supraviețuit timp de șase ani pe sateliții spațiali ai Administrației Naționale de Aeronautică și Spațiu (NASA), deci aceste microorganisme dure pot supraviețui căldurii, uscăciunii și acidității extreme, făcându-le probiotice ideale. Luate ca supliment, ele rămân latente în tot tractul digestiv până ajung în colon, unde ajută la normalizarea mișcărilor intestinale și protejează bariera intestin-sânge. Studiile au arătat că *B. subtilis* ajută la promovarea unui echilibru pozitiv între bacteriile bune și rele din intestin, susținând *Lactobacillus* și *Bifidobacterium* în timp ce suprimă bacteriile patogene *Escherichia*, *Shigella* și *Staphylococcus*.

Consumul regulat de probiotic *B. subtilis* în hrana umană scade rata de îmbătrânire și elimină boala datorată scăderii semnalizării insulinei/IGF-1 și, respectiv, creșterea imunității înăscute. Revizii excelente privind *Bacillus subtilis* se găsesc [aici](https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC6279046/): <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC6279046/> și [aici](https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0208425): <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0208425>

### ***Bacil coagulans***

*B. coagulans* are un mare potențial în tratamentul diferitelor boli umane. *B. coagulans* joacă un rol impresionant în curățarea infecțiilor și atenuarea atât a bolilor GI, cât și a țesuturilor îndepărtate ale gazdei. Mai mult, capacitatea *B. coagulans* de a menține homeostazia microbiotei gazdei poate ajuta, de asemenea, digestia meselor zilnice și poate crește sănătatea intestinală. Prin urmare, efectele benefice ale *B. coagulans* rezultă din procese cuprinzătoare și coordonate care implică microbiomul gazdă, metabolismul și sistemul imunitar. Lucrări științifice recente au arătat că consumul de *B. subtilis* și *B. coagulans* crește longevitatea gazdei fără intervenție genetică și a ridicat posibilitatea de a hrăni oamenii cu probiotice încorporate în diferite alimente și băuturi, indiferent dacă acestea sunt ieftine sau

costisitoare și fără a afecta tradițiile culturale. Revizii excelente privind *Bacil coagulans* se găsesc **aici**: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC5376353/>

**și aici**: <https://www.frontiersin.org/journals/microbiology/articles/10.3389/fmicb.2017.01490/full> .

Probioticele care conțin *Lactobacillus plantarum*, *Streptococcus thermophilus*, *Bifidobacterium animalis*, *Bifidobacterium adolescentis*, *Bifidobacterium longum*, *Bacillus subtilis* și *Bacillus coagulans* sunt printre acele bacterii care ajută corpul uman să atenueze îmbătrânirea prin întinerirea sistemului simbiotic „microbiota-intestin”. Se consideră că bacili probiotici pot fi încorporați într-o doză zilnică sigură (adică,  $1,0-2,0 \times 10^9$  spori/zi/bacili) în multe tipuri de alimente și băuturi.

### Selecția participanților

Vă întrebați poate de ce vă invităm să luați parte la acest studiu? Pentru ca noi îi invităm pe adulții sănătoși din Craiova, Dolj, România sa participe la aceasta cercetare despre efectele acestui cocktail nutrițional asupra diferiților biomarkeri care arată prognosticul unei vieți sănătoase și lungi. Suplimentarea cu probiotice, prebiotice, stimulatori de autofagie și activatori senolitici a oamenilor sănătoși este o prioritate pentru viitorul nutriției! Fiind un studiu pilot, noi vom putea să direcționăm în viitor nutriția adulților peste 40 de ani pentru a proteja microbiomul intestinal pentru o viață sănătoasă și lungă pe principiul : „*Bătrânețea începe din intestin!*”, parafrazând axioma lui Hippocrate: „*Toate bolile încep din intestin!*”.

