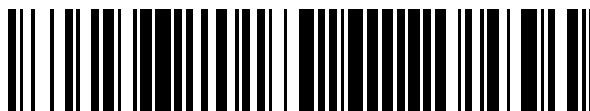


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 539 917**

51 Int. Cl.:

A61K 38/26 (2006.01)
A23L 1/00 (2006.01)
A61P 21/00 (2006.01)
A61K 38/27 (2006.01)
A61K 38/17 (2006.01)
A61K 38/22 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **07.10.2010 E 10762684 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **20.05.2015 EP 2485756**

54 Título: **GLP-2 para su uso en el tratamiento de la atrofia muscular**

30 Prioridad:

07.10.2009 EP 09172398

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

07.07.2015

73 Titular/es:

NESTEC S.A. (50.0%)
Avenue Nestlé 55
1800 Vevey, CH y
I.N.R.A. (50.0%)

72 Inventor/es:

ATTAIX, DIDIER;
CODRAN-RAISON, AUDREY;
CORTHEZY-THEULAZ, IRÈNE;
BREUILLE, DENIS y
COMBARET, LYDIE

74 Agente/Representante:

ISERN JARA, Jorge

ES 2 539 917 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).

DESCRIPCION

GLP-2 para su uso en el tratamiento de la atrofia muscular

- 5 La presente invención se refiere en general al campo de la nutrición y la salud. En particular, la presente invención proporciona una composición que permite tratar, limitar o prevenir la atrofia muscular. Las realizaciones de la presente invención se refieren a composiciones que contienen GLP-2 y también composiciones que estimulan la secreción de GLP-2 en un cuerpo para tratar o prevenir la atrofia muscular.
- 10 La pérdida de masa muscular en estados catabólicos es una causa indirecta de la morbilidad y la mortalidad debido a que la capacidad del organismo para recuperarse de tales eventos catabólicos está fuertemente afectada.

Por lo tanto, un reto importante en la nutrición clínica es mejorar el equilibrio de proteínas de todo un cuerpo, y por lo tanto el equilibrio de proteínas en el músculo esquelético, que es el principal reservorio de proteínas de un cuerpo.
- 15 Sin embargo, las moléculas de anabólicas tales como la insulina, los aminoácidos de cadena ramificada, o la glutamina tienen menor efecto positivo, si es que existe sobre los músculos en pacientes caquéticos.

Se ha demostrado recientemente en ratas jóvenes con inanición / realimentadas que la proteólisis dependiente del proteosoma de la ubiquitina del músculo esquelético es poco sensible a los aumentos tanto en los niveles de insulina plasmática como de aminoácidos. Esta conclusión se basa en las mediciones in vitro de la proteólisis muscular ± inhibidores proteolíticos (incluyendo el inhibidor del proteosoma MG132), sobre la expresión génica de varios componentes de la vía proteosoma-ubiquitina, y sobre las tasas de ubiquitinación en el músculo esquelético (Kee, AJ, et al., 2003, Journal of Physiology 546: 765-776).
- 20 Si se produce una disminución en la masa de un músculo, entonces esta condición se denomina comúnmente "atrofia muscular". La atrofia muscular se caracteriza por una pérdida parcial de la masa muscular. Esta atrofia muscular está relacionada con una disminución la síntesis de proteínas o con un aumento de la degradación de proteínas o con ambos. La consecuencia de la atrofia muscular es generalmente un deterioro de la calidad de vida. Las tareas diarias se vuelven más y más difíciles de realizar y las debilidades repentinas pueden causar accidentes.
- 25 Los sujetos que sufren de atrofia muscular son a menudo sujetos de edad avanzada y / o sujetos que sufren de trastornos en la contracción de la masa muscular como consecuencia.

La estimulación eléctrica funcional o simplemente el ejercicio son medidas típicas para trabajar contra la atrofia muscular. Sin embargo, dependiendo de la condición general del sujeto a tratar, estos métodos pueden no ser siempre aplicables.
- 30 Sería por tanto deseable disponer de una composición que permita tratar o prevenir la atrofia muscular y que también se puede utilizar en sujetos que no son capaces de aumentar su actividad física.
- 35 En consecuencia, era el objeto de la presente invención mejorar el estado de la técnica y proporcionar una composición ingerible para tratar o prevenir la atrofia muscular.

Los inventores lograron este objetivo proporcionando la materia objeto de las reivindicaciones independientes. Las reivindicaciones dependientes desarrollan adicionalmente la presente invención.
- 40 Los inventores han realizado un experimento in vivo para estudiar el efecto de la administración GLP-2 sobre el metabolismo de las proteínas en ratas jóvenes en un modelo inanición / realimentación.
- 45 Se encontró que la atrofia del intestino delgado inducida por inanición en ratas jóvenes está asociada con un aumento de las actividades de la catepsina y del proteosoma. Un aumento inducido por GLP-2 en masa del intestino delgado se asoció con una reducción de la actividad de la catepsina tanto en el yeyuno y como el íleon, mientras que la actividad de peptidasa del proteosoma no se modificó. El tratamiento GLP-2 de las ratas hambrientas (i) redujo la atrofia intestino delgado, (ii) previno el aumento de la actividad de algunas catepsinas, y (iii) limitó la disminución en altura de las vellosidades y profundidad de la cripta del yeyuno.
- 50 Por último, la administración de GLP-2 aceleró la recuperación tanto de intestino delgado y masas musculares esqueléticas cuando las ratas en ayunas se realimentaron durante 6 horas o 24 horas.
- 55 En el presente trabajo la atrofia del intestino delgado inducida por inanición se redujo en un 16% cuando las ratas recibieron GLP-2. El intestino delgado se recuperó totalmente después de 24 horas de realimentación en ratas tratadas con GLP-2, mientras que el 26% de la atrofia aún prevaleció en los animales no tratados.
- 60 Es importante destacar, la recuperación de la masa muscular esquelética en paralelo a la pequeña recuperación intestinal, que se aceleró en las ratas tratadas con GLP-2. Los músculos esqueléticos son propensos a no llevar receptores GLP-2. Por lo tanto, en conjunto estas observaciones demuestran que la manipulación de la masa del intestino delgado tiene un impacto beneficioso sobre la masa muscular esquelética.
- 65

Para el mejor conocimiento de los inventores, este es el primer estudio que demuestra que la manipulación de la masa del intestino delgado tiene un impacto beneficioso sobre la masa del músculo esquelético, por ejemplo, durante los periodos de recuperación siguientes condiciones catabólicas como el ayuno.

Estos hallazgos pueden ser aplicados en todas las condiciones en que se desee acelerar el intestino delgado y / o la recuperación del músculo esquelético, por ejemplo, en situaciones clínicas.

El presente trabajo muestra también que hay una priorización en el efecto anabólico de la nutrición: la recuperación del intestino siempre precede a la recuperación de la masa muscular.

En consecuencia, la presente invención se refiere a una composición que ayuda a la recuperación del intestino para tratar o prevenir la atrofia muscular.

También se refiere a la utilización de una composición que ayuda a la recuperación del intestino mediante la preparación de una composición para tratar o prevenir la atrofia muscular.

Las composiciones que ayudan a la recuperación del intestino son conocidas por el especialista en la materia.

Por ejemplo, una composición que ayuda a la recuperación de la masa intestinal puede ser una composición que comprende factores tróficos intestinales. Factores tróficos intestinales son conocidos por los expertos en la técnica y comprenden por ejemplo las hormonas de crecimiento (GH), y / o el péptido intestinal vasoactivo (VIP).

Además, una composición que ayuda a la recuperación de la masa intestinal puede ser una composición que comprende el péptido similar al glucagón 2 (GLP-2) y / o una composición que estimula la secreción de GLP-2 en un cuerpo.

En consecuencia, la presente invención se refiere a una composición que comprende péptido similar al glucagón 2 (GLP-2) para tratar o prevenir la atrofia muscular.

Un péptido similar al glucagón 2 (GLP-2) es un péptido de 33 amino ácidos derivado del tejido específico, resultado del procesamiento post-traducciona del gen de proglucagón se expresado en las células intestinales L enteroendocrinas.

Drucker et al., Gut, 2002, 50, 428-435 y Burrin et al., Diario de Nutrición, 2001, páginas 709-712, reportaron que hay una homología relativamente alta (87-97%) en la secuencia del péptido GLP-2 entre las especies, incluidos los seres humanos, cerdos, vacas y ratas. Por lo tanto, el GLP-2 de la presente invención incluye GLP-2 humano y proteínas con al menos 87% de homología con la secuencia de GLP-2 humano, preferiblemente al menos 90% de homología de secuencia del GLP-2 humano, por ejemplo de al menos 95% homología con la secuencia del GLP-2 humano.

