

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 378 839**

51 Int. Cl.:  
**A23K 1/00** (2006.01)  
**A23L 1/30** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 96 Número de solicitud europea: **08156353 .8**  
96 Fecha de presentación: **16.05.2008**  
97 Número de publicación de la solicitud: **2123168**  
97 Fecha de publicación de la solicitud: **25.11.2009**

54 Título: **Lactobacillus paracasei y control del peso**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:  
**18.04.2012**

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:  
**18.04.2012**

73 Titular/es:  
**NESTEC S.A.**  
**AVENUE NESTLÉ 55**  
**1800 VEVEY, CH**

72 Inventor/es:  
**Fukushima, Yoichi**

74 Agente/Representante:  
**Isern Jara, Jorge**

ES 2 378 839 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 paracasei y control del peso.

La presente invención se refiere en general al campo de la obesidad y/o de los trastornos metabólicos. En particular la presente invención se refiere al empleo de probióticos para tratar o prevenir el sobrepeso, la obesidad y/o los trastornos metabólicos relacionados.

En las pasadas décadas ha habido un incremento mundial de la obesidad hasta proporciones epidémicas. En el mundo hay aproximadamente mil millones de personas obesas o con sobre peso, un estado que incrementa la mortalidad, afecta a la movilidad y ocasiona costes económicos. La obesidad se desarrolla cuando la ingestión de energía supera su consumo y el exceso se almacena principalmente como grasa en el tejido adiposo. Se puede perder peso corporal y evitar ganarlo, reduciendo la ingestión de energía o su biodisponibilidad, aumentando el gasto de energía y/o rebajando su almacenamiento en forma de grasa. La obesidad representa una seria amenaza para la salud, porque está relacionada con una serie de enfermedades crónicas, incluyendo diabetes, aterosclerosis, trastornos degenerativos, afecciones de las vías respiratorias y algunos cánceres.

Recientemente se han relacionado las modificaciones de la flora intestinal con la obesidad. Se ha demostrado en ratones que estos cambios afectan al potencial metabólico de la microbiota intestinal, aumentando la capacidad de cosechar energía de la dieta (Tumbaugh PJ, Ley RE, Mahowald MA, Magrini V, Mardis ER, Gordon JI. Microbioma intestinal con mayor capacidad de cosechar energía, relacionado con la obesidad. Nature. 2006; Ley RE, Turnbaugh PJ, Klein S, Gordon JI. Ecología microbiana: microbios del intestino humano relacionados con la obesidad. Nature. 2006). Se sugiere que estas modificaciones de la microbiota intestinal contribuyen a la patofisiología de la obesidad. Es sabido que los probióticos - es decir las bacterias benéficas presentes en los alimentos o en los suplementos alimenticios - modifican la microbiota intestinal (Fuller R & Gibson GR. Modificación de la microflora intestinal con el uso de probióticos y prebióticos. Scand J. Gastroenterol. 1997).

Por ejemplo, las patentes US7001756 y CN1670183 aportan una cepa aislada de un microorganismo, Lactobacillus rhamnosus GM-020, que ha resultado ser efectiva en el tratamiento de la obesidad.

No obstante, como algunos organismos tolerarían la ingestión de algunos microorganismos mejor que la de otros, sería deseable disponer de una variedad de microorganismos que pudieran escogerse en base a las necesidades del sujeto sometido a tratamiento.

La patente WO03055987 revela una cepa específica de Lactobacillus paracasei, Lactobacillus paracasei viro-01, aislada e identificada del líquido de fermentación del Kimchi. Se puede usar como probiótico y reduce la incidencia de diarreas.

La patente WO2007015132 revela una cepa de Lactobacillus paracasei, I 1688, que puede usarse para preparar composiciones inmunomoduladoras, en particular para el tratamiento y/o la prevención de alergias y deficiencias inmunológicas.

La patente WO2006/091103 revela una composición que comprende Bifidobacterium breve, un sacárido no digerible A y un sacárido no digerible B opcionalmente combinados con Lactobacillus paracasei. Se revela el empleo de esta composición para igualar la distribución de las especies bacterianas en el tracto gastrointestinal de los bebés que toman leche artificial.

La patente WO2007/085970 revela el uso de cepas de microorganismos y/o de sus metabolitos en la elaboración de un refuerzo que se administra a un sujeto para modular las señales de saciedad. Se revelan cepas apropiadas de Lactobacillus acidophilus, L. curvatus, L. salivarius y Bifidobacterium lactis.

H.Y. Lee y otros, Biochimica and Biophysica Acta 1761 (2006) 736-744, revelan una bacteria de origen humano, Lactobacillus rhamnosus PL60, que produce ácido linoleico conjugado y muestra efectos anti-obesidad en ratones obesos inducidos por dieta.

Basándose en este estado técnico previo, la presente invención tenía por objeto identificar bacterias probióticas alternativas que pudieran usarse para tratar o prevenir la obesidad y/o trastornos metabólicos.

Los presente inventores quedaron sorprendidos al ver que el Lactobacillus paracasei puede resolver el objeto de la presente invención.

Una cepa de Lactobacillus paracasei particularmente efectiva para el propósito de la presente invención es la Lactobacillus paracasei ST11. El Lactobacillus paracasei ST11 fue depositado bajo el tratado de Budapest con el Instituto Pasteur (28 rue du Docteur Roux 75024 Paris Cédex 15) y se designó como CNCM I-2116.

Los presente inventores han podido demostrar que el probiótico Lactobacillus paracasei influye en las actividades nerviosas autónomas y regula la glucosa en sangre y la función cardiovascular. Los inventores encontraron que una ingestión de Lactobacillus paracasei, por ejemplo de Lactobacillus paracasei ST11, reducía el peso corporal y el peso de la grasa abdominal. Este efecto fue especialmente pronunciado tras un prolongado tiempo de ingestión de

Lactobacillus paracasei, en particular de Lactobacillus paracasei ST11. Los inventores se sorprendieron al ver que la ingestión de Lactobacillus paracasei, por ejemplo de Lactobacillus paracasei ST11, influía en los nervios autónomos, potenciaba la lipólisis y reducía el peso corporal.

Por consiguiente el objeto de la presente invención se alcanza mediante el uso de la reivindicación 1.

5 Así pues, una forma de ejecución de la presente invención es el uso de Lactobacillus paracasei, en particular de Lactobacillus paracasei ST11, para preparar una composición destinada al tratamiento del sobrepeso, la obesidad y/o trastornos metabólicos relacionados.

10 La presente invención también se refiere a una composición que comprende Lactobacillus paracasei, en particular Lactobacillus paracasei ST11, para el tratamiento y/o la prevención del sobrepeso, de la obesidad y/o de trastornos metabólicos relacionados.

En esta descripción los siguientes términos tienen los siguientes significados:

El término "Lactobacillus paracasei" incluye la bacteria, un medio de cultivo celular con la bacteria o un medio de cultivo celular en el cual se cultivó el Lactobacillus paracasei.

15 El término "Lactobacillus paracasei ST11" incluye la bacteria, un medio de cultivo celular con la bacteria o un medio de cultivo celular en el cual se cultivó el Lactobacillus paracasei ST11.

El "índice de masa corporal" o "IMC" es igual al peso en kg dividido por la altura en metros cuadrados.

Para un adulto humano el "sobrepeso" está definido por un IMC entre 25 y 30.

20 "Obesidad" es un estado en el que la reserva de energía natural, almacenada en el tejido adiposo de los animales, en particular de humanos y otros mamíferos, aumenta hasta un punto en que está asociada con ciertos estados de salud o con mayor mortalidad. Para un adulto humano "obeso" significa tener un IMC superior a 30.

"Probiótico" significa preparaciones microbianas o componentes de células microbianas que tienen efecto benéfico en la salud o bienestar del huésped (Salminen S, Ouwehand A, Benno Y. y otros "Probiotics: how should they be defined" [*Probióticos: cómo deben definirse*] Trends Food Sci. Technol. 1999:10 107-10).

25 "Prebiótico" significa sustancias alimenticias que promueven el crecimiento de probióticos en los intestinos. No son descompuestos en el estómago ni en el intestino superior de la persona que los ingiere, ni son absorbidos en su tracto GI, pero son fermentados por la microflora gastrointestinal y/o por probióticos. Los prebióticos están definidos, por ejemplo, por Glenn R. Gibson y Marcel B. Roberfroid, Dietary Modulation of the Human Colonic Microbiota: Introducing the Concept of Prebiotics [*Modulación dietética de la microbiota colónica humana: introducción del concepto de prebióticos*], J. Nutr. 1995 125: 1401-1412.