### Participarea voluntară

Participarea dvs. la această cercetare este în totalitate voluntară. Este strict decizia dumneavoastră dacă să participați sau nu. Vă puteți răzgândi pe parcurs și vă puteți opri din acest trial oricând, chiar dacă ați confirmat participarea dvs anterior.

### Informații despre toxicitatea suplimentului utilizat

Trebuie să știți de la bun început că aceste suplimente nu prezintă efecte adverse. Toate componentele din acest cocktail sunt naturale sau identic naturale și fiecare are teste de toxicitate care au demonstrat că suplimentarea de lungă durată nu a prezentat nici un risc asupra sănătății.

Efectul imediat asupra pacienților este unul benefic și anume că markerii inflamatori și cei lipidici scad semnificativ. Pe termen lung, din punct de vedere medical, calitatea vieții subiecților implicați în studiu se va îmbunătăți simțitor.

**Totuși, dacă orice problemă de sănătate apare în timpul studiului ( 60 zile) , se va întrerupe suplimentarea și va fi anunțat Prof dr. Scorei Romulus la telefonul 0744 538207, la orice oră din zi și din noapte!**

### Procedurile și Protocolul

Acest trial clinic se desfășoară într-un singur centru și este randomizat și controlat. Sediul de desfășurare a acestui studiu este Institutul Bioboron Craiova -Podari. Analizele de sânge vor fi recoltate o data la începutul studiului și a doua oara la sfârșitul studiului (dupa 60 zile).

#### Design experimental

Numărul de participanți: 10-13 subiecți clinic sănătoși (control);

Criterii de includere: (i) pacienți de sex masculin sau feminin, cu vârsta >40 de ani; (ii) selecția raportului de gen 1:1; (iii) intervalul IMC 17–27 kg/m<sup>2</sup> (normal, supraponderal, dar nu obez); (iv) hipertensiune arterială normală sau minoră, <140/80–90 mmHg; (v) consimțământul informat obținut la selecție.

Criterii de excludere: (i) refuzul de a participa sau de a semna consimțământul informat; (ii) co-infecție dovedită cu *Clostridium difficile*; (iii) alte infecții, cu excepția tractului respirator; (iv) IBD cunoscute sau alte boli care pot influența semnificativ MG.

Măsuratori primare: (i) diferențe semnificative evaluate prin chestionare în ceea ce privește calitatea scaunului și simptomele generale semnificative asociate cu DYS intestinal; (ii) analize de sânge:

acid uric, hs-CRP, creatinina, profile lipidice (HDL-C, LDL-C, TC și TGs), enzime hepatice (GGT, ALP, LDH), glucoză, Fe total și TIBC.

Măsuratori secundare: (i) înregistrarea efectelor adverse ale cocktail-ului; (ii) siguranța și tolerabilitatea cocktail-ului ; (iii) calitatea vieții.

Pentru studiul pilot, cocktail-ul a fost preparat în conformitate cu procedurile și standardele brevetului cu numele” **Microbiota-Accessible Borate Cocktails for Healthy Longevity and Uses Thereof**”.

### **Durata Studiului Pilot**

Prezenta cercetare durează în total 60 de zile. În tot acest timp, dvs va trebui să efectuați analizele biochimice menționate anterior, la începutul și la finalul studiului. După cele 60 de zile de studiu și ultimele analize efectuate, vă vom transmite prin email un chestionar de evaluare a stării de sănătate.

### **Beneficii**

Beneficiul imediat pentru subiecții care vor participa la acest trial clinic va fi diminuarea markerilor inflamatori și a celor lipidici. Pe termen lung, calitatea vieții subiecților implicați în studiu se va ameliora din punct de vedere al sănătății.

Mai mult, participarea dvs. la această cercetare ne va ajuta pe noi foarte mult în găsirea unor răspunsuri la întrebările apărute în timpul activității noastre de investigare care implică efectele benefice ale prebioticelor cu bor și probioticelor specifice organismelor tinere asupra organismului adult și de vârsta a treia.