El GLP-2 humano tiene la siguiente secuencia:

HADGSFSDEMNTILDNLAARDFINWLIQTKITD (SEQ-ID No. 1)

Por ejemplo, la A en la posición 2 puede ser reemplazada por una G para evitar la degradación de GLP-2 por la dipeptidil peptidasa IV (DP IV) y por lo tanto para aumentar su vida media. El GLP-2 resultante tiene la siguiente secuencia:

HGDGSFSDEMNTILDNLAARDFINWLIQTKITD (SEQ-ID No. 2)

Además las proteínas de GLP-2 que pueden utilizarse por ejemplo de acuerdo con la presente invención son las siguientes:

HADGSFSDEMNTILDNLATRDFINWLIQTKITD (SEQ-ID No. 3), o

HGDGSFSDEMNTILDNLATRDFINWLIQTKITD (SEC ID N° 4).

Mientras que GLP-2 puede ser ingerida para lograr el objeto de la presente invención, la presente invención también se refiere a composiciones que cuando se ingieren estimulan la secreción de GLP para tratar o prevenir la atrofia muscular.

Una realización de la presente invención es por lo tanto una composición que estimula la secreción de GLP-2 en un cuerpo para tratar o prevenir la atrofia muscular.

El principal estímulo para la secreción de GLP-2 es la ingesta de nutrientes. Xiao, Q., et al., Informe en gastroenterología 117: 99-105 (1999) que muestra que los niveles de N-IR-GLP-2 aumentaron después de las comidas mixtas y - en particular - en respuesta a los hidratos de carbono y grasas.

- 5 Una composición que estimula la secreción de GLP-2 en un cuerpo puede por lo tanto ser una composición rica en carbohidratos y / o grasas.

10 Tal composición puede tener una densidad calórica en el intervalo de 0,8-2,0 kcal / ml con al menos 10 % de las calorías derivadas de la grasa y / o al menos 25 % de las calorías derivadas de hidratos de carbono. La composición puede o no comprender una fuente de proteína. La fuente de proteínas – en caso de estar presente - proporcionará a lo sumo el 10 % de las calorías de la composición.

15 La composición de la presente invención puede contener al menos una fuente de proteína, al menos una fuente de hidratos de carbono y / o al menos una fuente de lípidos.

20 Si la composición contiene una fuente de hidratos de carbono, el tipo de hidratos de carbono a ser utilizado no está particularmente limitado. Cualquier carbohidrato apropiado puede ser utilizado, por ejemplo sacarosa, lactosa, glucosa, fructosa, sólidos de jarabe de maíz, maltodextrinas, almidón y mezclas de los mismos. Se pueden utilizar combinaciones de diferentes fuentes de carbohidratos. La fuente de hidratos de carbono puede estar presente en la composición en una cantidad de 7,0 a 19,0 g / 100 kcal de la composición.

25 Si la composición contiene una fuente de lípidos, el tipo de lípido a ser utilizado no está particularmente limitado. Se pueden añadir ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga n-3 y / o n-6, tales como DHA, ARA y / o EPA. Se puede obtener un perfil de grasa adecuado usando una mezcla de aceite de canola, aceite de maíz, aceite de girasol de alto oleico y ácido aceite de triglicéridos de cadena media. La fuente de lípidos puede estar presente en la composición en una cantidad de 1,5 - 5,0 g / 100 Kcal de la composición.

30 Si está presente, la fuente de proteínas puede contener cualquier proteína dietética, por ejemplo proteínas animales (tales como proteínas de leche, proteínas de la carne y proteínas de huevo); proteínas vegetales (tales como las proteínas de soja, proteínas de trigo, proteínas de arroz, y las proteínas de guisante); péptidos; mezclas de aminoácidos libres; o sus combinaciones.

35 Pueden ser preferidas las proteínas lácteas como la caseína y suero de leche y proteínas de soja. En lo que se refiere a proteínas de suero, la fuente de proteínas puede estar basada en suero ácido o dulce de suero de leche o las mezclas de los mismos y puede incluir alfa-lactoalbúmina y betalactoglobulin en lo que se desean proporciones. La fuente de proteínas también puede incluir la albúmina de suero bovino, caseína ácida, los caseinatos, α -caseína, β -caseína, γ -caseína. La fuente de proteínas puede estar presente en la composición en una cantidad de 2,0 -8,5 g / 100 kcal de la composición.

40 Las proteínas pueden estar intactas o hidrolizadas o en forma de aminoácidos libres. Una mezcla de proteínas intactas y / o hidrolizadas y / o aminoácidos libres puede ser utilizado. Puede ser deseable suministrar proteínas parcialmente hidrolizadas (grado de hidrólisis (DH) entre 2 y 20%) para facilitar la absorción.

45 Si se requieren proteínas hidrolizadas, el proceso de hidrólisis puede llevarse a cabo como se desee y como se conoce en la técnica. Por ejemplo, un hidrolizado de proteína de suero se puede preparar por hidrólisis enzimática de la fracción de suero de leche en una o más etapas.

50 Se puede añadir también fibras dietéticas. Las mismas pueden ser solubles o insolubles y, en general, se prefiere una mezcla de los dos tipos. Las fuentes adecuadas de fibra dietética incluyen soja, guisante, avena, pectina, goma guar, goma árabe, fructo-oligosacáridos, galacto-oligosacáridos, sialil-lactosa y oligosacáridos derivados de la leche animal. Una mezcla de fibras preferida es una mezcla de inulina de cadena más corta con fructo-oligosacáridos.

55 Una composición de la presente invención se puede preparar por cualquiera de las maneras conocidas en la técnica. Por ejemplo, si la composición es una fórmula nutricional, tal como fórmula de nutrición clínica o una fórmula de alimentación infantil se puede preparar mezclando una fuente de proteínas, una fuente de carbohidratos, y una fuente de grasa en proporciones adecuadas. Si se utilizan, los emulsionantes pueden incluirse en la mezcla. Las vitaminas y minerales pueden añadirse en este punto, pero usualmente se añaden más tarde para evitar la degradación térmica. Cualquier vitamina lipofílica, emulsionantes y similares pueden disolverse en la fuente de grasa antes de la mezcla. El agua, es preferiblemente agua que ha sido sometida a ósmosis inversa, que se puede mezclar a continuación para formar una mezcla líquida.

60 La mezcla líquida puede entonces tratarse térmicamente para reducir las cargas bacterianas. Por ejemplo, la mezcla líquida puede calentarse rápidamente a una temperatura en el intervalo de aproximadamente 120 °C a aproximadamente 140 °C durante aproximadamente 5 segundos a aproximadamente 30 segundos. Esto puede llevarse a cabo mediante inyección de vapor o mediante intercambiador de calor; por ejemplo, un intercambiador de calor de placas.

La mezcla líquida puede entonces enfriarse aproximadamente de 60 °C hasta aproximadamente 85 °C; por ejemplo mediante enfriamiento flash. La mezcla líquida puede a continuación homogeneizarse; por ejemplo en dos etapas a aproximadamente 7 MPa a aproximadamente 40 MPa en la primera etapa y aproximadamente 2 MPa a aproximadamente 14 MPa en la segunda etapa. La mezcla homogeneizada puede a continuación enfriarse además para añadir cualquiera de los componentes sensibles al calor; tales como vitaminas y minerales.

El contenido de pH y los sólidos de la mezcla homogeneizada se estandariza convenientemente en este punto. La mezcla homogeneizada se transfiere a un aparato de secado adecuado tal como un secador por pulverización o secador por congelación y se convierte en polvo. El polvo debe tener un contenido de humedad de menos de aproximadamente 5% en peso.

El GLP-2 también puede ser co-administrado mediante una composición que estimula la secreción de GLP-2 en un cuerpo.

La composición para uso de acuerdo a la presente invención puede ser administrada a humanos o animales, en particular para mascotas. Puede ser además ser administrada a paciente con el colon intacto.

La composición de la presente invención puede ser cualquier tipo de composición. La composición puede ser para ser administrada por ejemplo, por vía oral, enteral, parenteral (intravenosa o subcutánea o intramuscular).

Por ejemplo, puede ser una composición farmacéutica, un nutraceutico, un aditivo alimentario, un alimento para mascotas, un producto alimenticio, o una bebida.

Los productos alimenticios de acuerdo con la presente invención incluyen los productos lácteos, tales como productos lácteos fermentados, por ejemplo, yogures, suero de leche, etc; helados; leche concentrada; leche; cremas lácteos; bebidas lácteas saborizadas; bebidas a base de suero de leche; coberturas; cremas para café; el chocolate; los productos a base de queso; sopas; salsas; purés; aderezos; budines; flanes; alimentos para bebés; fórmulas nutricionales, tales como las de nutrición completa, por ejemplo, para los bebés, niños, adolescentes, adultos, ancianos o gravemente enfermo; cereales y barritas de cereales.