30 "Microorganismos de uso alimentario" significa microorganismos que se utilizan en alimentos y generalmente se consideran seguros para ello.

"Administraciones a largo plazo" son preferiblemente administraciones continuas que duran más de 6 semanas.

"Administraciones a corto plazo" son preferiblemente administraciones continuas que duran menos de 6 semanas.

35 La composición preparada mediante el empleo de la presente invención puede ser un medicamento, un producto alimenticio, una comida para mascotas, un aditivo alimentario o un producto nutracéutico.

40 Además la composición de la presente invención puede contener hidrocoloides protectores (tales como gomas, proteínas, almidones modificados), aglutinantes, agentes filmógenos, agentes/materiales encapsuladores, materiales de envoltura, compuestos matriciales, recubrimientos, emulsionantes, agentes surfactantes, agentes solubilizantes (aceites, grasas, ceras, lecitinas, etc.), adsorbentes, soportes, cargas, compuestos auxiliares, agentes dispersantes, agentes humectantes, coadyuvantes de proceso (disolventes), fluidificantes, agentes enmascaradores del sabor, agentes pesantes, agentes gelatinizantes, agentes formadores de gel, antioxidantes y antimicrobianos.

45 La composición también puede llevar aditivos farmacéuticos convencionales y adyuvantes, excipientes y diluyentes, incluyendo, sin limitarse a ellos, agua, gelatina de cualquier origen, gomas vegetales, sulfonato de lignina, talco, azúcares, almidón, goma arábica, aceites vegetales, polialquilenglicoles, agentes saborizantes, conservantes, agentes emulsionantes, tampones, lubricantes, colorantes, agentes humectantes, cargas y similares. En todos los casos estos componentes adicionales se elegirán teniendo en cuenta su adecuación al destinatario previsto.

La composición puede ser una fórmula nutricionalmente completa.

La composición según la presente invención puede comprender una fuente proteica.

50 Puede usarse cualquier proteína dietética adecuada, por ejemplo proteínas animales (como proteínas de la leche, de la carne y del huevo), proteínas vegetales (como las de soja, trigo, arroz y guisante), mezclas de aminoácidos libres

o combinaciones de ellos. Se prefieren especialmente proteínas lácteas como la caseína y el suero, y las proteínas de soja.

Las proteínas pueden estar intactas o hidrolizadas, o pueden ser una mezcla de proteínas intactas e hidrolizadas. Puede ser conveniente suministrar proteínas parcialmente hidrolizadas (con grado de hidrólisis entre 2 y 20%), por ejemplo para animales supuestamente en peligro de desarrollar alergia a la leche de vaca. Si se requieren proteínas hidrolizadas, el proceso de hidrólisis se puede llevar a cabo del modo deseado y conocido del estado técnico. Por ejemplo, se puede preparar un hidrolizado de proteína de suero hidrolizando enzimáticamente la fracción de suero en una o más etapas. Si la fracción de suero usada como material de partida está sustancialmente libre de lactosa, se encuentra que la proteína sufre mucho menos bloqueo de lisina durante el proceso de hidrólisis y esto permite rebajar el nivel de bloqueo de lisina desde aproximadamente un 15% en peso del total de lisina hasta menos de un 10% en peso de lisina, por ejemplo hasta 7% en peso de lisina, aproximadamente, lo cual mejora en gran medida la calidad nutricional de la fuente proteica.

La composición también puede contener una fuente de carbohidratos y/o una fuente de grasa.

Si la composición incluye una fuente de grasa, ésta proporciona preferiblemente 5% hasta 40% de la energía de la composición; por ejemplo 20% hasta 30% de la energía. Se puede obtener un perfil adecuado de lípidos, usando una mezcla de aceite de colza, aceite de maíz y aceite de girasol con alto contenido de ácido oleico.

Puede añadirse a la composición una fuente de carbohidratos.

La fuente de carbohidratos aporta preferiblemente el 40% hasta 80% de energía de la composición. Se puede usar cualquier carbohidrato apropiado, como por ejemplo sacarosa, lactosa, glucosa, fructosa, sólidos de jarabe de maíz, maltodextrinas y mezclas de ellos. Si se desea, también se puede agregar fibra dietética. La fibra dietética pasa a través del intestino delgado sin ser digerida por los enzimas y funciona como un agente aglomerante y laxante de tipo natural. La fibra dietética puede ser soluble o insoluble y en general se prefiere una mezcla de los dos tipos. Como fuentes adecuadas de fibra dietética cabe citar la soja, los guisantes, la avena, la pectina, la goma guar, la goma arábica, los fructo-oligosacáridos, los galacto-oligosacáridos, la sialil-lactosa y los oligosacáridos derivados de leches animales. Una combinación preferida de fibras es una mezcla de inulina con fructo-oligosacáridos de cadena más corta. Cuando hay fibra, su contenido es preferiblemente de 2 a 40 g/l de la composición tal como se consume, con mayor preferencia entre 4 y 10 g/l.

La composición también puede contener minerales y micronutrientes tales como trazas de elementos y vitaminas, de acuerdo con las recomendaciones de organismos gubernamentales como el USRDA. Por ejemplo, la composición puede contener por dosis diaria uno o más de los siguientes micronutrientes dentro de los límites indicados: 300 hasta 500 mg de calcio, 50 hasta 100 mg de magnesio, 150 hasta 250 mg de fósforo, 5 hasta 20 mg de hierro, 1 hasta 7 mg de cinc, 0,1 hasta 0,3 mg de cobre, 50 hasta 200 µg de yodo, 5 hasta 15 µg de selenio, 1000 hasta 3000 µg de beta-caroteno, 10 hasta 80 mg de vitamina C, 1 hasta 2 mg de vitamina B1, 0,5 hasta 1,5 mg de vitamina B6, 0,5 hasta 2 mg de vitamina B2, 5 hasta 18 mg de niacina, 0,5 hasta 2,0 µg de vitamina B12, 100 hasta 800 µg de ácido fólico, 30 hasta 70 µg de biotina, 1 hasta 5 µg de vitamina D, 3 hasta 10 µg de vitamina E.

Si se desea, pueden incorporarse a la composición uno o más emulsionantes aptos para alimentación, por ejemplo ésteres de ácido diacetiltartárico con mono- y diglicéridos, lecitina y mono- y diglicéridos. Análogamente se pueden incluir sales y estabilizantes adecuados.

La composición es preferiblemente para ser administrada por vía oral o enteral; por ejemplo en forma de polvo que se debe reconstituir con leche o agua.

El *Lactobacillus paracasei*, en particular el *Lactobacillus paracasei* ST11, se puede cultivar según cualquier método adecuado y para incorporarlo a la composición puede prepararse, por ejemplo, mediante liofilización o secado por pulverización. Los métodos de cultivo apropiados para el *Lactobacillus paracasei*, y en particular el *Lactobacillus paracasei* ST11, son conocidos del especialista en la materia. Como alternativa pueden adquirirse preparaciones bacterianas de proveedores especializados.

En general la composición de la presente invención está prevista para bebés, niños y/o adultos.

En una forma de ejecución de la presente invención, los sujetos susceptibles de tratamiento con la composición preparada mediante el uso de la presente invención deben tener al menos dos años de edad. Este límite de edad se refiere en concreto a humanos. Si el sujeto que debe tratarse con la composición preparada mediante el uso de la presente invención es un perro o un gato, por ejemplo, el perro o el gato deben tener al menos 4 meses de edad.

En una forma de ejecución de la presente invención la composición es un medicamento. Como tal, la dosificación del *Lactobacillus paracasei*, en particular del *Lactobacillus paracasei* ST11, debe ajustarse cuidadosamente según recomendación médica.

La composición preparada según la presente invención también puede ser un producto alimenticio. Como producto alimenticio los efectos benéficos del *Lactobacillus paracasei*, en particular del *Lactobacillus paracasei* ST11, serían

asequibles para todo el mundo. El tratamiento de trastornos metabólicos, sobrepeso y/u obesidad se podría iniciar en una fase muy temprana y a bajo coste. Asimismo, en un producto alimenticio el *Lactobacillus paracasei*, en particular el *Lactobacillus paracasei* ST11, sería más agradable de consumir. Ejemplos de productos alimenticios aplicables a la presente invención son los yogures, la leche, la leche aromatizada, los helados, postres preparados, 5 polvos para reconstituir, p.ej. con leche o agua, bebidas de leche chocolatada, bebidas de malta, platos preparados, platos instantáneos o bebidas para humanos o composiciones alimenticias que representan una dieta completa o parcial pensada para mascotas o ganado.