### **Remunerație**

Nu vi se vor da bani și nici cadouri pentru participarea dvs. în cadrul acestui trial clinic.

### **Confidențialitate**

Prin această cercetare se va realiza ceva deosebit pentru comunitatea în care locuim. Este posibil ca, dacă și alți oameni din comunitatea noastră află despre participarea dvs la acest trial clinic și despre faptul că ați avut încredere în noi, să vă adreseze întrebări despre acest studiu. Să fiți siguri că noi nu vom dezvălui nimănui identitatea celor care participă la această cercetare.

Informațiile pe care le colectăm pentru acest proiect de cercetare vor fi confidențiale. Acestea vor fi îndosariate și nimeni nu va avea acces la ele, în afara cercetătorilor și celor implicați în acest studiu. Fiecare informație despre dvs. va purta un număr, în loc de numele dvs. în clar. Numai membrii echipei de implementare a acestui trial clinic vor ști cui îi corespunde fiecare număr și fiecare informație va fi păstrată în dosare secrete. Aceste date despre dvs. nu vor fi făcute publice, dar vor fi cunoscute de medicul și de sponsorii acestui studiu.

### **Împărtășirea rezultatelor**

Informațiile pe care le vom obține în urma realizării acestei cercetări vor fi împărtășite cu dvs. în cadrul întâlnirilor pe care le vom avea, înainte ca ele să ajungă disponibile și altor persoane interesate. Informațiile confidențiale nu vor fi făcute publice. Vor avea loc diferite întâlniri între cei care au luat parte la studiu, dar toate acestea vor fi anunțate în prealabil. După aceste scurte întâlniri, vom publica rezultatele obținute în reviste naționale și internaționale, cu scopul de a le face cunoscute și de a fi un material de studiu pentru cei interesați.

### **Dreptul de a refuza sau de retragere**

Dvs. nu veți fi obligat în niciun fel să luați parte la această cercetare dacă nu doriți să o faceți. De asemenea, vă puteți retrage de la acest trial clinic în orice moment doriți, chiar și după începerea acestuia. Este numai dorința dvs. și toate drepturile vă vor fi pe deplin respectate.

### **Persoane de contact**



În cazul în care aveți întrebări, le puteți adresa acum sau mai târziu, chiar și după începerea studiului. Pentru aceasta, vă rog să îl contactați pe supervisor-ul acestui trial clinic:

**Nume: Prof. dr. Romulus Ion Scorei**  
**Adresa: Craiova, Dolj, Romania**  
**Telefon: +40 744 538207**  
**E-mail: romulus\_ion@yahoo.com**

Această propunere a fost revizuită și aprobată de către Comitetul Instituțional de Etică al Universității de Medicină și Farmacie din Craiova, România, în scopul protejării tuturor participanților la un studiu de cercetare. Prezentul trial este în acord cu Declarația de la Helsinki din 1975, care a fost revizuită în anul 2008. De asemenea, acest trial a fost revizuit și de către sponsorii săi, respectiv S.C. Natural Research S.R.L. Craiova și Universitatea de Medicină și Farmacie din Craiova, Dolj, România.

## **SECȚIUNEA II: Certificatul de Consimțământ**

**Am primit și am citit cu atenție informațiile din acest formular.**

**Am avut oportunitatea să adresez întrebări despre acest trial și la fiecare întrebare am primit un răspuns concis care m-a ajutat să îmi clarific nelămurirea.**

**Îmi dau consimțământul voluntar de a lua parte ca participant la acest trial clinic.**

**Numele în clar al participantului** \_\_\_\_\_

**Semnătura participantului** \_\_\_\_\_

**Data** \_\_\_\_\_  
ziua/luna/anul

**Ion Romulus SCOREI**  
**BioBoron Research Institut -**  
**Craiova, Romania**