Las bebidas incluyen, por ejemplo leche o bebidas basadas en yogur, leche fermentada, bebidas de proteína, café, té, bebidas energéticas, bebidas de soja, frutas y / o bebidas vegetales, frutas y / o zumos vegetales.

Un aditivo alimentario o un medicamento, puede estar por ejemplo, en forma de comprimidos; cápsulas; pastillas; bolsitas; geles; o líquido, por ejemplo, soluciones nutricionales.

Las composiciones pueden contener además hidrocoloides protectores (tales como gomas, proteínas, almidones modificados), aglutinantes, agentes formadores de película, agentes / materiales encapsulantes, materiales de la pared / cubierta, compuestos de matriz, revestimientos, emulsionantes, agentes tensioactivos, agentes solubilizantes (aceites, grasas, ceras, lecitinas etc.), adsorbentes, vehículos, cargas, co-compuestos, agentes dispersantes, agentes humectantes, auxiliares tecnológicos (disolventes), agentes que fluye, degustar agentes enmascarantes, agentes de carga, agentes gelificantes, agentes formadores de gel, antioxidantes y antimicrobianos. También pueden contener aditivos convencionales farmacéuticos y adyuvantes, excipientes y diluyentes, incluyendo, pero no de forma limitativa, agua, gelatina de cualquier origen, gomas vegetales, ligninsulfonato, talco, azúcares, almidón, goma árabe, aceites vegetales, polialquilenglicoles, agentes aromatizantes, conservantes, estabilizantes, agentes emulsionantes, tampones, lubricantes, colorantes, agentes humectantes, cargas, y similares.

Además, las composiciones pueden contener un material de soporte orgánico o inorgánico adecuado para la administración oral o enteral, así como vitaminas, minerales oligoelementos y otros micronutrientes en conformidad con las recomendaciones de los organismos gubernamentales como el Departamento de Agricultura.

Se puede añadir un agente estabilizador para estabilizar la composición y sus constituyentes.

Se puede añadir un agente aromatizante y / o un agente colorante para ajustar sabores y para dar un color a la composición que es fácil de identificar y / o que se percibe como agradable.

Las composiciones de la presente invención pueden ser utilizadas para ayudar a la recuperación del músculo esquelético. Esto puede ser necesario, en particular en el campo de la nutrición clínica.

Las composiciones de la presente invención también pueden ser utilizadas para mejorar intestino delgado y la recuperación de la masa muscular. Es importante destacar que la recuperación del intestino delgado y de masa muscular, por ejemplo, la masa muscular esquelética se puede mejorar de forma simultánea mediante el uso de las composiciones descritas en la presente invención.

En consecuencia, este efecto combinado puede conseguirse mediante la administración de una sola composición, a saber una composición que comprende un péptido similar al glucagón 2 (GLP-2), una composición que estimula la secreción de GLP-2 en un cuerpo, o una combinación de ambos.

5 Las composiciones de la presente invención pueden ser administradas durante o después de un período de desnutrición.

Un período de la desnutrición puede - por ejemplo - ser causado por varias condiciones clínicas tales como diversos trastornos agudos o crónicos, por ejemplo, infección, cáncer, SIDA, lesiones por quemadura, traumatismo, y otras.
10 La desnutrición puede, por supuesto, también derivarse de la insuficiente ingesta de alimentos o por el consumo de una dieta que no proporciona todos los nutrientes en cantidades suficientes.

Los expertos en la técnica entenderán que todas las características descritas con respecto a la presente invención pueden combinarse sin apartarse del alcance de la invención como se describe. En particular, las características
15 descritas con respecto a las composiciones de la presente invención se puede aplicar a la utilizada aquí se describe y viceversa.

Otras características y ventajas de la presente invención son evidentes a partir de los siguientes ejemplos, tablas y
20 figuras.

Figura 1. Análisis morfométrico y mediciones de la altura de las vellosidades (A) y profundidad de las criptas (B) en el yeyuno. Los valores son medias $\pm$ SEM (barras verticales) de $n = 5$ animales y se expresan como % de los
25 controles alimentados. Las ratas alimentadas (barras cerradas); ratas hambrientas (barras abiertas). Las barras con letras diferentes son significativamente diferentes ($P < 0.05$).

Figura 2. Análisis morfométrico y mediciones de la altura de las vellosidades (A) y profundidad de las criptas (B) en el íleon. Los valores son medias $\pm$ SEM (barras verticales) de $n = 5$ animales y se expresan como % de los
30 controles alimentados. Las ratas alimentadas (barras cerradas), ratas hambrientas (barras abiertas). Las barras con letras diferentes son significativamente diferentes ($P < 0.05$).

Figura 3. Actividades del tipo de la quimotripsina y las del tipo de la tripsina del proteosoma en el yeyuno (A) y el íleon (B) de solución salina o GLP-2- inyectado ratas alimentadas y que mueren de inanición. Los datos representan
35 las pendientes de mejor ajuste de unidades arbitrarias de fluorescencia liberados de los sustratos fluorescentes (ver sección de ejemplos) frente al tiempo. Los valores se expresan en % de las ratas alimentadas inyectadas con solución salina y son medias $\pm$ SEM (barras verticales) de 5 animales por grupo. Ratas alimentadas inyectadas con solución salina (barras abiertas), ratas alimentadas inyectadas con GLP-2 (barras rayadas), ratas hambrientas inyectadas con solución salina (barras cerradas) y ratas hambrientas inyectadas con GLP-2 (barras de puntos). Las barras con letras diferentes son significativamente diferentes ($P < 0.05$).

Figura 4. Actividades catepsina (B, B + S, B + L + S y D) en el yeyuno (A) y el íleon (B) de ratas alimentadas y hambrientas inyectadas con solución salina o GLP-2. Los datos representan las pendientes de mejor ajuste de
40 unidades arbitrarias de fluorescencia liberada de los sustratos fluorescentes (ver sección Material y métodos) frente al tiempo. Los valores se expresan en % de las ratas alimentadas inyectadas con solución salina y son medias $\pm$ SEM (barras verticales) para 5 animales por grupo. Ratas alimentadas inyectadas con solución salina (barras abiertas), ratas alimentadas inyectadas con GLP-2 (barras rayadas), ratas hambrientas inyectadas con solución salina (barras cerradas) y ratas hambrientas inyectadas con GLP-2 (barras de puntos). Las barras con letras
45 diferentes son significativamente diferentes ($P < 0.05$).

Figura 5. Masa del intestino delgado en ratas inyectadas GLP-2 solución salina- o después de 48h de hambre y 6 o 24 horas de realimentación. Los datos son medias $\pm$ SEM para 5 animales por grupo. Las ratas alimentadas (barras
50 abiertas), ratas hambrientas (barras cerradas), ratas hambrientas realimentadas 6h (barras rayadas) y ratas hambrientas realimentadas 24h (barras grises). Las barras con letras diferentes son significativamente diferentes ($P < 0.05$).

Figura 6. Masas musculares de la tibia anterior, gemelos y EDL en ratas inyectadas con solución salina o GLP-2 o seguido de 48h de supresión de nutrientes y 6 o 24 horas de realimentación. Los datos son medias $\pm$ SEM para 5
55 animales por grupo. Las ratas alimentadas (barras abiertas), ratas hambrientas (barras cerradas), ratas hambrientas realimentadas 6 h (barras rayadas) y ratas hambrientas realimentadas 24h (barras grises). Las barras con letras diferentes son significativamente diferentes ($P < 0.05$).

Tabla 1: Peso corporal, pequeña masa muscular intestinal y esquelético de ratas en ayuna. Los datos son medias $\pm$ SEM, $n=8$ ratas por grupo. Los valores dentro de una fila con diferentes superíndices son significativamente
60 diferentes ($P < 0.05$).

Tabla 2: Las actividades enzimáticas en la rata intestino delgado después de la inanición. Los datos se expresan en % de los controles alimentados y son medias $\pm$ SEM, n=8 ratas por grupo. Los valores dentro de una fila con diferentes superíndices son significativamente diferentes ($P < 0.05$).

5 Tabla 3: Papel de GLP-2 en la pérdida de peso corporal inducida por el hambre y la atrofia del intestino. Los datos son medias $\pm$ SEM, n = 13 a 15 ratas por grupo. Las diferencias estadísticas fueron evaluadas por un ANOVA bidireccional, seguido de la prueba "a posteriori" de PLSD de Fisher. N, el efecto de la inanición; G, el GLP-2 efecto. Los valores dentro de una fila con diferentes superíndices son significativamente diferentes ($P < 0.05$).

10 Tabla 4: Papel de GLP-2 en la atrofia del músculo esquelético inducida por el hambre. Los datos son medias $\pm$ SEM, n = 5 ratas por grupo. Las diferencias estadísticas fueron evaluadas por un ANOVA bidireccional, seguidas de la prueba "a posteriori" de PLSD de Fisher. N, el efecto de la inanición; G, el GLP-2 efecto. Los valores dentro de una fila con diferentes superíndices son significativamente diferentes ($P < 0.05$).