Por consiguiente, en una forma de ejecución la composición según la presente invención es un producto alimenticio pensado para humanos, mascotas o ganado. En particular la composición está prevista para animales escogidos del 10 grupo formado por perros, gatos, cerdos, ganado vacuno, caballos, cabras, ovejas, aves de corral o humanos, y en una forma de ejecución preferida la composición es un producto alimenticio pensado para especies adultas, en particular para adultos humanos. Se encontró que el *Lactobacillus paracasei* también actúa sobre el tejido adiposo marrón. El tejido adiposo marrón es un sitio principal de producción de calor en los animales adaptados al frío. Por lo tanto la composición de la presente invención es especialmente muy adecuada para sujetos que poseen grandes 15 cantidades de tejido adiposo marrón, como por ejemplo los perros.

La composición de la presente invención también puede comprender al menos otra clase de microorganismo apto para la alimentación, en concreto bacterias o levaduras. El microorganismo de uso alimentario puede ser de tipo 20 probiótico y se elige preferiblemente del grupo formado por bacterias ácido-lácticas, bifidobacterias, propionibacterias o mezclas de las mismas.

Todos los microorganismos probióticos pueden usarse según la presente invención. Preferiblemente se eligen del grupo formado por *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Enterococcus*, *Streptococcus* y *Saccharomyces* o mezclas de ellos, en particular del grupo formado por *Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium lactis*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus paracasei*, *Lactobacillus johnsonii*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus salivarius*, *Enterococcus faecium*, *Saccharomyces boulardii* y *Lactobacillus reuteri* o mezclas de los 25 mismos, preferiblemente del grupo formado por *Lactobacillus johnsonii* (NCC533; CNCM I-1225), *Bifidobacterium longum* (NCC490; CNCM I-2170), *Bifidobacterium longum* (NCC2705; CNCM I-2618), *Bifidobacterium lactis* (2818; CNCM I-3446), *Lactobacillus rhamnosus* GG (ATCC53103), *Lactobacillus rhamnosus* (NCC4007; CGMCC 1.3724), *Enterococcus faecium* SF 68 (NCIMB10415) y mezclas de los mismos.

Por ejemplo, los probióticos también pueden ser capaces de promover el desarrollo de una microbiota intestinal bifidogénica. Las cepas de bifidobacterias adecuadas como probióticos incluyen las bifidobacterias arriba citadas y además el *Bifidobacterium lactis* CNCM I-3446, la firma Christian Hansen de Dinamarca con la marca comercial Bb12, el *Bifidobacterium longum* ATCC BAA-999, que vende entre otros Morinaga Milk Industry Co. Ltd. de Japón con la marca comercial BB536, la cepa de *Bifidobacterium breve* que vende Danisco con la marca comercial Bb-03, la cepa de *Bifidobacterium breve* que vende Morinaga con la marca comercial M-16V y la cepa de *Bifidobacterium breve* que vende el Institut Rosell (Lallemand) con la marca comercial R0070. Se puede utilizar una mezcla de 30 bacterias de ácido láctico y bifidobacterias adecuada como probiótico.

Como levaduras de uso alimentario se pueden emplear por ejemplo *Saccharomyces cerevisiae* y/o *Saccharomyces boulardii*.

En una forma de ejecución preferida de la presente invención la composición contiene además, como mínimo, un 40 prebiótico. Los prebióticos pueden promover el crecimiento en los intestinos de ciertas bacterias alimentarias, en particular de bacterias probióticas, y por lo tanto potenciar el efecto del *Lactobacillus paracasei*, en particular del *Lactobacillus paracasei* ST11. Asimismo varios prebióticos tienen una influencia positiva, p.ej. en la digestión.

Los prebióticos que pueden utilizarse conforme a la presente invención no están especialmente limitados e incluyen 45 todas las sustancias alimenticias que promueven el crecimiento de probióticos en los intestinos. Preferiblemente se pueden elegir del grupo formado por oligosacáridos, que opcionalmente contengan fructosa, galactosa, manosa; fibras dietéticas, en particular fibras solubles, fibras de soja; inulina; o mezclas de ellas. Los prebióticos preferidos son fructo-oligosacáridos (FOS), galacto-oligosacáridos (GOS), isomalto-oligosacáridos (IOS), xilo-oligosacáridos, oligosacáridos de soja, glicosilsacarosa (GS), lactosacarosa (LS); lactulosa (LA), oligosacáridos de palatinosa (PAO), malto-oligosacáridos (MOS), gomas y/o hidrolizados de las mismas, pectinas y/o hidrolizados de las mismas.

Una ventaja de la presente invención es que los *Lactobacillus paracasei*, en particular el *Lactobacillus paracasei* ST11, son efectivos como bacterias vivas y también como especies bacterianas no replicantes. Por consiguiente, incluso en condiciones que no permiten la presencia de bacterias vivas, persiste la efectividad del *Lactobacillus paracasei*, en particular del *Lactobacillus paracasei* ST11. 50

Sin embargo es preferible que al menos una parte del *Lactobacillus paracasei*, en particular del *Lactobacillus paracasei* ST11, esté vivo en la composición y llegue vivo al intestino. Así pueden colonizar el intestino y aumentar su efectividad por multiplicación. 55

No obstante, para productos alimenticios especiales esterilizados sería preferible que el *Lactobacillus paracasei*, en particular el *Lactobacillus paracasei* ST11, no esté vivo en la composición. Por tanto en una forma de ejecución de la

presente invención hay al menos una parte del *Lactobacillus paracasei*, en particular del *Lactobacillus paracasei* ST11, que no está vivo en la composición.

5 El *Lactobacillus paracasei*, en particular el *Lactobacillus paracasei* ST11, será efectivo a cualquier concentración. Si el *Lactobacillus paracasei*, en particular el *Lactobacillus paracasei* ST11, llega vivo al intestino, una sola bacteria puede ser suficiente para lograr un poderoso efecto por colonización y multiplicación.

Para una composición de la presente invención se prefiere en general que la dosis diaria de la composición lleve entre  $10^2$  y  $10^{12}$  ufc de *Lactobacillus paracasei*, en particular de *Lactobacillus paracasei* ST11. Una dosis diaria especialmente adecuada de *Lactobacillus paracasei*, en particular de *Lactobacillus paracasei* ST11, es de  $10^5$  a  $10^{11}$  unidades formadoras de colonias (ufc), con mayor preferencia de  $10^7$  a  $10^{10}$  ufc.

10 En el caso del *Lactobacillus paracasei* no replicante, en particular del *Lactobacillus paracasei* ST11 no replicante, se prefiere en general que la dosis diaria de la composición lleve entre  $10^2$  y  $10^{12}$  células de *Lactobacillus paracasei*, en particular de *Lactobacillus paracasei* ST11. Una dosis diaria especialmente adecuada de *Lactobacillus paracasei*, en particular de *Lactobacillus paracasei* ST11, es de  $10^5$  a  $10^{11}$  células, con mayor preferencia de  $10^7$  a  $10^{10}$  células.

15 Generalmente es preferible que una composición de la presente invención comprenda entre  $10^3$  y  $10^{12}$  ufc de *Lactobacillus paracasei*, en particular de *Lactobacillus paracasei* ST11, por g de peso seco de composición. Una cantidad especialmente adecuada de *Lactobacillus paracasei*, en particular de *Lactobacillus paracasei* ST11, es de  $10^5$  a  $10^{11}$  ufc por g de peso seco de composición, con mayor preferencia de  $10^7$  a  $10^{10}$  ufc por g de peso seco de composición.

20 En el caso del *Lactobacillus paracasei* no replicante, en particular del *Lactobacillus paracasei* ST11 no replicante, se prefiere en general que la composición lleve entre  $10^3$  y  $10^{12}$  células de *Lactobacillus paracasei*, en particular de *Lactobacillus paracasei* ST11, por g de peso seco de composición. Una cantidad especialmente adecuada de *Lactobacillus paracasei*, en particular de *Lactobacillus paracasei* ST11, es de  $10^5$  a  $10^{11}$  células por g de peso seco de composición, con mayor preferencia de  $10^7$  a  $10^{10}$  células por g de peso seco de composición.

25 Otro uso de una composición que contenga *Lactobacillus paracasei*, en particular de *Lactobacillus paracasei* ST11, conforme a la presente invención es el de ayudar a perder y/o mantener el peso.

En concreto la composición de la presente invención se puede usar para disminuir la ganancia de peso, sobre todo cuando la composición se administra a largo plazo.

No obstante, sobre todo en caso de administraciones a corto plazo, la composición se puede usar como un supresor de la ingestión de alimento.