15 Ejemplos:

Materiales

20 La rata GLP-2 recombinante se adquirió de Washington Biotechnology Inc. (Columbia, MD, EE.UU.). [Ala] en la posición 2 fue sustituido por [Gly] para que el resistente a la degradación de la DPP IV péptido. La secuencia del péptido GLP-2 utilizado en este estudio es la siguiente: HGDGSFSDEMNTILDNLATRDIFINWLIQTKITD.

Animales, hábitculo y diseño experimental

25 Las ratas machos jóvenes Wistar (50 a 60 g) se obtuvieron de Charles River (L'Arbresle, Francia) y se mantuvieron en una habitación con temperatura controlada ($22 \pm 1^\circ \text{C}$) con un ciclo de 12 h luz / 12 h oscuridad. Se les dio acceso libre a una dieta estándar para roedores (A03; UAR, Epernay sur Orge, Francia) y al agua durante un periodo de aclimatación de 5 días. Se realizaron tres experimentos. (1) En el primer experimento, las ratas fueron alimentadas ad libitum o en ayunas durante 1 ó 2 días. Al final del periodo de ayuno, las ratas se anestesiaron con inyección intraperitoneal de uretano (1,7 g / kg de peso corporal, Sigma Aldrich, Lyon, Francia) y se sacrificaron. (2)

30 En el segundo experimento, los animales fueron divididos aleatoriamente en control y GLP-2 grupos tratados (n = 26-30 por grupo). Las inyecciones de solución salina (400 μl) o GLP-2 (20 μg / 400 μl de solución salina) cada 12 h comenzaron en el día 0 y continuaron hasta el final del experimento. En el día 4, la mitad de cada grupo fue privado de alimentos durante 2 días. Al día 6, los animales se sacrificaron como se describe. (3) En el último experimento,

35 las ratas se asignaron como se describe en el experimento 2. El Control y los grupos tratados con GLP-2 (n = 20 por grupo) se dividieron en 2 grupos de ratas alimentadas (n = 5) y hambrientas (n = 15). Las inyecciones salines y de GLP-2 continuaron hasta el sacrificio de las ratas. Al día 6, 5 ratas de las alimentadas y los grupos sometidos a 48h de ayuno tratados o no fueron sacrificados con el GLP-2 como se describe. Los animales restantes en ayunas de los grupos control y tratados con GLP-2 se realimentaron ad libitum desde el día 6 de 6 o 24 horas. Después de

40 realimentación, las ratas se sacrificaron como se describe.

Recolección de tejidos

45 Todo el intestino delgado se extirpó rápidamente, se enjuagó tres veces con PBS enfriado con hielo, se envasaron y se pesaron. Diez cm caudal al esfínter pilórico y diez cm craneal a la unión íleo-cecal se tomaron y se descartan. Yeyuno y el íleon se extirparon, se pesaron, y se dividieron en pequeños trozos de 5 cm. La primera pieza se procesó inmediatamente para determinar la actividad de la catepsina. Las piezas restantes se congelaron en nitrógeno líquido, y se almacenaron a -80°C hasta su posterior análisis. En el experimento 3, los músculos esqueléticos (EDL, gemelos y tibia anterior) también fueron cuidadosamente disecados y pesados.

Actividad de las catepsinas

Los cinco cm piezas de yeyuno y / o íleon se homogeneizaron inmediatamente usando un homogeneizador Polytron en un tampón de fosfato (pH 7,4) a 10 mmol / L que contiene 50 mmol / L de KCl, 1 mmol / L EDTA y 0,25 mol / L de sacarosa como se describió anteriormente.³⁰ Los homogeneizados se centrifugaron a 1.000 g (10 minutos, 4°C). El sobrenadante se centrifugó a 2.500 g (10 minutos, 4°C) y luego de nuevo a 40.000 g (20 minutos, 4°C). El sedimento se resuspendió en un tampón acetato de sodio (pH 5,5) a 20 mmol / L de que contenía 0,2 mmol / L EDTA y se almacenó a -20°C hasta su posterior análisis. La actividades de la catepsina B y de la catepsina B+L + S se determinaron utilizando los sustratos fluorogénicos Z-arginina-arginina-AMC (ZAA-AMC, 50 μmol / L, Sigma),

60 Z-fenilalanina-arginina-AMC (ZPA-AMC, 30 μmol / L, Sigma), respectivamente.³⁰ El pH neutro redujo la actividad de la catepsina L, la mayor parte de la catepsina B + L + S actividad medida con ZPA-AMC a pH 7.0 reflejó la actividad catepsina B + S. La actividad de la catepsina D se determinó utilizando el sustrato fluorogénico MOCac-Gly-Lys-Pro-Ile-Leu-Phe-Arg-Leu-Lys (Dnp) -D-Arg-NH₂ (MOCA, 20 μmol / L, Peptide Institute Inc, Osaka, Japón). Las actividades de peptidasa se determinaron midiendo la acumulación del producto de escisión fluorogénico

65 (methylcoumaryl-amida, AMC) a 37°C durante 45 minutos utilizando un espectrómetro de luminiscencia FLx800 (Biotek). Se midió la fluorescencia de forma continua a longitudes de onda de 380 nm de excitación y 440 nm de

emisión. El curso temporal de la acumulación de AMC después de la hidrólisis del sustrato se analizó mediante regresión lineal para calcular las actividades de peptidasa, por ejemplo, las pendientes de mejor ajuste del acumulado AMC. Los datos finales fueron corregidos por la cantidad de proteína en la reacción.

5 Actividad del proteosoma

Las proteínas de piezas de yeyuno y / o íleon se homogeneizaron usando un homogeneizador Polytron, en tampón (pH 7,5) enfriado con hielo que contiene 50 mmol/L Tris / HCl, 5 mmol/L de MgCl₂, 250 mmol/L de sacarosa, 10 mmol/L ATP, 1 mmol/L de DTT, 10 µg/ml de aprotinina, 10 µg/ml de leupeptina, 10 µg/ml de antipaina, 10 µg/ml de pepstatina A, y 0,2 mmol/L fluoruro de fenilmetilsulfonilo (PMSF). Los proteosomas se aislaron como se describe.³¹ Los pellets de proteosoma se resuspendieron en tampón que contiene 50 mmol/L Tris / HCl, 5 mmol/L de MgCl₂, y 20% de glicerol. Los proteosomas aislados se almacenaron a -80 ° C hasta su análisis. El contenido de proteína de la preparación de proteosoma se determinó utilizando el ensayo de proteína Biorad siguiendo las instrucciones del fabricante. Las actividades del tipo de la quimotripsina y del tipo de la tripsina se determinaron usando los sustratos fluorogénicos succinil-leu-leu-val-Tyr-AMC (Suc-LLVY-AMC, 300 µmol/L, Sigma) y Boc-Leu-Arg-Arg-AMC (Boc-LRR-AMC, 800 µmol/L, Biomol Internacional LP, Exeter, Devon, Reino Unido), respectivamente, en presencia y en ausencia de inhibidor del proteosoma MG132 (40 µmol/L, Sigma). La acumulación de AMC a 37 °C durante 45 minutos se midió continuamente como se describe para medir las actividades de la cathepsina. Se calculó la diferencia entre las unidades arbitrarias de fluorescencia medidas con o sin 40 µmol/L del inhibidor del proteosoma MG132 (Affiniti) en el medio de reacción. Los datos finales fueron corregidos por la cantidad de proteína en la reacción.

Mediciones histológicas y morfométricas

Las muestras de tejido desde el yeyuno y el íleon se fijaron en formaldehído al 10% tamponado con Na₂CO₃ (10 g/L) y se procesaron para realizar las mediciones de las alturas de las vellosidades y profundidad de las criptas. Designación de tratamiento de diapositivas fue cegada en el momento de la medición.

Estadística

Los datos se expresan como medias ± SEM. Se emplearon ANOVAS unidimensionales y bidimensionales para determinar el efecto del ayuno en el experimento 1 y los efectos de ayuno y y GLP-2 de los experimentos 2 y 3. Se realizó una prueba de Fisher PLSD posterior con el fin de evaluar las diferencias entre los grupos. Los valores de p<0,05 fueron considerados de significación estadística y los valores de p<0,10 se consideraron de tendencia estadística.

Resultados

Actividades de la peptidasa del intestino delgado seguidas del ayuno

Las actividades de la peptidasa del intestino delgado de la Tabla 1 muestran que el ayuno induce una pérdida fuerte y progresiva del peso corporal después de 1 y 2 días de privación de alimentos (-16% y -28%, respectivamente). La masa del intestino delgado y el músculo EDL disminuyó progresivamente hasta 2 días de inanición para alcanzar 27% de atrofia (Tabla 1).

Para caracterizar el papel de la proteólisis en el intestino delgado atrofia, las actividades de la peptidasa de las vías proteolíticas dependientes del lisosomal y el proteosoma se evaluaron en el yeyuno (Tabla 2).

La inanición inducida por un aumento de la quimotripsina (+ 47%, ns), la tripsina (+ 66%), y la caspasa (+ 111%) como actividades de la proteosoma 20S. Además, las actividades de la cathepsina B, B + S, B + L + S se incrementaron en un 34 al 38% en 48h en ratas hambrientas en comparación con los animales alimentados. Actividad de la cathepsina D aumentó en 24 horas de privación de alimentos (+ 91%) y todavía se elevó hasta 161% después de 48 horas de ayuno. La atrofia del intestino delgado puede ser por lo tanto correlacionada con una elevación de la de las actividades cathepsina y del proteosoma en el yeyuno con un efecto máximo después de 48 h de privación de alimentos. Los efectos de GLP-2 en pequeñas proteólisis intestinal se estudiaron tanto en ratas alimentadas y después de 48 horas de ayuno.

Efecto de GLP-2 en la pérdida del peso corporal inducida por hambre, la atrofia del intestino delgado y modificaciones histológicas.

La ingesta diaria de alimentos de los animales no fue modificada por el tratamiento con GLP-2 (datos no mostrados). El ayuno indujo una fuerte pérdida de peso corporal, que fue similar entre los grupos tratados y no tratados (-25% y -22%, respectivamente, p <0,0001, Tabla 3). El intestino delgado se atrofió fuertemente tras la inanición (-29%, p <0,0001) y la atrofia fue similar en el yeyuno y en el íleon (-32 y -22%, respectivamente, p <0,001, Tabla 3).

El ANOVA bidireccional indicó que, además de la atrofia inducida por el hambre, el tratamiento con GLP-2 aumentó la masa total del intestino delgado, yeyunal y ileal en un 22% ($P < 0,0001$), 21% ($P < 0,0001$) y 17,5% ($P < 0,005$), respectivamente. Aunque, el efecto de la inanición fue similar en ratas inyectadas con solución salina y GLP-2, la masa total del intestino delgado y del íleon fue similar en ratas alimentadas inyectadas con solución salina y en ratas hambrientas tratadas con GLP-2. Además, el GLP-2 limitó la atrofia del yeyuno en las ratas hambrientas tratadas con GLP-2 (-12% vs. ratas alimentadas inyectadas con solución salina, $P < 0,005$) en comparación con las ratas hambrientas no tratadas (-32% vs. ratas alimentadas inyectadas con solución salina, $P < 0,0001$) (Tabla 3). El ayuno indujo una disminución de la altura de las vellosidades y la profundidad de las criptas en el yeyuno (-23% y -31%, respectivamente, $p < 0,05$, Fig. 1). Por el contrario, la inanición indujo solamente pocos cambios morfológicos en el íleon (Fig. 2). En el yeyuno, el GLP-2 de tratamiento limitó la reducción de la altura de las vellosidades (-13%) y bloqueó la disminución de la profundidad de las criptas seguido de hambre (Fig. 1). Los efectos de GLP-2 de tratamiento fueron muy diferentes en el íleon, ya que no tuvo efecto sobre la altura de las vellosidades y no se inhibió la reducción de la profundidad de las criptas seguido de hambre (Fig. 2).

Efecto del GLP-2 en el incremento de las actividades de la peptidasa inducida por inanición del proteosoma en el intestino delgado.

En el experimento 2, el hambre indujo un fuerte incremento de las actividades del tipo quimotripsina (+ 98%, $p < 0,0001$) y de tipo tripsina (+ 40%, $p < 0,0005$) del proteosoma en el yeyuno (Fig. 3A) pero no tuvo efecto sobre estas actividades en el íleon (Fig. 3B) en ratas inyectada con solución salina. Las actividades de peptidasa del proteosoma en el yeyuno (Fig. 3A) o en el íleon (Fig. 3B) no se modificaron por la administración diaria de GLP-2. Además, el tratamiento con GLP-2 no bloqueó el aumento de las actividades de tipo quimotripsina y del tipo tripsina visto en el yeyuno seguido de hambre (Fig. 3A).

Se midieron actividades proteolíticas lisosomales tanto en el yeyuno y el íleon. Las actividades de la catepsina B + L + S y D se incrementaron después de la hambruna, en el yeyuno en un 25% ($p < 0,01$) y 90% ($p < 0,05$), respectivamente (Fig. 4A). Además, las actividades de la catepsina B y B + S actividades tendieron a aumentar, respectivamente, en un 50% ($P < 0,10$) y un 31% ($P > 0,1$) en el yeyuno de ratas hambrientas. Por el contrario, la catepsina B y B + L + S no aumentaron en absoluto en el íleon de las ratas hambrientas en comparación con los controles alimentados (Fig. 4B). Además, GLP-2 de tratamiento bloqueó el aumento de las actividades catepsina en el yeyuno de ratas hambrientas (Fig. 4A). Además, la administración de GLP-2 indujo una disminución de las actividades de la catepsina B (-43%, $p < 0,002$) y B + L + S (-50%, $p < 0,0005$) en el íleon en comparación con las ratas no tratadas, incluso el hambre no modificó las actividades lisosomales en este tejido (Fig. 4B). Estos resultados indicaron que los efectos protectores del GLP-2 sobre el yeyuno pueden resultar de una inhibición de la vía lisosomal.

Efecto del GLP-2 sobre la atrofia del músculo esquelético inducida por hambre.

La tibia anterior, el gastrocnemio y los músculos EDL se atrofiaron en ~ 20% ($p < 0,0001$) después de 2 días de hambre. La administración de GLP-2 no impidió que esta pérdida de músculo esquelético. Sin embargo, se cree que GLP-2 que es un regulador fisiológico de la adaptación dinámica del epitelio de la mucosa intestinal en respuesta a los nutrientes lumenales. Por lo tanto, el impacto del tratamiento con GLP-2 ha sido estudiado en ratas realimentadas seguido de un período de hambre de 48h. La Figura 5 muestra que los animales tratados con GLP-2 mostraron una recuperación acelerada de la masa del intestino delgado en comparación con los animales inyectados con solución salina. La atrofia del intestino delgado se redujo en un 15% ($P < 0,001$) después de 6h y totalmente ausente después de 24 horas de realimentación cuando las ratas recibieron el GLP-2, mientras que todavía se impuso tanto en 6h (-32%, $p < 0,0001$) y 24h (-26%, $p < 0,0001$) en ratas inyectadas con solución salina. Curiosamente, la recuperación de la masa muscular esquelética ocurrió en paralelo a la pequeña recuperación intestino y se mejoró con el tratamiento. El tibia anterior (Fig. 6A), el gastrocnemio (Fig. 6B) y los músculos la EDL (Fig. 6C) todavía estaban atrofiados, respectivamente, por 10%, 16,5% y 18% ($P < 0,0001$) después de 24 horas de realimentación en ratas inyectada con solución salina. Esto fue casi totalmente idéntico a la pérdida de masa muscular observada después de 48h de inanición (Fig. 6). Por el contrario, el tratamiento con GLP-2 mejoró la recuperación del músculo esquelético. Los músculos de la tibia anterior y EDL se recuperaron completamente después de 24 horas de realimentación, mientras que el gastrocnemio estaba aun un poco atrofiado en un 9% ($P < 0,05$) en comparación con el de las ratas alimentadas tratadas con GLP-2.

Tabla 1:

	Alimentadas	1-día de ayuno	2-días de ayuno
Peso dun cuerpo (g)	96,3 ± 2,2a	80,6 ± 1,9b	68,5 ± 1,0c
Peso del intestino delgado (g)	5,48 ± 0,21a	4,40 ± 0,16b	4,03 ± 0,13b
EDL (mg)	43,8 ± 1,3a	38,1 ± 0,9b	32,0 ± 0,6c

Tabla 2:

		Jejunum		
		Alimentadas	1-día de hambre	2-días de hambre
5	Proteosoma			
	Similar a la quimi tripsina	100 ± 24,5 ^a	143,9 ± 20,2 ^a	146,6 ± 16,5 ^a
10	Similar a la tripsina	100 ± 159 ^a	142,7 ± 11,2 ^b	165,8 ± 17,5 ^b
	Similar a la caspasa	100 ± 24,0 ^a	146,4 ± 28,3 ^a	210,6 ± 36,2 ^b
15	Lisosomal			
	Catepsina B	100 ± 6,9 ^a	124,6 ± 8,9 ^{ab}	135,5 ± 10,7 ^b
	Catepsina B + S	100 ± 11,0 ^a	119,9 ± 15,7 ^{ab}	134,3 ± 11,8 ^b
	Catepsina B + L + S	100 ± 15,5 ^a	115,7 ± 14,5 ^{ab}	138,2 ± 12,4 ^b
	Catepsina D	100 ± 10,8 ^a	191,5 ± 20,7 ^b	261,2 ± 24,6 ^c