30 Se vio que el consumo de la composición de la presente invención reducía la generación total de grasa abdominal, en concreto la generación del tejido adiposo mesentérico, epididímico y/o perirrenal.

La composición de la presente invención es especialmente muy apropiada para tratar o prevenir el sobrepeso y/o la obesidad resultante de una dieta rica en grasa. Dieta rica en grasa es aquella que contiene al menos 110% de la grasa contenida en una dieta generalmente recomendada.

35 Como el establecimiento y el mantenimiento de un peso corporal correcto y en particular de un porcentaje en peso aceptable de grasa en el cuerpo es un paso clave para tratar o prevenir trastornos metabólicos, otra aplicación de una composición que contenga *Lactobacillus paracasei*, en particular *Lactobacillus paracasei* ST11, conforme a la presente invención es la de tratar o prevenir trastornos metabólicos tales como, por ejemplo, diabetes, hipertensión, cirrosis hepática, síndrome metabólico y/o enfermedades cardiovasculares. Por tanto la composición preparada de la presente invención puede contribuir de manera importante al bienestar de la población actual, sobre todo en países bien desarrollados.

40 Los especialistas en la materia comprenderán que se pueden combinar libremente todas las características de la presente invención aquí descritas, sin apartarse del ámbito de la presente invención, tal como está expuesto. En concreto, las características descritas para los usos de la presente invención son aplicables a la composición de la presente invención y viceversa.

Otras ventajas y características de la presente invención se hacen evidentes a partir de los siguientes ejemplos y figuras.

45 La figura 1 muestra los efectos del *Lactobacillus paracasei* ST11 (NCC2461) en el peso corporal (A) y en la ingestión de alimentos (B) cuando se administra durante 11 semanas con una dieta rica en grasas. Los valores están expresados como media  $\pm$  E.E.M. en cada grupo. Entre paréntesis se indica el número de animales usado. La diferencia significativa entre el agua y el *Lactobacillus paracasei* ST11 se analizó por ANOVA. \*P < 0,05.

La figura 2 muestra datos de registros típicos de TAB-ANS, TAM-ANS, ANSA y ANVH de una rata inyectada con agua o con *Lactobacillus paracasei* ST11 (A). Respuesta TAM-ANS a la inyección intravenosa de cloruro de hexametonio (B). Los puntos de inyección están indicados por flechas.

La figura 3 muestra los efectos de la inyección ID de *Lactobacillus paracasei* ST11 (NCC2461) en las actividades nerviosas autónomas. TAB-ANS (A), TAM-ANS (B), ANSA (C), ANVH (D) y RC (E) tras la inyección de agua o de *Lactobacillus paracasei* ST11 están expresados como media  $\pm$  E.E.M. de los porcentajes de los valores en el minuto 0. Entre paréntesis se indica el número de animales usado. Las diferencias significativas (\*P < 0,05) entre los valores a partir de 5-60 minutos tras la inyección intraduodenal de agua o de *Lactobacillus paracasei* ST11 se analizan por ANOVA.

La figura 4 muestra los efectos de la inyección IG de *Lactobacillus paracasei* ST11 (NCC2461) en TAM-T y TC. TAM-T (A) y TC (B) tras la inyección IG de *Lactobacillus paracasei* están expresados como media  $\pm$  E.E.M. de los porcentajes de los valores en el minuto 0. Entre paréntesis se indica el número de animales empleado. Las diferencias significativas (\*P < 0,05) entre los valores a partir de 5 hasta 60 minutos tras la inyección por grupos se analizan por ANOVA.

La figura 5 muestra cambios de AGL en plasma tras la inyección IG de *Lactobacillus paracasei* ST11 (NCC2461). Los datos (medias  $\pm$  E.E.M.) están expresados como porcentajes respecto a los niveles de AGL medidos en el minuto 0. Entre paréntesis se indica el número de animales utilizado. Las diferencias significativas de los valores (\*P < 0,05) entre los grupos a partir de 15 hasta 60 minutos están analizadas por ANOVA como grupos.

La figura 6 muestra los efectos de la inyección IG de *Lactobacillus paracasei* ST11 (NCC2461) sobre las células c-Fos-ir en el NSQ y el NPV. Microfotografías representativas de secciones coronales muestran los efectos del agua o del *Lactobacillus paracasei* ST11 sobre las células c-Fos-ir en el NSQ y el NPV (A). Abreviaturas: 3 V, el tercer ventrículo; OC, el quiasma óptico. Escalas = 200  $\mu$ m. Se contó el número de células c-Fos-ir en el NSQ y el NPV tras la inyección de *Lactobacillus paracasei* ST11 (B). Entre paréntesis se indica el número de animales empleado. Los valores están expresados como media  $\pm$  E.E.M. \*Las diferencias significativas se muestran como P < 0,05 (prueba de Mann-Whitney U).

#### EJEMPLOS:

##### Animales

Se emplearon ocho ratas Wistar macho de 8 semanas, que se alojaron individualmente en un recinto mantenido a  $24 \pm 1^\circ\text{C}$  e iluminado cada día durante 12 h (07:00 - 19:00 h). Las ratas se adaptaron al ambiente durante al menos 1 semana antes del ensayo y se dividieron en grupos de dos bebederos a los que se dio agua o el *Lactobacillus paracasei* ST11 (NCC2461) ( $1 \times 10^9$  ufc/2 ml de agua) durante 11 semanas. Determinamos esta dosis después de comprobar las respuestas de la TAB-ANS a las dosis, en ratas anestesiadas con uretano (tabla 1). Los dos grupos recibieron la dieta rica en grasas [de Oriental Yeast Co., Ltd, Tokio, Japón, composición dietética (% de calorías): 30% de grasas (sebo bovino 14% + manteca 14% + aceite de soja 2%), caseína 25%, almidón de maíz 15%, sacarosa 20%, celulosa 5%, mezcla mineral (AIN-93G) 4% y mezcla vitamínica (AIN-93) 1%]. El acceso a la comida y al agua fue libre. Durante el periodo de prueba se controló el peso corporal de todas las ratas y el peso de la grasa abdominal (de los tejidos adiposos mesentérico + epididímico + perirrenal) se determinó tras el sacrificio.

Tabla 1 Peso corporal y peso de grasa abdominal en el grupo de agua o NCC2461 tras la ingestión de una dieta rica en grasa

Grupos	Peso corporal (g)	Peso de grasa abdominal (g)
Agua	671,1 $\pm$ 31,6 (4)	63,4 $\pm$ 7,1 (4)
NCC2461	581,7 $\pm$ 21,1 (4)	46,6 $\pm$ 3,9 (4)

Peso de grasa abdominal: peso total de los tejidos adiposos epididímico, perirrenal y mesentérico. Los valores son medias  $\pm$  E.E. Los valores entre paréntesis indican el número de ratas.

##### Estudio electrofisiológico

Se usaron ratas Wistar macho de 300-330 g. Las ratas se alojaron en un recinto mantenido a  $24 \pm 1^\circ\text{C}$  e iluminado cada día durante 12 h (07:00 - 19:00 h). El acceso a la comida y al agua fue libre. Las ratas se adaptaron al ambiente durante al menos 1 semana antes del ensayo. El día del ensayo se retiró la comida 3 - 4 h antes de la cirugía. La preparación general se llevó a cabo de la manera descrita anteriormente [Tanida M, y otros, Brain Res 2005; 1058(1-2):44-55], que se incorpora aquí como referencia. Brevemente, se insertaron catéteres de polietileno en la vena femoral izquierda y en la cavidad duodenal para las respectivas inyecciones intravenosa e intraduodenal, bajo anestesia inducida por inyección intraperitoneal (IP) de 1 g/kg de uretano. Después se les insertó una cánula intratraqueal y las ratas se fijaron en un aparato esterotáxico y se mantuvieron a  $37,0\text{-}37,5^\circ\text{C}$ . Para registrar la TAB-ANS (tejido adiposo blanco – actividad nerviosa sináptica) eferente se separó cuidadosamente bajo el microscopio