Tabla 3

	Alimentadas		Hambrientas		
	S. Salina	GLP-2	S. Salina	GLP-2	
Peso de un cuerpo (g)	112,6 ± 2,3 ^a	112,5 ± 1,7 ^a	84,4 ± 1,1 ^b	87,2 ± 1,0 ^b	N
Peso del intestino delgado (g)	4,88 ± 0,22 ^a	5,57 ± 0,17 ^b	3,47 ± 0,11 ^c	4,56 ± 0,11 ^a	N,G
Masa de Jejunum (g)	2,97 ± 0,11 ^a	3,45 ± 0,08 ^b	2,02 ± 0,06 ^c	2,62 ± 0,09 ^d	N,G
Masa de Ileum (g)	1,09 ± 0,07 ^{ab}	1,24 ± 0,07 ^b	0,85 ± 0,04 ^c	1,02 ± 0,05 ^a	N,G

Tabla 4

		Alimentadas		Hambrientas		
		S. Salina	GLP-2	S. Salina	GLP-2	
20	Tibias anterior (g)	191,5 ± 5,2 ^a	195,7 ± 5,0 ^a	156,9 ± 2,8 ^b	156,6 ± 2,0 ^b	N
25	Gastrocnemius (g)	0,520 ± 0,015 ^a	0,513 ± 0,013 ^a	0,413 ± 0,010 ^b	0,415 ± 0,006 ^b	N
	EDL (mg)	47,7 ± 1,3 ^a	45,7 ± 0,9 ^a	38,1 ± 0,8 ^b	37,2 ± 0,9 ^b	N

LISTADO DE SECUENCIAS

30	<110> Nestec S.A.
	<120> La recuperación del intestino y el músculo
	<130> NO 10200
	<160> 4
35	<170> version PatentIn 3.1
	<210> 1
	<211> 33
	<212> PRT
	<213> Homo sapiens
40	<400> 1
	His Ala Asp Gly Ser Phe Ser Asp Glu Met Asn Thr Ile Leu Asp Asn Leu Ala Ala Arg Asp
	1 5 10 15 20
45	Phe Ile Asn Trp Leu Ile Gln Thr Lys Ile Thr Asp
	25 30
	<210> 2
	<211> 33
50	<212> PRT
	<213> Artificial
	<220>
	<223> Secuencia de GLP-2 de rata con un cambio Ala -->Gly en la posición 2
55	His Gly Asp Gly Ser Phe Ser Asp Glu Met Asn Thr Ile Leu Asp Asn Leu Ala Ala Arg Asp
	1 5 10 15 20

ES 2 539 917 T3

Phe Ile Asn Trp Leu Ile Gln Thr Lys Ile Thr Asp
 25 30

5 <210> 2
 <211> 33
 <212> PRT
 <213> Rattus rattus

10 His Ala Asp Gly Ser Phe Ser Asp Glu Met Asn Thr Ile Leu Asp Asn Leu Ala Thr Arg Asp
 1 5 10 15 20

Phe Ile Asn Trp Leu Ile Gln Thr Lys Ile Thr Asp
 25 30

15 <210> 4
 <211> 33
 <212> PRT
 <213> Artificial

20 <220>
 <223> Secuencia de GLP-2 de rata con un cambio Ala -->Gly en la posición 2

25 His Gly Asp Gly Ser Phe Ser Asp Glu Met Asn Thr Ile Leu Asp Asn Leu Ala Thr Arg
 1 5 10 15 20
 Asp Phe Ile Asn Trp Leu Ile Gln Thr Lys Ile Thr Asp
 25 30

REIVINDICACIONES

1. Composición que comprende un péptido similar al glucagón 2 (GLP-2) para uso en el tratamiento, limitación y/o prevención de la atrofia del músculo esquelético.
2. Composición que comprende GLP-2 para su uso de acuerdo con de la reivindicación 1, mediante el apoyo a la recuperación del intestino.
3. Composición que comprende GLP-2 para su uso de acuerdo con una de la reivindicaciones precedentes, donde la composición además comprende factores tróficos intestinales, tales como hormonas de crecimiento (GH), y/o péptidos vasoactivos intestinales.
4. Composición que comprende GLP-2 para su uso de acuerdo con una de las reivindicaciones 1- 3, donde GLP-2 tiene una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste de en HADGSFSDEMNTILDNLAARDFINWLIQTKITD (SEQ-ID No. 1), HGDGSFSDEMNTILDNLAARDFINWLIQTKITD (SEQ-ID No. 2), HADGSFSDEMNTILDNLATRDFINWLIQTKITD (SEQ ID No- . 3), HGDGSFSDEMNTILDNLATRDFINWLIQTKITD (SEQ-ID No. 4), o combinaciones de los mismos.
5. Composición que comprende GLP-2 para su uso de acuerdo con una de las reivindicaciones precedentes para el mejoramiento de la recuperación del músculo esquelético.
6. Composición que comprende GLP-2 para su uso de acuerdo con una de las reivindicaciones precedentes para el mejoramiento de la masa del músculo esquelético durante períodos de recuperación seguidos de condiciones catabólicas.
7. Composición que comprende GLP-2 para su uso de acuerdo con una de las reivindicaciones precedentes para ser administrada durante o después de un período de desnutrición.
8. Composición que comprende GLP-2 para su uso de acuerdo con la reivindicación 7 donde el período de malnutrición es causado por una infección, cáncer, SIDA, daños por quemaduras, traumas, o por una ingesta insuficiente de alimentos, o a partir del consumo de una dieta que no suministra los todos los nutrientes en cantidades suficientes.
9. Composición que comprende GLP-2 para su uso de acuerdo con una de las reivindicaciones precedentes, donde la composición se selecciona del grupo que consiste en un producto alimenticio, un nutraceutico, una bebida, un aditivo alimentario y un medicamento.
10. Composición que comprende GLP-2 para su uso de acuerdo con una de las reivindicaciones precedentes, donde la composición es una fórmula nutricional.
11. Composición que comprende GLP-2 para su uso de acuerdo con una de las reivindicaciones precedentes, en el que la composición está destinada para la administración oral, enteral y / o parenteral.
12. Composición que comprende GLP-2 para su uso de acuerdo con una de las reivindicaciones precedentes, en donde la composición comprende una fuente de hidratos de carbono en una cantidad de 7-19 g / 100 kcal de la composición.
13. Composición que comprende GLP-2 para su uso de acuerdo con una de las reivindicaciones precedentes, en donde la composición comprende una fuente de lípidos en una cantidad de 1,5-5,0 g / 100 kcal de la composición.
14. Composición que comprende GLP-2 para su uso de acuerdo con una de las reivindicaciones precedentes, en donde la composición comprende una fuente de proteína en una cantidad de 2,0 -8,5 g / 100 kcal de la composición.