un filamento nervioso de la rama simpática paralelamente al vaso en el TAB derecho del epidídimo. Para registrar la TAM-ANS (tejido adiposo marrón – actividad nerviosa sináptica) eferente, el nervio simpático izquierdo que inerva el TAM interescapular se puso al descubierto a través de una incisión dorsal izquierda, usando un microscopio disector. Para registrar la actividad nerviosa simpática adrenal (ANSA), el nervio adrenal izquierdo se puso al descubierto retroperitonealmente a través de una incisión en el flanco izquierdo. Para registrar la actividad del nervio vagal hepático se identificó la rama hepática del nervio vagal subdiafragmático ventral y se puso al descubierto sobre el esófago tras una incisión en la línea media abdominal. Se ligó el extremo distal del nervio y luego se enganchó a un par de electrodos de alambre de plata, a fin de registrar la actividad nerviosa eferente. Los electrodos de registro estaban sumergidos en un recipiente de aceite de parafina líquido o en una mezcla de vaselina caliente y aceite de parafina líquido para evitar la deshidratación de los nervios y para aislamiento eléctrico. Se dejó estabilizar la rata durante 30-40 minutos después de colocar los electrodos de registro. Los cambios eléctricos en la TAB-ANS, TAM-ANS, ANSA y ANVH (actividad del nervio vagal hepático) se amplificaron, se filtraron y se controlaron mediante un osciloscopio. Los datos de la actividad nerviosa sin procesar fueron convertidos en pulsos normalizados mediante un discriminador de ventana. Se colocaron dos electrodos de aguja bajo la piel del brazo derecho y de la pata izquierda para registrar un electrocardiograma y controlar el ritmo cardíaco (RC). La señal fue amplificada con un amplificador bioeléctrico. Estas señales analógicas se convirtieron en señales digitales mediante el convertidor A/D (Power-Lab model 4sp, AD instruments, USA), se seleccionaron y se almacenaron en un disco duro para ser analizadas fuera de línea. Las mediciones de línea base de TAB-ANS, TAM-ANS, ANSA, RC y ANVH se efectuaron 5 minutos antes de la inyección ID de *Lactobacillus paracasei* ST11 ( $1 \times 10^9$  ufc/2 ml de agua) o de agua (2 ml). En los ensayos se usó cultivo liofilizado de *Lactobacillus paracasei* ST11 después de disolverlo en agua. Los parámetros mencionados se registraron durante 60 minutos, después de la inyección. Al final del ensayo se administró cloruro de hexametonio (10 mg/kg) por vía intravenosa, para bloquear los potenciales de acción de la actividad neural postgangliónica, a fin de determinar el nivel de ruido del registro.

#### Registro telemétrico

Para medir la TC (temperatura corporal) y la TAM-T (tejido adiposo marrón – temperatura) se empleó un sistema de telemetría 181 (Star Medical Co., Japón) como el anteriormente descrito [Taniguchi H, y otros, *Neurosci Lett* 2006; 398 (1-2):102-6]. En algunas ratas ( $n = 8$ ), 10 - 14 días antes de la inyección intragástrica (IG) de *Lactobacillus paracasei* ST11, se implantó bajo anestesia con pentobarbital (35 mg/kg, IP) una cápsula que contenía un sensor de temperatura, una batería y un transmisor (modelo 10T-T, Star Medical Co.) en la cavidad abdominal o por encima de la bolsa de grasa del TAM. Las señales de salida recogidas por un receptor se convirtieron de analógicas a digitales y se controlaron y almacenaron en un PC. Los datos obtenidos por este sistema se analizaron mediante el programa 16ch-Eight Star program (Star Medical Corp.). El día del ensayo se retiró la comida 4-6 h antes de la inyección. Con el animal consciente se hicieron mediciones de la línea base de la TAM-T o TC 5 minutos antes de la inyección IG de *Lactobacillus paracasei* ST11 o de agua, durante el periodo de luz (14:00 h). Después de la inyección estos parámetros se registraron durante 60 minutos.

#### Determinación del nivel de AGL en sangre

Se efectuaron cateterizaciones quirúrgicas bajo anestesia con pentobarbital IP 3 días antes del ensayo. Las muestras de sangre se recogieron de un catéter de silicona permanente implantado crónicamente en la vena yugular externa derecha, con su extremo situado en un punto justo fuera del atrio, antes y después de la inyección IG de *Lactobacillus paracasei* ST11 ( $1 \times 10^9$  ufc/2 ml de agua) o de agua (2 ml). Se separó inmediatamente el plasma para el ensayo de los AGL (ácidos grasos libres). Los AGL se determinaron mediante el método de acil-CoA sintetasa-acil-CoA oxidasa con el kit de ensayo NEFA-C (Wako Pure Chemical Industries, Ltd. Cat.# 279-75401).

#### Inmunohistoquímica

Tras las inyecciones IG de *Lactobacillus paracasei* ST11 ( $1 \times 10^9$  ufc/2 ml de agua) o de agua (2 ml) se investigó la inducción de proteína c-Fos en el NSQ (núcleo supraquiasmático) y en el NPV. Todas las inyecciones se realizaron a las 14:00 h. Las ratas se anestesiaron (pentobarbital 35 mg/kg, IP) 60 minutos después de la inyección y fueron perfundidas intracardialmente con suero fisiológico helado y luego con 4% de paraformaldehído (PFA, Sigma, St. Louis, MO) en suero fisiológico tamponado con fosfato (PBS). Se extrajeron los cerebros, se fijaron en PFA al 4% en PBS a 4°C por la noche y se crioprotegieron en 20% de sacarosa durante dos noches. Después los cerebros se cortaron con un criomicrotomo (CM1900, Leica, Alemania) en secciones de 30  $\mu$ m de espesor. Se llevaron a cabo análisis inmunohistoquímicos de c-Fos en el NSQ y el NPV, usando anticuerpos policlonales de conejo específicos contra c-Fos (en dilución 1:1000; Santa Cruz, South San Francisco, CA) como anticuerpos primarios. Se visualizó la inmunorreactividad con un kit Vectastain ABC (Vector Laboratories, Burlingame, CA) y diaminobenzidina (Sigma, Japón) como cromógeno. Para determinar el área del NSQ o el NPV se tiñeron con violeta de cresilo (Sigma, Japón) secciones adyacentes en animales de ensayo y se delineó el NSQ. Se examinaron al microscopio (BX51, Olympus, Japón) imágenes de los cortes y se contó el número de núcleos inmunorreactivos para c-Fos (c-Fos-ir) en el NSQ o el NPV, empleando el programa Image J.

#### Análisis estadístico

Se midió TAB-ANS, TAM-ANS, ANSA, ANVH, RC, TAM-T y TC durante cada periodo de 5 minutos subsiguiente a la

inyección de *Lactobacillus paracasei* ST11 y se analizaron mediante análisis de procesamiento de señales digitales. Todos los datos se expresaron como media  $\pm$  E.E.M. Se hizo una prueba de Mann-Whitney U para comparar los niveles basales en cada grupo. Debido a la gran variedad interindividual en el estado previo a las inyecciones se calcularon los cambios de porcentaje y de temperatura respecto a la línea base, para los datos de descarga neural y de temperatura, respectivamente. Se aplicó un ANOVA de dos vías para comparar las respuestas de los grupos de TAB-ANS, TAM-ANS, ANSA, ANVH, RC, TAM-T, TC, peso corporal y nivel de AGL en plasma.

Resultados

La fig. 1A muestra los cambios de peso corporal en los grupos durante el ensayo. La administración de una DRG (dieta rica en grasas) produjo un aumento progresivo del peso corporal tanto en el grupo de agua como en el grupo de *Lactobacillus paracasei* ST11, pero en el grupo del *Lactobacillus paracasei* ST11 se confirmó la disminución importante de ganancia de peso. Además la toma de una bebida de *Lactobacillus paracasei* ST11 redujo de manera significativa los pesos finales de grasa abdominal (de los tejidos adiposos mesentérico + epididímico + perirrenal) en comparación con las ratas que bebieron agua (tabla 2).

Grupos	Agua	<i>Lactobacillus paracasei</i> ST11 (NCC2461)
TAB-ANS (picos/5 s)	198,7 $\pm$ 24,2 (4)	145,2 $\pm$ 17,6 (4)
TAM-ANS (picos/5 s)	273,1 $\pm$ 72,0 (4)	155,6 $\pm$ 87,7 (4)
ANSA (picos/5 s)	125,6 $\pm$ 52,2 (4)	75,8 $\pm$ 25,6 (4)
ANVH (picos/5 s)	86,5 $\pm$ 12,3 (4)	99,3 $\pm$ 20,7 (4)
Ritmo cardíaco (latidos/min)	379,6 $\pm$ 24,5 (4)	360,1 $\pm$ 25,5 (4)
TAM-T (°C)	37,7 $\pm$ 0,18 (4)	38,1 $\pm$ 0,34 (4)
TC (°C)	36,2 $\pm$ 0,28 (4)	36,2 $\pm$ 0,44 (4)
TAB-ANS, actividad nerviosa simpática del tejido adiposo blanco; TAM-ANS, actividad nerviosa simpática del tejido adiposo marrón; ANSA, actividad nerviosa simpática adrenal; ANVH, actividad del nervio vago hepático; Los datos están expresados como media $\pm$ E.E.M. Los valores entre paréntesis indican el número de ratas.		