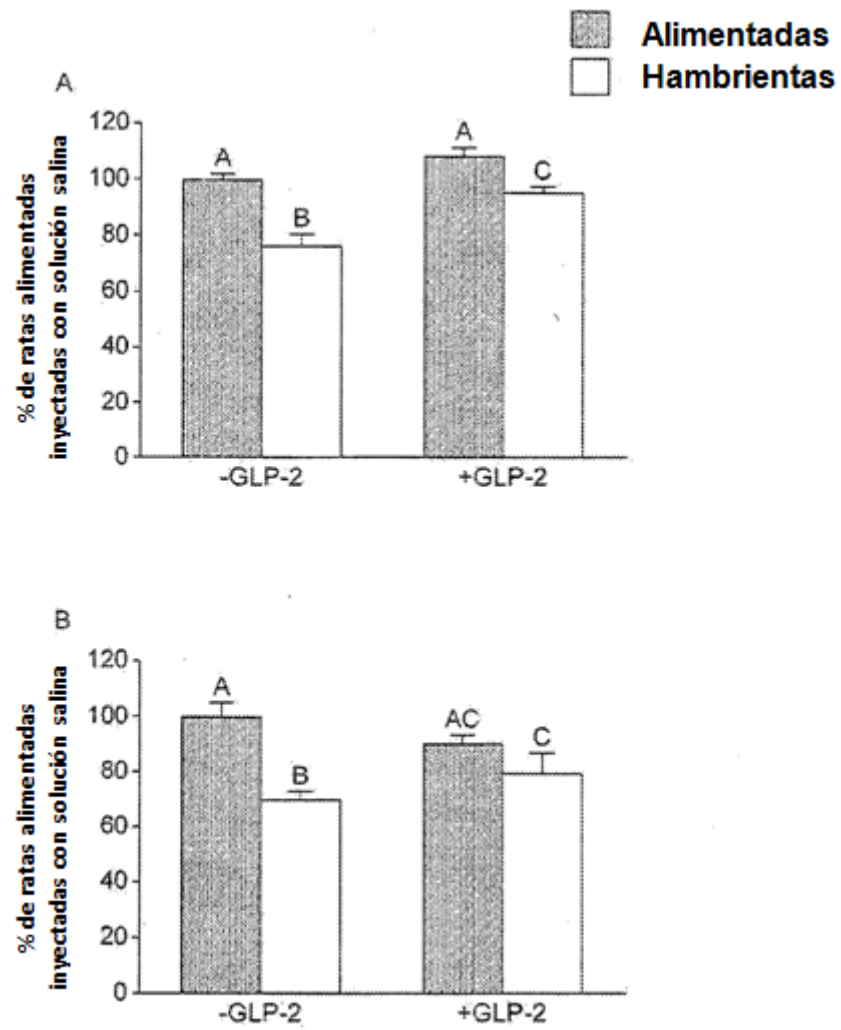


FIG. 1

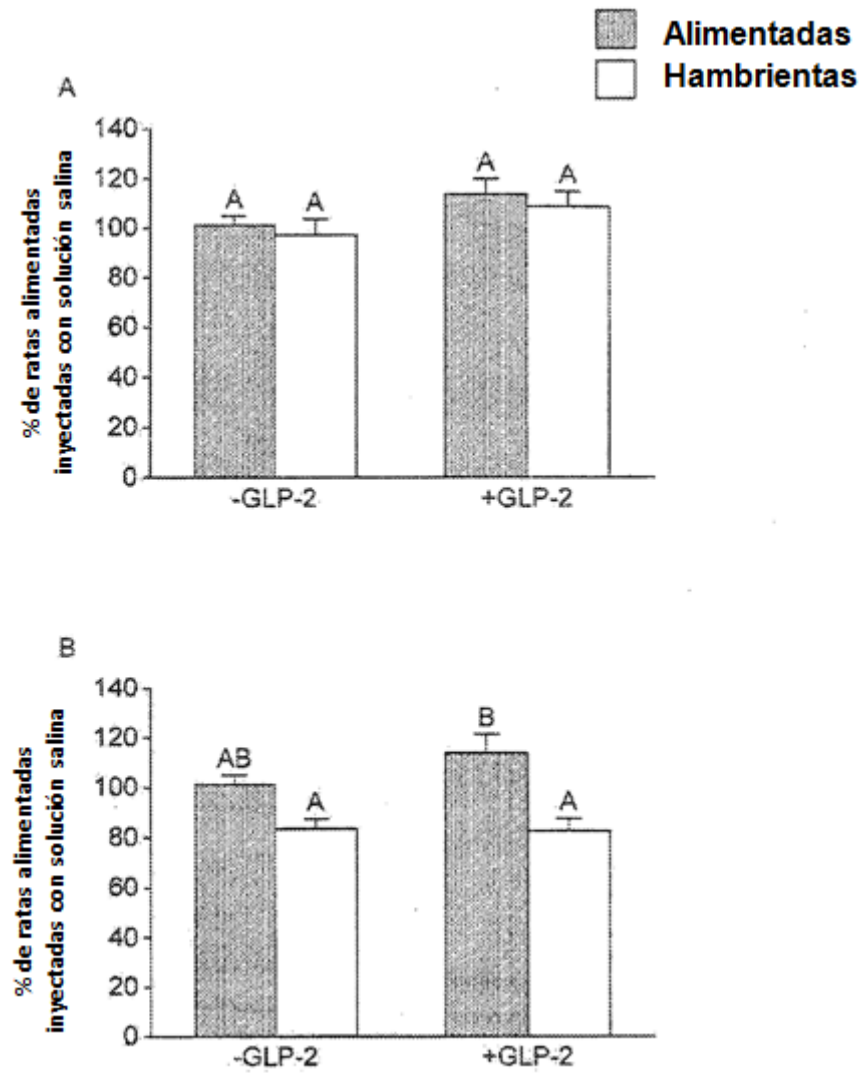


FIG. 2

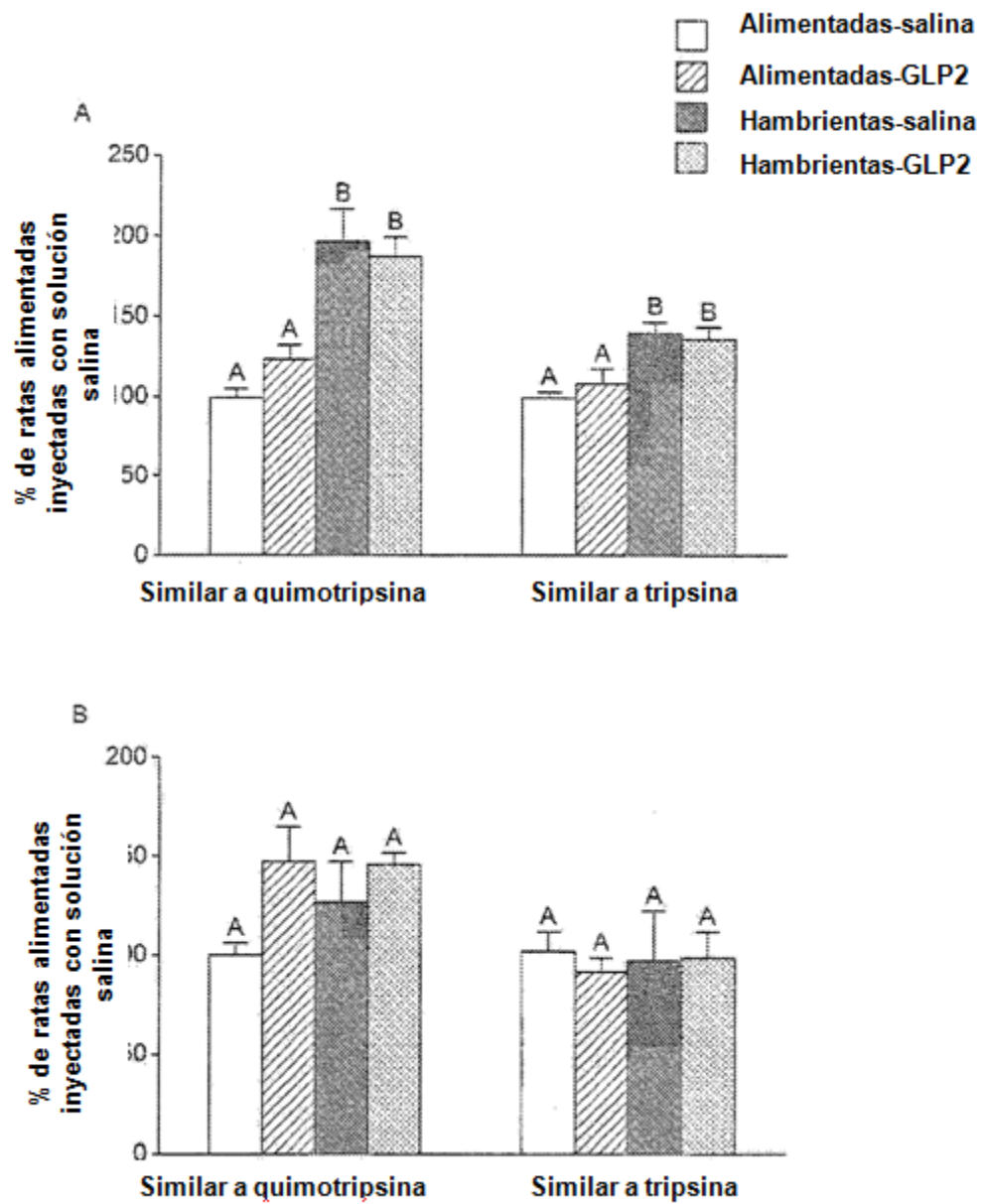


FIG. 3

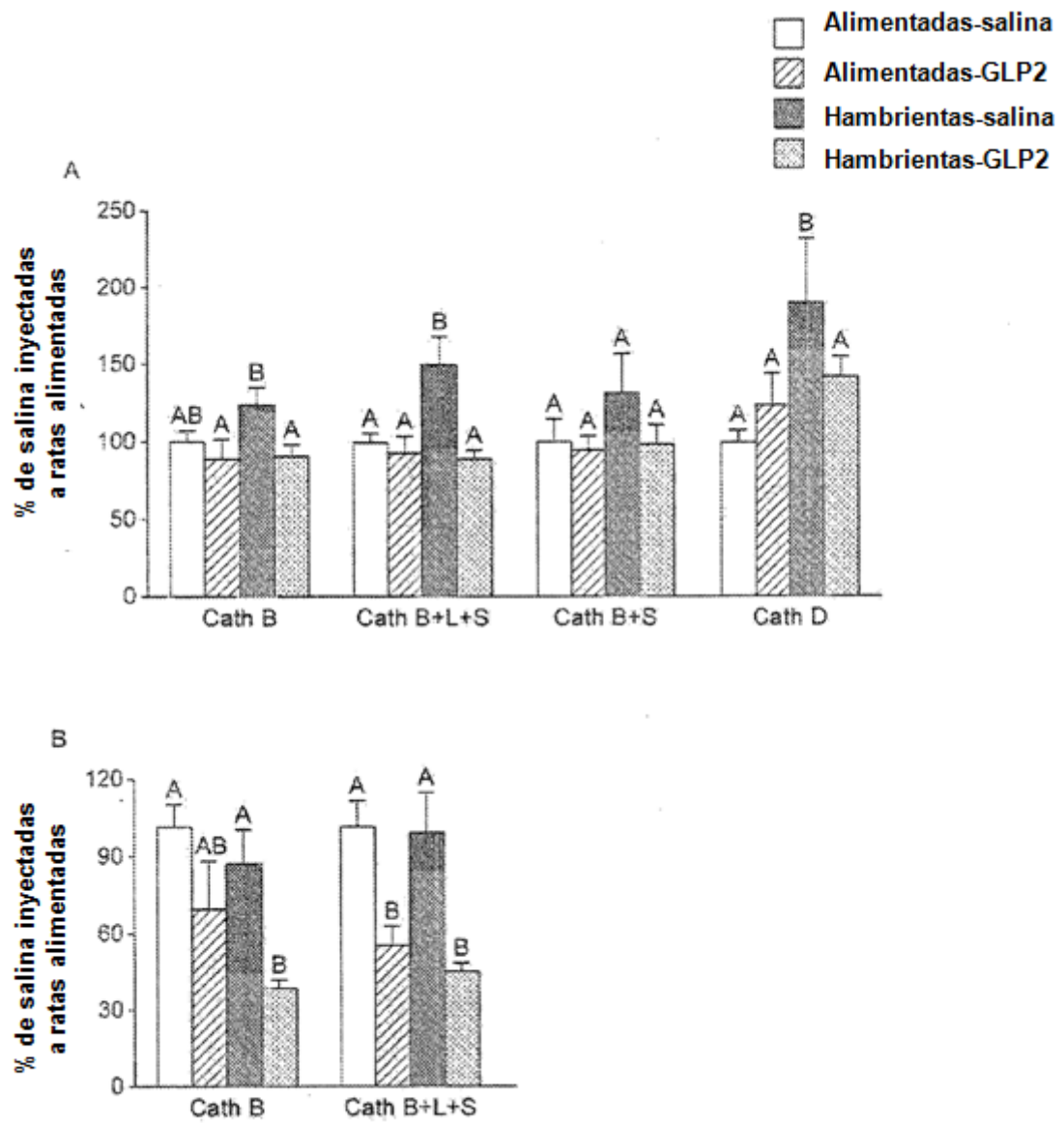


FIG. 4

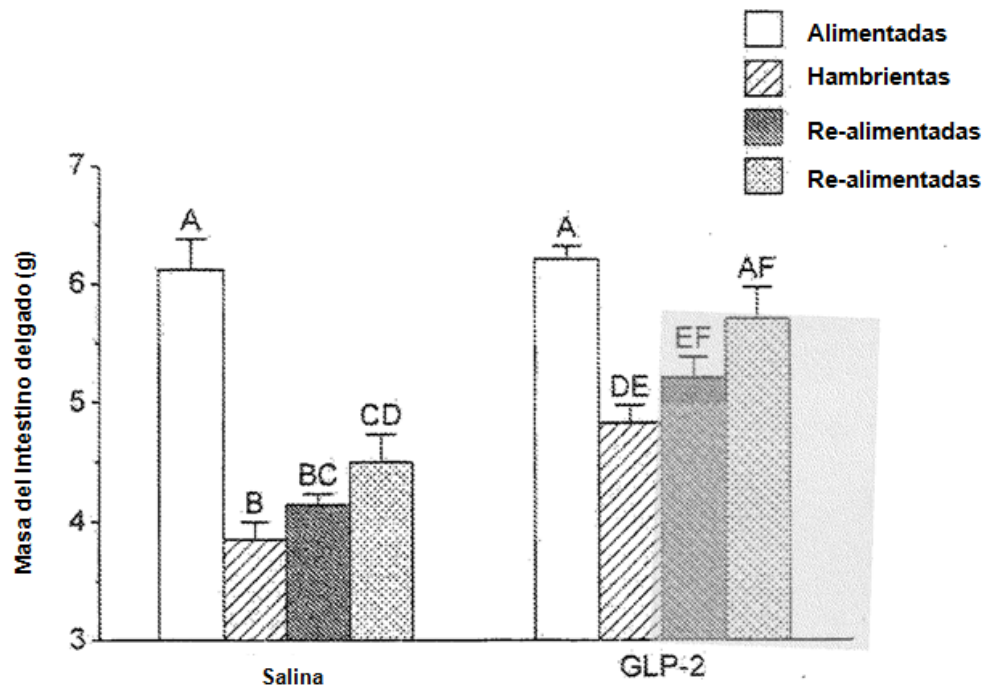


FIG. 5

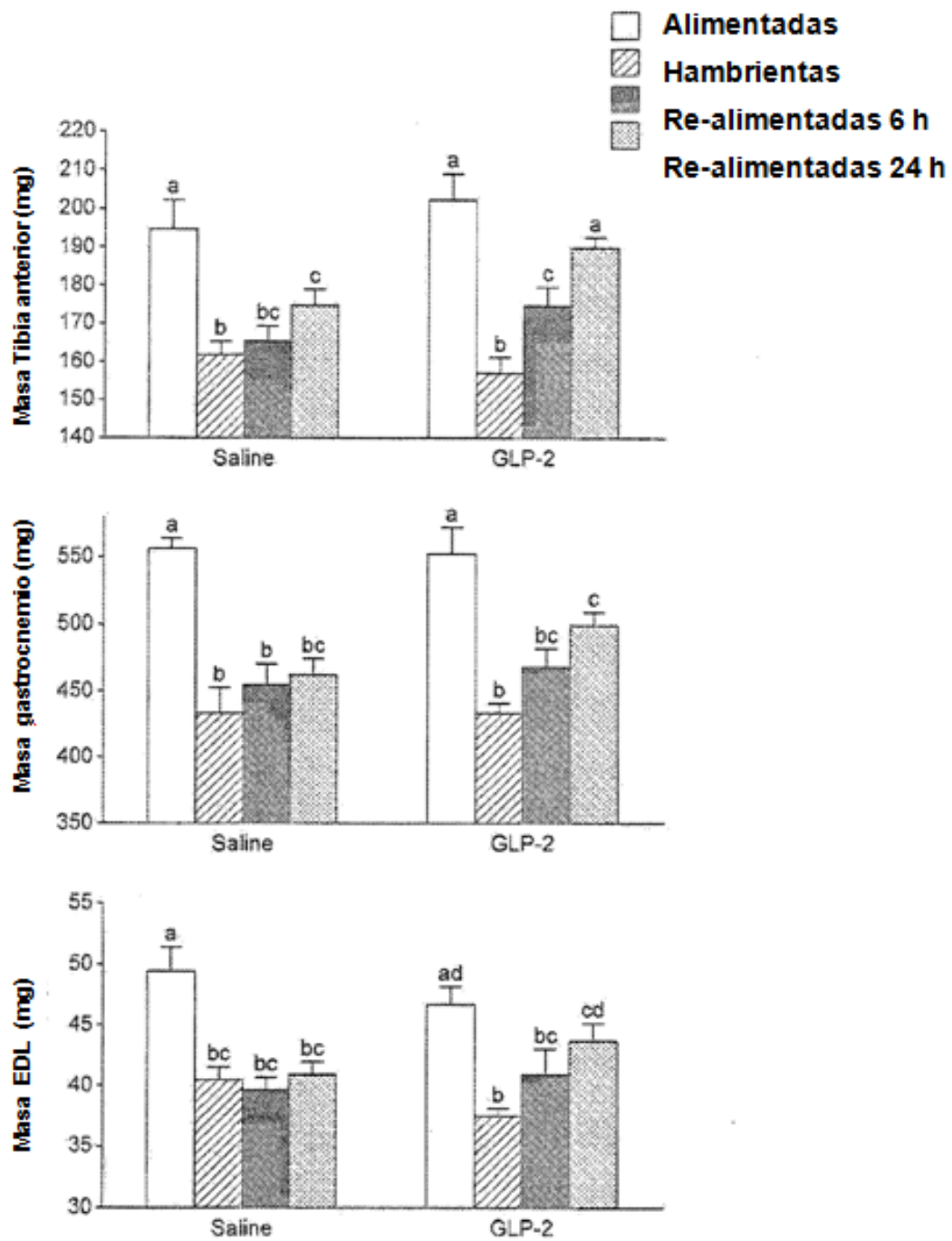


FIG. 6