Además durante el periodo del ensayo no se detectó ninguna diferencia significativa en el consumo de comida a largo plazo entre el grupo de agua y el grupo de *Lactobacillus paracasei* ST11 (fig. 1B). Tampoco se encontró una diferencia importante del líquido bebido durante todo el tiempo del ensayo entre el grupo de agua (3248  $\pm$  295 ml) y el de *Lactobacillus paracasei* ST11 273 (2738  $\pm$  415 ml). En la fig. 2A se muestran registros típicos de TAB-ANS, TAM-ANS, ANSA y ANVH en los 60 minutos siguientes a una inyección intestinal de *Lactobacillus paracasei* ST11. La inyección de agua no afectó a la TAB-ANS, TAM-ANS, ANSA y ANVH, pero la inyección de *Lactobacillus paracasei* ST11 ( $1 \times 10^9$  ufc) elevó significativamente la TAB-ANS, TAM-ANS y ANSA y suprimió la ANVH en las ratas anestesiadas con uretano. Asimismo en la fig. 2B puede verse según los datos del histograma que la inyección intravenosa de cloruro de hexametonio suprimió claramente la descarga neural suministrada al TAB (nivel en la pre-inyección: 283,3  $\pm$  90,4 picos/5 s; nivel a los 10 minutos después de la inyección: 13,1  $\pm$  5,2 picos/5 s).

En la fig. 3A-E se resumen los cambios temporales de TAB-ANS, TAM-ANS, ANSA, ANVH y RC tras la inyección de *Lactobacillus paracasei* ST11 o de agua. La inyección de *Lactobacillus paracasei* ST11 ( $1 \times 10^9$  ufc) incrementó la TAB-ANS gradualmente hasta llegar a un máximo de 147,2  $\pm$  7,3% a los 60 minutos la última vez que se examinó (fig. 3A), la TAM-ANS, que subió a 267,2  $\pm$  88,6% a los 55 minutos (fig. 3B), la ANSA, que subió a 259,2  $\pm$  72,5% a los 60 minutos la última vez que se examinó (fig. 3C) y el RC, que subió a 107,9  $\pm$  4,0% a los 50 minutos la última vez que se examinó (fig. 3E). Además la inyección de *Lactobacillus paracasei* ST11 suprimió gradualmente la ANVH, que alcanzó un máximo de 65,6  $\pm$  14,4% a los 50 minutos (fig. 3D). En cambio la inyección de agua no afectó de manera significativa a los niveles de TAB-ANS, TAM-ANS, ANSA, RC y ANVH, al menos hasta 60 minutos después de la inyección. No se detectaron diferencias importantes entre los dos grupos respecto a sus valores basales al minuto 0 (tabla 3).

**Tabla 3** Efectos dependientes de la dosis de NCC2461 en la TAB-ANS

Grupos		
Agua		92,8 ± 41,4 (4)
NCC2461 (1x10 <sup>8</sup> ufc/2 ml de agua)		110,2 ± 17,1 (4)
NCC2461 (1x10 <sup>9</sup> ufc/3 ml de agua)		147,2 ± 7,3* (4)

Los resultados indicados son diferencias de la actividad nerviosa simpática respecto a la línea base (100,0%) tras la inyección ID de NCC2461. Los valores entre paréntesis indican el número de ratas.

\*  $P < 0.05$  frente al grupo de agua.

A continuación se examinó si el *Lactobacillus paracasei* ST11 provocaba efectos en la TAM-T y en la TC de las ratas conscientes. Tal como muestra la fig. 4, la inyección IG de *Lactobacillus paracasei* ST11 (1x10<sup>9</sup> ufc) (fig. 4A y B) aumentó significativamente la TAM-T y la TC. Tras la inyección de *Lactobacillus paracasei* ST11 la TAM-T (fig. 4A) y la TC (fig. 4B) aumentaron gradualmente, alcanzando los máximos niveles de incremento a los 55 y 60 minutos respectivamente, que fueron de  $0,45 \pm 0,09$  y  $1,41 \pm 0,43^{\circ}\text{C}$ , respectivamente. Sin embargo la inyección de agua no afectó a la TAM-T (fig. 4A) ni a la TC (fig. 4B). Los valores basales absolutos (minuto 0), TAM-T y TC de los ensayos representados en la fig. 3 están resumidos en la tabla 3. Las diferencias respecto a los valores basales no fueron estadísticamente significativas (prueba de Mann-Whitney U).

Por último se examinaron los efectos del *Lactobacillus paracasei* ST11 sobre las neuronas c-Fos-ir en los núcleos hipotalámicos, incluyendo el NSQ y el NPV. La fig. 6A representa microfotografías que muestran el efecto del agua o del *Lactobacillus paracasei* ST11 sobre células c-Fos-ir en el NSQ y el NPV de rata seccionados coronalmente. La fig. 6B muestra los datos de inducción de c-Fos en el NSQ y el NPV. La inyección de *Lactobacillus paracasei* ST11 provocó mayores expresiones de células c-Fos-ir - tanto en el NSQ como en el NPV - que las inyecciones de agua ( $P < 0,05$ ).

Resultados:

En el presente estudio se evitaron con éxito los aumentos de peso corporal y de peso de grasa abdominal en ratas alimentadas con una DRG, mediante la ingestión de *Lactobacillus paracasei* ST11 (NCC2461), como ejemplo muy apropiado de *Lactobacillus paracasei* en general, y sin cambiar la ingestión de comida.

Asimismo se encontró que el *Lactobacillus paracasei*, en particular el *Lactobacillus paracasei* ST11, incrementa de modo significativo la TAM-ANS y la TAB-ANS (fig. 2). Además los niveles de AGL en sangre, uno de los marcadores lipocatabólicos, que es estimulado por la aceleración de la TAB-ANS, fueron significativamente altos debido a la administración de *Lactobacillus paracasei* ST11 (fig. 5).

Por consiguiente estos datos demuestran que el *Lactobacillus paracasei*, en particular el *Lactobacillus paracasei* ST11, suprime la obesidad, en concreto la obesidad inducida por DRG.

Sin querer limitarse a la teoría, los inventores creen que el *Lactobacillus paracasei*, en particular el *Lactobacillus paracasei* ST11, puede afectar los nervios autónomos y reducir el peso corporal, parcial o completamente mediante transducción central histaminérgica.

La producción de calor en el TAM por activación de los nervios simpáticos es mediada por el desacoplamiento de la proteína 1, que aumenta la termogénesis y el consumo de energía al desacoplar la oxidación de la producción de ATP en las mitocondrias, y la lipólisis en el TAB es inducida por la hidrólisis de los triacilgliceroles a través de la excitación simpática.

Además los inventores investigaron los efectos del *Lactobacillus paracasei*, en particular del *Lactobacillus paracasei* ST11, sobre la TAM-T y el nivel plasmático de AGL en ratas conscientes y obtuvieron datos que demostraban que el *Lactobacillus paracasei*, en particular el *Lactobacillus paracasei* ST11, aumentaba la TAM-T y el nivel de AGL en el plasma (figs. 4 y 5). Por tanto el *Lactobacillus paracasei*, en particular el *Lactobacillus paracasei* ST11, puede afectar los nervios autónomos y causar aceleraciones de la termogénesis y de la lipólisis del TAB.

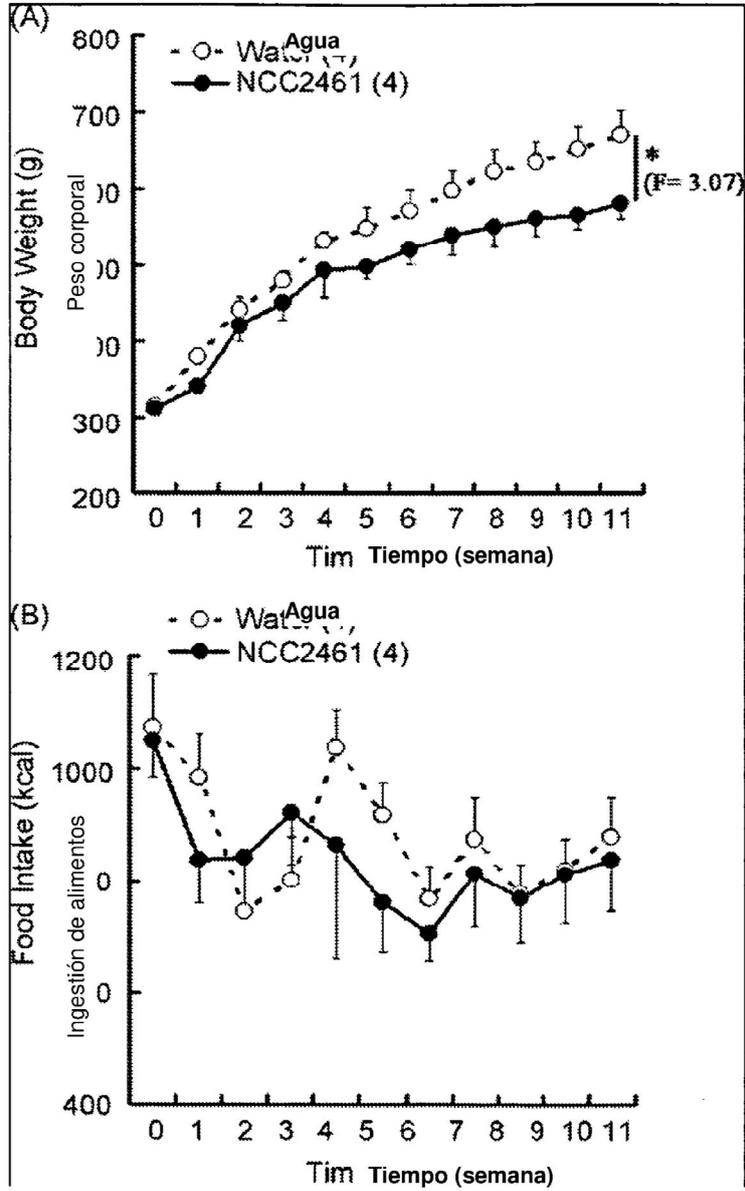
En el presente estudio se analizaron los efectos del *Lactobacillus paracasei*, en particular del *Lactobacillus paracasei* ST11, no solo en la actividad nerviosa simpática, sino también en la parasimpática, y se encontró que la ANVH - implicada en las modulaciones del nivel de glucosa en sangre mediante la glicogénesis hepática - era suprimida por la ingestión de *Lactobacillus paracasei*, en particular de *Lactobacillus paracasei* ST11 (fig. 2).

El presente estudio demostró que el *Lactobacillus paracasei*, en particular el *Lactobacillus paracasei* ST11, produce elevación simpática y supresión parasimpática. Es sabido que la supresión parasimpática va ligada a la inhibición de la ingestión de alimento [Shen J, y otros, *Neurosci Lett* 2005;380(3):289-94]. Aunque el presente estudio demuestra que la ingestión a largo plazo de *Lactobacillus paracasei*, en particular de *Lactobacillus paracasei* ST11, no afecta a la ingestión de los alimentos, debido posiblemente a una adaptación en el tracto gastrointestinal, el *Lactobacillus paracasei*, en particular el *Lactobacillus paracasei* ST11, podría emplearse de todos modos como supresor de la ingestión de alimentos, concretamente si se usa por corto tiempo.

**REIVINDICACIONES**

- 5 **1.** Composición que comprende *Lactobacillus paracasei* ST11 (CNCM I-2116), para usar en el tratamiento o prevención del sobrepeso, de la obesidad y/o de trastornos metabólicos relacionados, **caracterizada porque** el trastorno metabólico asociado es un trastorno seleccionado del grupo formado por diabetes, hipertensión, cirrosis hepática, síndrome metabólico, enfermedades cardiovasculares y combinaciones de los mismos.
- 2.** Composición según la reivindicación 1, prevista para el tratamiento de humanos o animales, en particular mascotas, ganado y/o animales de compañía como perros o gatos.
- 3.** Composición según una de las reivindicaciones 1-2, **caracterizada porque** es un medicamento, un producto alimenticio, una comida para mascotas, un aditivo alimentario o un producto nutracéutico.
- 10 **4.** Composición según una de las reivindicaciones 1-3, **caracterizada porque** está destinada a bebés, niños y/o adultos.
- 5.** Composición según una de las reivindicaciones 1-4, **caracterizada porque** comprende al menos otra clase de microorganismos de uso alimentario, tales como bacterias y/o levaduras.
- 15 **6.** Composición según la reivindicación 5, **caracterizada porque** los microorganismos de uso alimentario son probióticos.
- 7.** Composición según una de las reivindicaciones 1-6, **caracterizada porque** además contiene al menos un prebiótico.
- 8.** Composición según la reivindicación 7, **caracterizada porque** el prebiótico se elige del grupo formado por oligosacáridos y opcionalmente contiene fructosa, galactosa, manosa, soja y/o inulina, fibras dietéticas o mezclas de los mismos.
- 20 **9.** Composición según una de las reivindicaciones 1-8, **caracterizada porque** al menos una parte de los *Lactobacillus paracasei* están vivos en la composición.
- 10.** Composición según una de las reivindicaciones 1-9, **caracterizada porque** al menos una parte de los *Lactobacillus paracasei* son no replicantes en la composición.
- 25 **11.** Composición según una de las reivindicaciones 1-10, **caracterizada porque** comprende entre  $10^2$  y  $10^{12}$  células de *Lactobacillus paracasei* por dosis diaria.
- 12.** Composición según una de las reivindicaciones 1-11, para ayudar a perder y/o mantener peso y/o, en particular con administraciones a corto plazo, para suprimir la ingestión de alimento.
- 30 **13.** Composición según una de las reivindicaciones 1-12, para incrementar la lipólisis y/o, en particular con administraciones a largo plazo, para reducir la ganancia de peso, manteniendo una ingestión constante de alimento.

Figura 1:



Figur Figura 2:

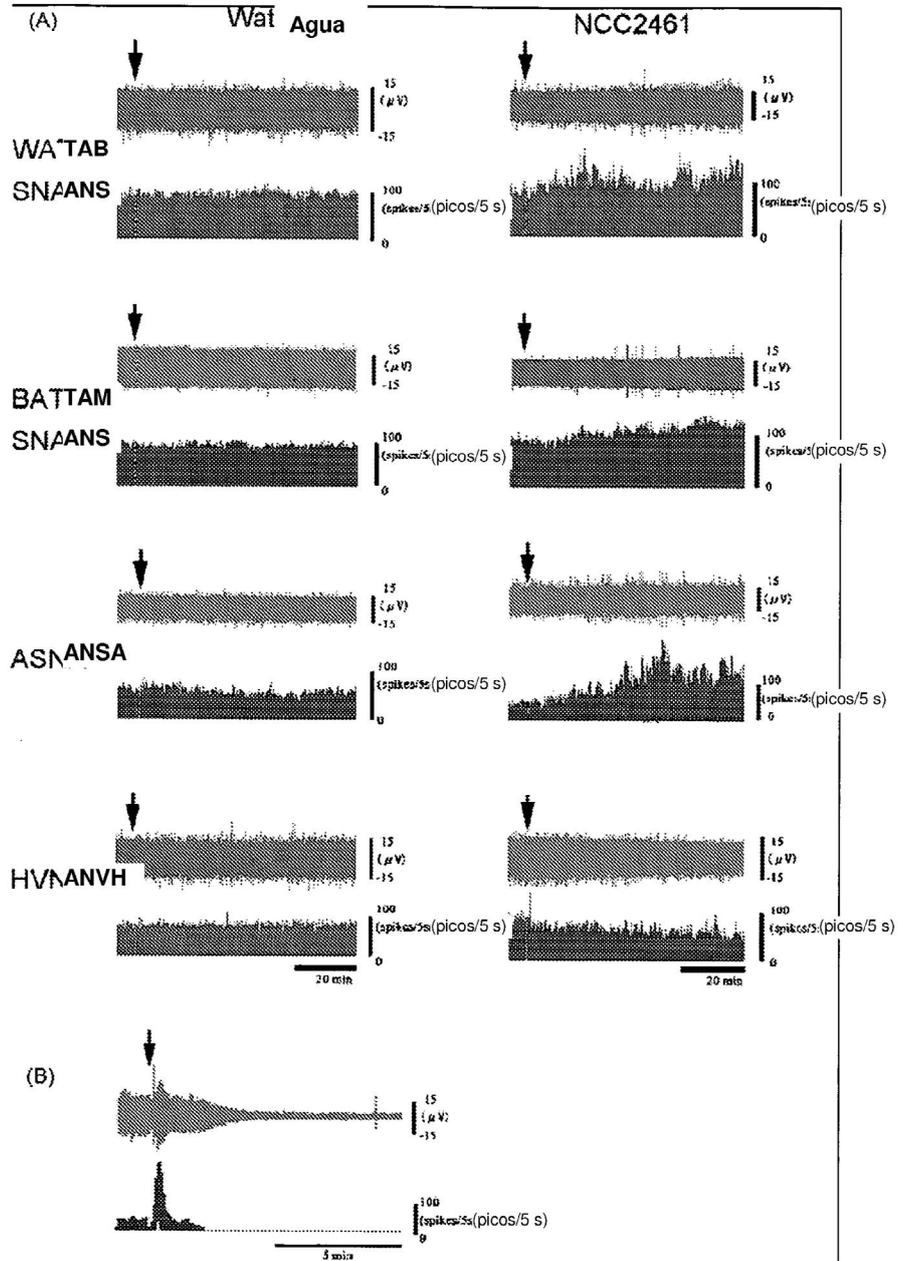


Figura 3:

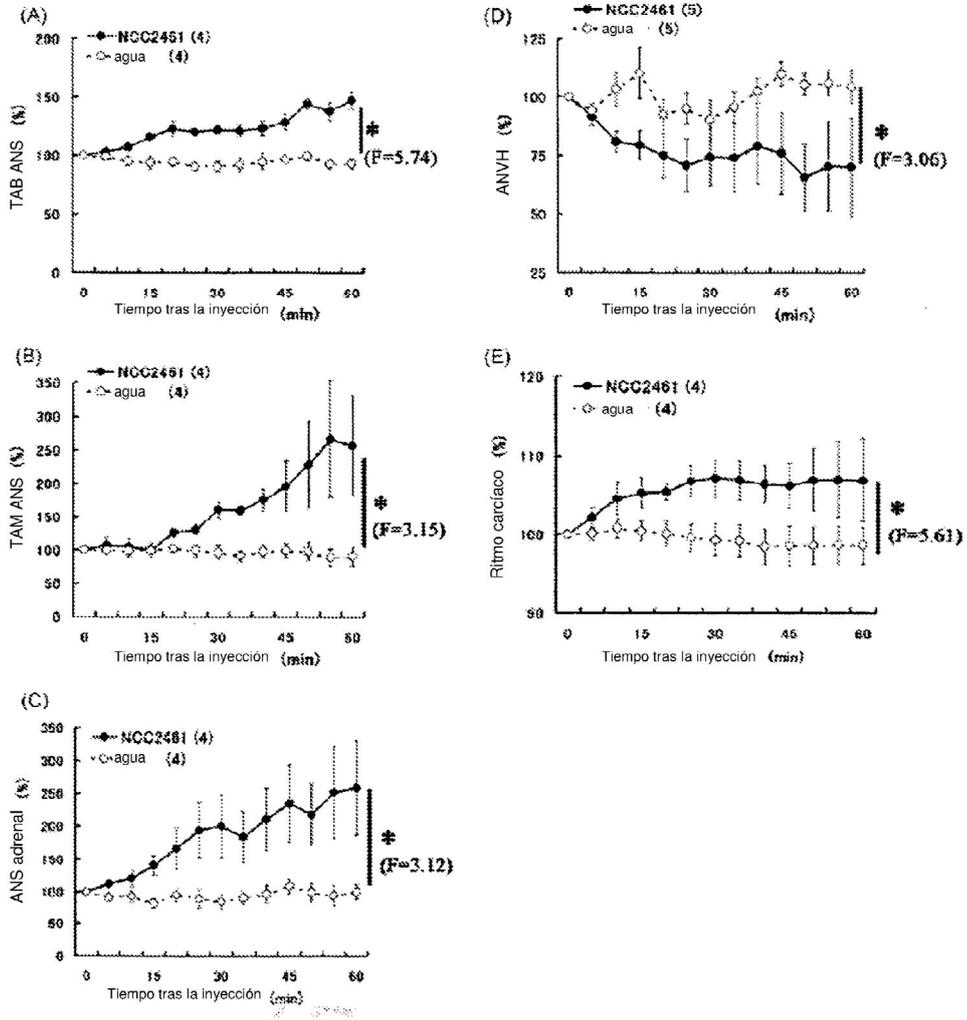


Figure Figura 4:

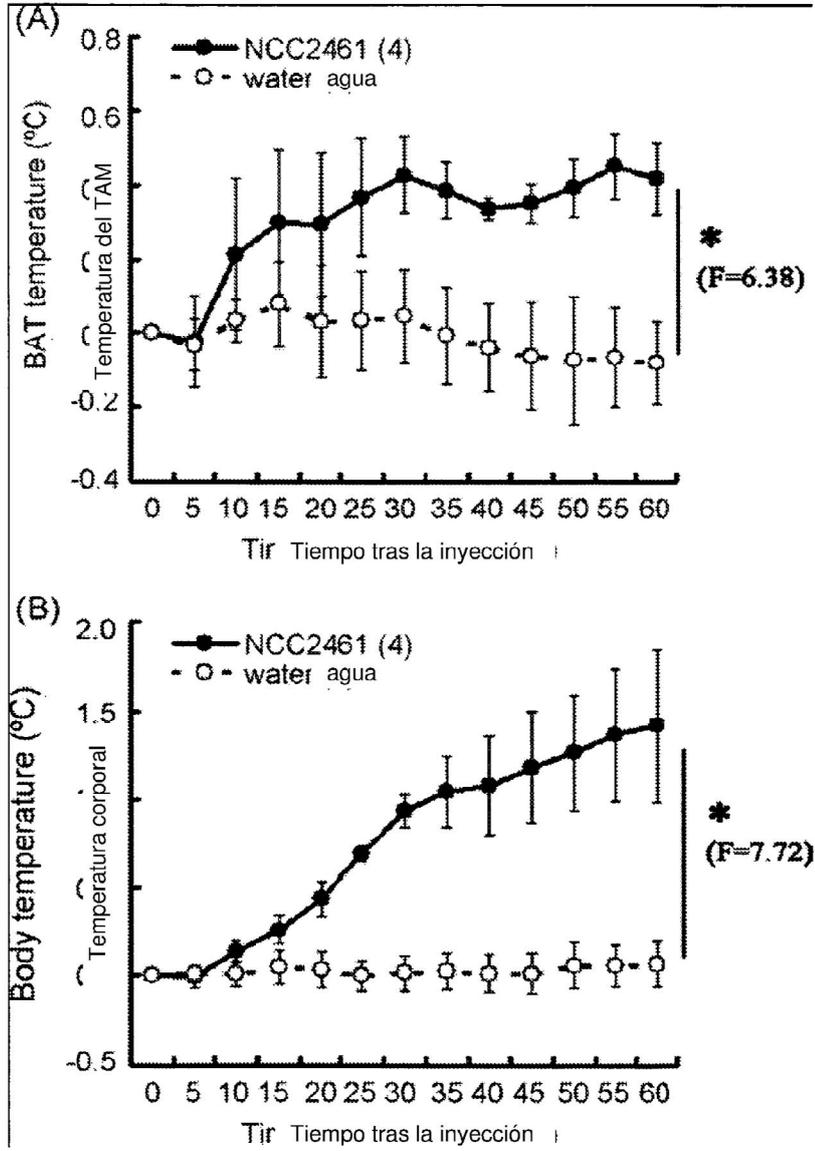


Figura 5:

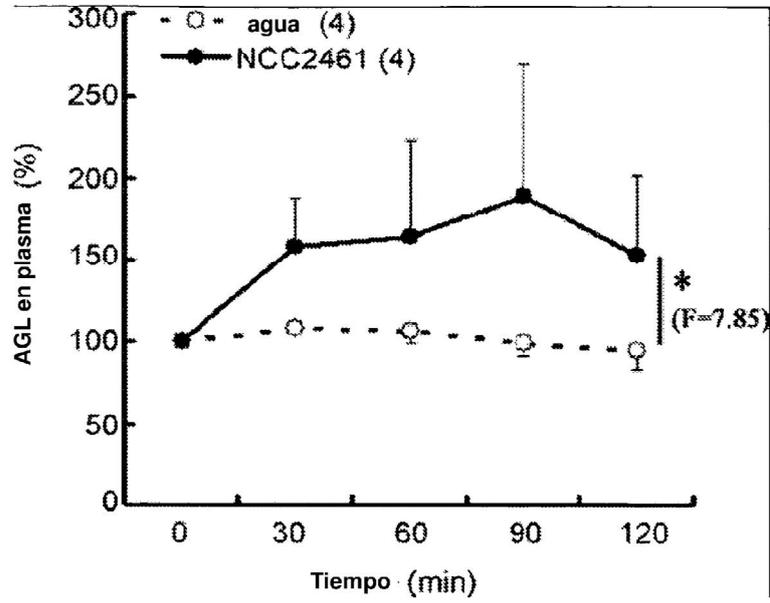


Fig. Figura 6:

