

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 754 428**

51 Int. Cl.:

A23L 33/10	(2006.01)
A23L 33/00	(2006.01)
A61K 35/12	(2015.01)
A61P 25/18	(2006.01)
A61P 25/32	(2006.01)
A61P 25/34	(2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **18.12.2014 PCT/EP2014/078377**

87 Fecha y número de publicación internacional: **25.06.2015 WO15091739**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **18.12.2014 E 14824825 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **21.08.2019 EP 3082466**

54 Título: **Uso de tilacoides para reducir el deseo de alimento apetitoso**

30 Prioridad:

18.12.2013 SE 1351517

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

17.04.2020

73 Titular/es:

**THYLABISCO AB (100.0%)
Per-Åke Albertsson, Uardavägen 8F
224 71 Lund, SE**

72 Inventor/es:

**ALBERTSSON, PER-ÅKE y
ERLANSON ALBERTSSON, CHARLOTTE**

74 Agente/Representante:

DEL VALLE VALIENTE, Sonia

ES 2 754 428 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

Uso de tilacoides para reducir el deseo de alimento apetitoso

5 **Campo de la invención**

La presente invención se refiere al campo de composiciones que afectan al deseo de diversos tipos de alimento, especialmente alimento apetitoso, y el valor de recompensa asociado con la ingesta de tal alimento.

10 **Antecedentes**

Hoy en día, más de mil millones de adultos tienen sobrepeso, es decir tienen un índice de masa corporal (IMC) de entre 25 y 30 kg/m², y más de 300 millones son obesos, con IMC > 30 kg/m², en todo el mundo. Además, el sobrepeso y la obesidad están fuertemente asociados con hiperlipidemia, aterosclerosis y enfermedad cardiovascular, así como diabetes mellitus tipo 2.

Actualmente, existe una mayor disponibilidad de alimento apetitoso (por ejemplo, alimento dulce o alimento con alto índice glucémico, a menudo rico en grasa) en la sociedad occidental. Esto puede contribuir al aumento global del peso corporal observado a lo largo de las últimas décadas. La epidemia de obesidad en todo el mundo dio lugar a la comprensión de los mecanismos que subyacen al comer en exceso y el desarrollo de tratamientos eficientes para la obesidad y los trastornos de la conducta alimentaria. Comer más de las necesidades metabólicas es un acontecimiento clave en el aumento de peso. La ingesta del alimento apetitoso, es decir alimento dulce y/o graso, se refuerza mediante el aumento del valor de recompensa y el aumento del placer de comer. Los episodios de alimentación de alto riesgo son los que contienen alimento apetitoso, tal como alimento rico en grasa y azúcar. Por tanto, para ayudar a los individuos que padecen sobrepeso y obesidad, es crucial encontrar maneras para fortalecer las señales de saciedad y reducir las señales de hambre.

Además, una proporción creciente de consumo de alimentos humano parece estar impulsada por el placer, no sólo por la necesidad real de calorías (Lowe *et al.*, *Physiology & Behavior* Vol. 91(4), 2007, pág. 432-439). Se ha reconocido que el hambre y la alimentación no sólo están sujetos a autorregulación en relación con los déficits de energía o nutriente (procesos homeostáticos), sino también al placer anticipado de comer (hambre hedónica). Diversos productos alimenticios tienen diferente calificación hedónica. El alimento apetitoso, en particular el azúcar, tiene una alta calificación hedónica, es decir proporciona una fuerte anticipación de recompensa particular. Además, el hambre hedónica (el impulso de apetencia de comer para obtener placer en ausencia de un déficit de energía) está asociado con comer en exceso y con la pérdida del control sobre el comer (Witt *et al.*, *International Journal of Eating Disorders*, Vol. 47(3), pág. 273-280, 2014). El hambre hedónica favorece el alimento apetitoso con alto contenido energético, rico en azúcar y grasa, por ejemplo tentempiés, pasteles, postres, repostería y dulces, alimentos normalmente ingeridos entre comidas y preferidos por las mujeres (Drewnowski, A. (1997). *Taste preferences and food intake*. Annual review of nutrition, 17, 237-253)

Por tanto, a parte del aumento de las señales de saciedad y la reducción de las señales de hambre homeostática otros factores también pueden ser relevantes en el tratamiento o la prevención de la obesidad. Los sujetos con sobrepeso a menudo tienen un mayor deseo de alimento apetitoso, en particular azúcar (Ettlinger L, Duizer L, Caldwell T: *Body fat, sweetness sensitivity, and preference: determining the relationship*. Can J Diet Pract Res 2012, 73(1):45-48) y grasa (Blundell JE, MacDiarmid JI: *Fat as a risk factor for overconsumption: satiation, satiety, and patterns of eating*. J Am Diet Assoc 1997, 97(Supl. 7):S63-69).

Por tanto, el tratamiento y la prevención de obesidad efectivos deben incluir preferiblemente estrategias para suprimir el deseo de alimento apetitoso, especialmente alimento dulce. Además, sería de interés reducir el hambre hedónica y la apetencia de tal alimento, mediante lo cual se reduzca el comer en exceso y ayude a conseguir un comportamiento alimenticio más sano. Además, también serían de interés estrategias para controlar los comportamientos de recompensa alimenticia, tal como se reconoce por Dickson *et al.* (J Neurosci 2012, 32(14):4812-4820). Sin embargo, hoy en día no están disponibles tales estrategias.

55 **Sumario**

La presente invención busca mitigar, aliviar, evitar o eliminar al menos una, tal como una o más, de las deficiencias mencionadas anteriormente en la técnica.

Por consiguiente, se proporciona el uso de tilacoides aislados para reducir el deseo de alimento apetitoso, con el fin de disminuir el hambre hedónica en el ser humano, según un aspecto de la invención.

Tal uso de tilacoides aislados incluirá la ingesta de tilacoides aislados para proporcionar el efecto. Normalmente, la ingesta proporcionará la liberación aumentada de GLP-1 (péptido similar al glucagón de tipo 1), mediante lo cual se disminuye el efecto de recompensa del alimento apetitoso, que afecta al centro de recompensa del cerebro.

Se definen características ventajosas adicionales de la invención en las reivindicaciones dependientes. Además, se elaboran características ventajosas de la invención en las realizaciones dadas a conocer en el presente documento.

Breve descripción de los dibujos

5 Estos y otros aspectos, características y ventajas de los que la invención es capaz serán evidentes y se aclararán a partir de la siguiente descripción de las realizaciones de la presente invención, haciendo referencia a los dibujos adjuntos, en los que

10 la figura 1 son gráficas que muestran la sensación de hambre (A), el deseo de alimento dulce - caramelo (B), alimento salado y graso que también comprende almidón - patatas en bolsa (C) y alimento dulce y graso - chocolate (D), respectivamente, con y sin la administración previa de tilacoides en ser humano; y

15 la figura 2 es una gráfica que muestra la liberación de péptido similar al glucagón de tipo 1 (GLP-1) durante un desayuno que contiene elementos dulces con y sin tilacoides.

las figuras 3A-C son gráficas que muestran la experiencia de sensación de hambre durante la intervención dietética con y sin tilacoides.

20 las figuras 4A-C son gráficas que muestran el deseo de chocolate durante la intervención dietética con y sin tilacoides.

las figuras 5A-C son gráficas que muestran el deseo de tentempiés con hidratos de carbono durante la intervención dietética con y sin tilacoides.

25 las figuras 6A-D son gráficas que muestran el hambre y la saciedad tras la ingesta de tilacoides o placebo.

30 las figuras 7A-H son gráficas que muestran las calificaciones EVA de apetencia de tentempiés salados, dulces, dulces y grasos y todos los tentempiés combinados, comparando las condiciones de tratamiento (tilacoides) y placebo (control).

la figura 8 muestra la ingesta calórica del bufé de la merienda.

35 la figura 9 muestra el gusto por productos alimenticios específicos tras el consumo, con y sin tratamiento con tilacoides.

las figuras 10A-B muestran la correlación entre el efecto del tratamiento de tilacoides sobre la apetencia de alimento apetitoso y las puntuaciones de comportamiento de comer emocional.

40 Descripción detallada

Varias realizaciones de la presente invención se describirán en más detalle a continuación con referencia a los dibujos adjuntos para que los expertos en la técnica puedan llevar a cabo la invención.

45 Las realizaciones no limitan la invención, pero la invención sólo está limitada por las reivindicaciones de la patente adjuntas. Además, la terminología usada en la descripción detallada de las realizaciones particulares ilustradas en los dibujos adjuntos no pretende ser limitante de la invención.

50 La presente invención se basa en el uso de tilacoides en el ser humano, en la que el uso incluye la ingesta de tilacoides aislados.

Los tilacoides son compartimentos limitados por membrana presentes dentro de cloroplastos de plantas y dentro de cianobacterias. El tilacoide es el sitio de reacciones de fotosíntesis dependientes de la luz. En reacciones de fotosíntesis independientes de la luz (es decir, el ciclo de Calvin-Benson) que requieren el NADPH que se forma en reacciones de fotosíntesis dependientes de la luz, el dióxido de carbono se convierte en azúcares de tres carbonos, que luego se combinan para formar sacarosa y almidón. Este proceso se denomina a menudo fijación de carbono. Los tilacoides consisten en una membrana tilacoidal que rodea un lumen tilacoidal. En el cloroplasto, los tilacoides se agrupan habitualmente como pilas de discos denominados grana.

60 Los tilacoides pueden extraerse del cloroplasto de hojas verdes y de cianobacterias. Su contenido incluye proteínas, lípidos y pigmentos (por ejemplo, clorofila y carotenoides). Los principios generales de aislamiento y enriquecimiento de tilacoides se han descrito en otra parte (consúltese el documento PCT/SE2006/000676, el documento WO/SE2009/000327 y Emek, SC, Szilagyí A, Akerlund H E, *et al.* (2010) *A large scale method for preparation of plant thylakoids for use in body weight regulation* *Prepar biochem & biotech* 40 (1), 13-27). De manera breve, se rompen de manera mecánica las células de hojas verdes. Luego se separan los tilacoides de las paredes celulares y

otros fragmentos grandes de células mediante filtración. Luego se recogen los tilacoides del filtrado mediante precipitación a pH 4,7 y se lavan en agua mediante centrifugaciones repetidas.

Se ha encontrado previamente que los tilacoides aislados aumentan la saciedad, disminuyen las señales de hambre homeostática y fomentan la pérdida de peso en varios estudios, tanto en sujetos humanos como animales (consúltese el documento WO 2006/132586 y el documento WO 2010/008333, entre otros). Los tilacoides, o partes de los mismos, pueden estar incluidos en productos alimenticios de muchas maneras diferentes dado que ellos mismos son alimento. También pueden estar incluidos en diferentes tipos de fórmula farmacéutica tal como se describió previamente en el documento WO 2006/7132586.

La creencia actual en la técnica (consúltese Stenblom *et al.*, *Supplementation by thylakoids to a high carbohydrate meal decreases feelings of hunger, elevates CCK levels and prevents postprandial hypoglycaemia in overweight women* *Appetite* 68 (2013) 118-123) es que los tilacoides aislados retrasan la lipólisis y proporcionan una disminución de hambre homeostática (es decir, el deseo de comer cuando se está en ayunas). Se ha encontrado que la ingesta de tilacoides aislados afecta a las señales de hambre homeostática aumentando los niveles de colecistoquinina (CCK) (saciedad) y disminuyendo los niveles de grelina (hambre).

Aunque las hojas verdes comprenden tilacoides de manera natural, la ingesta de hojas verdes frescas no proporciona el mismo efecto que la ingesta de tilacoides aislados o partes de los mismos. Las células de plantas que comprenden tilacoides están rodeadas por una pared celular muy gruesa y resistente. Aunque se mastica mucho cuando se comen vegetales, no se rompen muchas células. Para disolver las paredes celulares, se requieren enzimas especiales tales como celulasa y pectinas, etc. Sin embargo, estas enzimas no están presentes en el estómago o en el intestino delgado de seres humanos. A menos que se extraigan de las hojas verdes, los tilacoides pueden no ejercer ningún efecto en el intestino delgado antes de llegar al intestino grueso, en el que las paredes celulares pueden descomponerse por bacterias.

El efecto sobre la actividad lipolítica de tilacoides aislados, así como sobre la sensibilidad a la insulina y la captación de diversas moléculas, se ha informado en la técnica (consúltese por ejemplo, el documento WO 2006/7132586, el documento WO 2010/008333 y el documento WO 2012/113918). Además, el efecto de tilacoides intactos como antioxidantes también se ha informado en la técnica (consúltese el documento WO 2003/004042). Sin embargo, todavía quedan por descubrir efectos adicionales de los tilacoides.

Tal como se explicó anteriormente, un aspecto importante de la obesidad es la tendencia de los individuos obesos no sólo de comer en exceso sino también de elegir preferentemente alimento apetitoso, por ejemplo, alimento con un alto índice glucémico (es decir, 60 o más) o menudo con un alto contenido de grasa, así como alimento de sabor dulce que comprende edulcorantes o azúcares, y alimento dulce y graso, antes que alimento sano. La comida rápida, por ejemplo, pizza, hamburguesas, patatas fritas, refrescos, etc., son ejemplos típicos de alimento apetitoso que aumenta el riesgo de comer en exceso. La preferencia por alimento apetitoso está vinculada al valor de recompensa del alimento; por tanto, el comer en exceso puede estar impulsado por el deseo de obtener placer.

La palatabilidad de los alimentos disponibles en la sociedad hoy en día socava las señales de saciedad normales, motivando la ingesta energética independiente de la necesidad energética (consúltese Erlanson-Albertsson C: *How palatable food disrupts appetite regulation. Basic Clin Pharmacol Toxicol* 2005, 97(2):61-73). Además, tanto los alimentos dulces como los grasos movilizan opioides y dopamina dentro del sistema de recompensa, estableciendo rutas para el deseo de tal alimento, e incluso el antojo de tal alimento (consúltese Kelley AE, Bakshi VP, Haber SN, Steininger TL, Will MJ, Zhang M: *Opioid modulation of taste hedonics within the ventral striatum. Physiol Behav* 2002, 76(3):365-377).

Por tanto, la reducción del deseo de alimento apetitoso es extremadamente importante para que un programa de reducción de peso sea exitoso. Además, no sólo sujetos obesos harían uso de una composición que proporciona deseo de alimento apetitoso reducido, sino también sujetos de peso normal. La reducción del hambre hedónica puede facilitar conseguir un comportamiento alimenticio más sano. De manera similar, la disminución del efecto de recompensa del alimento apetitoso también puede facilitar conseguir un comportamiento alimenticio más sano. La atenuación del impulso hedónico en aquellos que experimentan antojos aumentados de alimento apetitoso es una manera de evitar el comer en exceso y el aumento de peso.

La ingesta de alimento que tiene un alto índice glucémico o sabor dulce, así como alimento que tiene un alto contenido de grasa está asociada con un mayor riesgo de obesidad, enfermedades cardiovasculares, incluyendo enfermedades coronarias y diabetes, tal como se demostró en varios estudios (consúltese Johnson RK, Appel LJ, Brands M, Howard BV, Lefevre M, Lustig RH, Sacks F, Steffen LM, Wilie-Rosett J: *Dietary sugars intake and cardiovascular health: a scientific statement from the American Heart Association. Circulation* 2009, 120(11):1011-1020 y Johnson RJ, Segal MS, Sautin Y, Nakagawa T, Feig DI, Kang DH, Gersch MS, Benner S, Sanchez-Lozada LG: *Potential role of sugar (fructose) in the epidemic of hypertension, obesity and the metabolic syndrome, diabetes, kidney disease, and cardiovascular disease. Am J Clin Nutr* 2007, 86(4):899-906. En particular, los azúcares que contienen fructosa pueden predisponer a tal enfermedad.

Un factor importante para la preferencia por alimento apetitoso es el valor de recompensa vinculado al mismo. Comer alimento apetitoso da como resultado la liberación de factores de recompensa que tienen un papel importante en el comer en exceso. Si se redujera el efecto de estos factores de recompensa, se reduciría la preferencia por alimento apetitoso y también el comer en exceso.

Además, no sólo alimento, sino también otros estimulantes, por ejemplo, alcohol y nicotina, están impulsados por los mismos factores de recompensa. Dado que las personas que intentan dejar de fumar a menudo ganan peso, sería de interés específico no sólo reducir el valor de recompensa de alimento apetitoso, sino también de nicotina. De manera similar a la ingesta de alimento apetitoso, fumar está asociado con un mayor riesgo de enfermedades cardiovasculares.

Los presentes inventores han demostrado de manera sorprendente que la ingesta de tilacoides aislados no sólo afecta a la actividad lipolítica y por tanto al apetito (hambre homeostática, figura 1A), sino también, y de manera importante, reduce el deseo de alimento apetitoso (hambre hedónica, figuras 1B-D, entre otras). De manera interesante, el hallazgo no está relacionado con la supresión del apetito, ya que el efecto también está presente en individuos hambrientos (consúltese la figura 1A frente a las figuras 1B-D). Dicho de otro modo, el deseo reducido de alimento apetitoso se observa no sólo inmediatamente después de comer sino también en la fase posprandial tardía durante al menos seis horas cuando hay hambre. Sin embargo, se encontró que los individuos a los que se les había administrado una composición que comprende tilacoides aislados eran mucho menos propensos a desear un alimento apetitoso, tal como caramelos, chocolate y patatas en bolsa. El efecto permanece incluso después de una segunda comida (almuerzo) sin tilacoides (consúltese las figuras 1B-D), aunque el hambre homeostática no difiere (consúltese la figura 1A).

Además, en sujetos con intervención dietética, en los que el efecto sobre el hambre homeostática es menos pronunciado (consúltese las figuras 3A-C), se consigue la reducción de hambre hedónica con la administración de tilacoides aislados (consúltese las figuras 4 y 5). Además, la administración de tilacoides aislados puede dar como resultado incluso la disminución de la preferencia por el dulce (consúltese la figura 9)

Sin estar unido a ninguna teoría, se cree que el efecto de reducir el deseo de alimento apetitoso está relacionado con un efecto previamente desconocido de aumentar la liberación de una hormona denominada péptido similar al glucagón de tipo 1 (GLP-1), que es una hormona producida en el intestino distal por células L específicas (Holst JJ: *The physiology of glucagon-like peptide 1*. *Physiol Rev* 2007, 87(4):1409-1439)). Tal como se muestra a continuación en el presente documento, la ingesta oral de tilacoides aislados aumenta la liberación de GLP-1.

De manera interesante, esta hormona no sólo está implicada en la regulación de azúcar en sangre, sino que también ha demostrado que disminuye el valor de recompensa del alimento (Dickson SL, Shirazi RH, Hansson C, Bergquist F, Nissbrandt H, Skibicka KP: *The glucagon-like peptide 1 (GLP-1) analogue, exendin-4, decreases the rewarding value of food: a new role for mesolimbic GLP-1 receptors*. *J Neurosci* 2012, 32(14):4812-4820). Por tanto, puede ser que el efecto de reducir el deseo de alimento apetitoso esté vinculado a un aumento de la liberación de GLP-1. Sin embargo, otros factores que aún no se han descubierto también pueden ser importantes para los nuevos hallazgos dados a conocer en el presente documento.

Además, el hallazgo es interesante ya que la liberación de GLP-1 no sólo afecta al valor de recompensa de alimento sino también al de otros estimulantes incluyendo el alcohol (Egecioglu E, Steensland P, Fredriksson I, Feltmann K, Engel JA, Jerlhag E: *The glucagon-like peptide 1 analogue Exendin-4 attenuates alcohol mediated behaviors in rodents*. *Psychoneuroendocrinology* 2013, 38(8):1259-1270; y Shirazi RH, Dickson SL, Skibicka KP: *Gut peptide GLP-1 and its analogue, Exendin-4, decrease alcohol intake and reward*. *PLoS One* 2013, 8(4):e61965). Se cree que el mecanismo está relacionado con la supresión de dopamina en el centro de recompensa del cerebro.

Además, también la necesidad de cigarrillos y otros productos de tabaco está relacionada con la nicotina que libera dopamina en los centros de recompensa del cerebro. La acción estimulante de la nicotina se atenúa por la liberación de GLP-1, tal como se ha demostrado por Egecioglu *et al.* (consúltese "*The Glucagon-Like Peptide 1 Analogue Exendin-4 Attenuates the Nicotine-Induced Locomotor Stimulation, Accumbal Dopamine Release, Conditioned Place Preference as well as the Expression of Locomotor Sensitization in Mice*", *PLoS One* 2013 18:8 e 77 284).

Se ha encontrado de manera inesperada que los fumadores que toman tilacoides aislados experimentan efectivamente menos necesidad de fumar (interpretado como una disminución en la necesidad de nicotina), mediante lo cual también fuman un menor número de cigarrillos al día. Esto puede ser un efecto de un aumento de la liberación de GLP-1 por los tilacoides. Como los fumadores que intentan dejar de fumar a menudo ganan peso, el efecto previamente conocido de supresión del apetito proporcionado por la ingesta de tilacoides aislados proporciona una ventaja adicional cuando los tilacoides aislados se toman por individuos que intentan dejar de fumar.

A diferencia de los previos usos de tilacoides, que se basan en los efectos locales ejercidos por los tilacoides en los intestinos, se cree que el presente uso se relaciona con efectos centrales ejercidos por los tilacoides que afectan al

centro de recompensa del cerebro. Además, el efecto también es distinto de los niveles aumentados de CCK/niveles disminuidos de grelina informados previamente.

Por tanto, una realización de la presente invención se refiere al uso de tilacoides aislados para suprimir, rebajar, disminuir, reducir, aminorar y/o mitigar el deseo de alimento apetitoso, con el fin de disminuir el hambre hedónica en el ser humano. Tal uso puede ser no terapéutico. Además, tal uso puede ser terapéutico. El uso incluye la ingesta de tilacoides aislados. Si bien la persona que toma tilacoides aislados será menos propensa a seleccionar alimento apetitoso sobre alternativas más sanas, a la persona no le desagradará de repente el alimento apetitoso. El deseo reducido de alimento apetitoso ayudará en el tratamiento y la prevención de la obesidad, ya que las personas que toman tilacoides aislados serán menos propensas a comer en exceso. Además, el deseo reducido de alimento apetitoso puede ayudar en el mantenimiento del peso después de haber participado con éxito en un programa de pérdida de peso.

Los ejemplos de alimento apetitoso incluyen dulces, pasteles, por ejemplo, donuts, cruasanes, galletas de mantequilla y barquillos, caramelos, patatas en bolsa, patatas fritas, refrescos, por ejemplo, Coca Cola, Fanta, Sprite, Pepsi Cola, y bebidas energéticas (por ejemplo, Red Bull), chocolate, por ejemplo, chocolate con leche y tabletas de chocolate, comida rápida, por ejemplo, pizza y hamburguesas, y helado. Además, el alimento apetitoso normalmente puede tener una o varias de las siguientes características:

- un índice glucémico de al menos 60, tal como al menos 70;

- un alto contenido de azúcar de al menos el 5% en peso para bebidas, y al menos el 20% en peso, tal como al menos el 50% en peso, para otro producto alimenticio;

- comprende un edulcorante, tal como un edulcorante seleccionado del grupo que consiste en: estevia, aspartamo, sucralosa, neotamo, acesulfamo de potasio, ciclamato, alitamo, mogrosidos, dulcina, glucina, neohesperidina dihidrocalcona, sacarina, brazzeína, curculina, glicirricinas, mabinlina, monelina, pentadina y taumatina; especialmente un edulcorante seleccionado del grupo que consiste en estevia, aspartamo, sucralosa, neotamo, acesulfamo de potasio y sacarina;

- un alto contenido de grasa de al menos el 20% en peso y un alto contenido de azúcar de al menos el 20% en peso;

- un alto contenido de grasa de al menos el 20% en peso y un índice glucémico de al menos 50; y.

- un alto contenido de grasa de al menos el 20% en peso y un contenido de sal (NaCl) de al menos el 1,0% en peso.

Normalmente, un alimento apetitoso tiene un alto índice glucémico y/o sabe dulce. Además, un alimento dulce que no tienen un alto IG, por ejemplo, un alimento que comprende fructosa o un edulcorante puede desencadenar un efecto de recompensa y, por tanto, estar implicado en el comer en exceso. Tal como conoce el experto en la técnica, la ingesta de refrescos dietéticos también proporciona un efecto de recompensa, que indirectamente contribuye a comer en exceso. Las bebidas dietéticas si provocan una liberación de dopamina, demostrando que también tienen un efecto de recompensa que puede conducir a comer en exceso. Además, un alimento que también tiene un IG moderado de al menos 50 y alto contenido de grasa, tal como patatas fritas, desencadenará un efecto de recompensa y, por tanto, puede estar implicado en el comer en exceso. Incluso los tentempiés salados con alto contenido de grasa, tal como frutos secos salados, desencadenan un efecto de recompensa.

Según una realización, los azúcares presentes en el alimento apetitoso en cantidades especificadas anteriormente en el presente documento se seleccionan del grupo que consiste en los monosacáridos glucosa (también denominada dextrosa), fructosa y galactosa y los disacáridos sacarosa, maltosa y lactosa, y mezclas de los mismos.

Otra realización se refiere al uso de tilacoides aislados, o partes de los mismos, para disminuir el efecto de recompensa de un alimento, tal como alimento apetitoso. Tal uso puede ser no terapéutico. Además, tal uso puede ser terapéutico. Los ejemplos de alimento apetitoso se han proporcionado anteriormente en el presente documento.

Mientras que la presente invención se ha descrito en relación con el uso de tilacoides aislados para suprimir, rebajar, disminuir, reducir, aminorar y/o mitigar el deseo de alimento apetitoso, según otra realización, se refiere a un método de supresión, rebajado, disminución, reducción, aminoración y/o mitigación del deseo de alimento apetitoso. Un método de este tipo comprende la etapa de administrar tilacoides aislados, o partes de los mismos, a un sujeto, por ejemplo un ser humano, cuyo deseo de alimento apetitoso se va a ver afectado.

Tal como ya se describió, también se ha demostrado que la ingesta de tilacoides, o partes de los mismos, reducen la necesidad o el deseo de fumar en el ser humano; probablemente afectando al centro de recompensa del cerebro. No sólo el alimento apetitoso y la nicotina afectan al centro de recompensa del cerebro, sino también otros estimulantes, tales como el alcohol, es decir etanol.

Tal como se explicó anteriormente en el presente documento, se cree que el efecto de ingesta de tilacoides aislados, o partes de los mismos, sobre el deseo de diversos estímulos, incluyendo alimento apetitoso, nicotina y alcohol, está vinculado a un aumento en la liberación de GLP-1 (péptido similar al glucagón de tipo 1). Por tanto, una realización adicional se refiere al uso de tilacoides aislados, o partes de los mismos, para liberar GLP-1 (péptido similar al glucagón de tipo 1) en el ser humano y a un método de liberación de GLP-1 (péptido similar al glucagón de tipo 1) en el ser humano que incluye la administración de tilacoides aislados, o partes de los mismos. Tal uso puede ser no terapéutico. Además, tal uso puede ser terapéutico. Además, se sabe que el GLP-1 disminuye los efectos de recompensa de diversos estímulos, incluyendo alimento apetitoso, nicotina y alcohol en el centro de recompensa del cerebro. Por tanto, los tilacoides aislados, o partes de los mismos, también pueden usarse para disminuir el efecto de recompensa de estimulantes que afectan al centro de recompensa del cerebro. De manera similar, tilacoides aislados, o partes de los mismos, pueden usarse en un método para disminuir el efecto de recompensa de estimulantes que afectan al centro de recompensa del cerebro.

Los tilacoides pueden aislarse de plantas así como de cianobacterias. Normalmente, los tilacoides se enriquecen de hojas verdes o algas verdes. Los tilacoides pueden provenir de las hojas de cualquier planta fotosintética, tales como trébol, colza, remolacha azucarera, diente de león, *Arabidopsis thaliana*, maíz, tabaco, girasol, *Chenopodium*, *Atriplex*, espinaca, acelga, quinoa, col rizada, remolacha azucarera y hierbas. Preferiblemente, los tilacoides se aíslan y se enriquecen de espinaca. Los tilacoides aislados entre otras partes del tilacoide comprenden membranas tilacoidales, o partes de las mismas. Los métodos para aislar tilacoides se han comentado anteriormente en el presente documento.

Los tilacoides pueden aislarse y concentrarse de tal manera que el contenido de clorofila de los tilacoides aislados sea desde aproximadamente 8 mg hasta 150 mg, tal como de 10-100 mg, de clorofila por g de tilacoides aislados. En algunas realizaciones, los tilacoides aislados tienen una razón de clorofila a/b de desde aproximadamente 2,0 hasta 4,0, preferiblemente de aproximadamente 2,6 a 3,4, y lo más preferiblemente de aproximadamente 2,9 a 3,4. Además, la razón de proteína:clorofila en los tilacoides aislados puede ser desde aproximadamente 3,0 a aproximadamente 10,0, preferiblemente de aproximadamente 2,0 a 5,0, de 3,0 a 5,0, o de 6,0 a 8,0.

Normalmente, los tilacoides se administran por vía oral para proporcionar su efecto. Si bien pueden administrarse directamente, normalmente se administran como una parte íntegra de una composición, tal como una composición nutricional, por ejemplo, un producto alimenticio o un complemento alimenticio, o una composición farmacéutica, por ejemplo, un medicamento.

Si se administra como medicamento, el medicamento, excepto de los tilacoides aislados, también comprende al menos un excipiente farmacéuticamente aceptable, tal como un portador, un diluyente y/o un estabilizador. En este contexto, "farmacéuticamente aceptable" se refiere a un excipiente que, a la dosificación y concentración empleadas, no produce ningún efecto no deseado en el sujeto al que se le administra. Tales excipientes farmacéuticamente aceptables son bien conocidos en la técnica. Según una realización, un medicamento tal como se da a conocer en el presente documento también puede comprender otros excipientes farmacéuticamente aceptables, tales como conservantes, antioxidantes, agentes colorantes y similares.

Según otra realización, los tilacoides aislados se añaden como aditivo alimenticio a un producto alimenticio, para proporcionar un producto alimenticio que tiene la capacidad de afectar al centro de recompensa del cerebro, tal como se describe en el presente documento. De manera similar a los tilacoides aislados, tal producto alimenticio encuentra uso no terapéutico.

Según aún otra realización, los tilacoides aislados se añaden como ingrediente a un complemento alimenticio, para proporcionar un complemento alimenticio que tiene la capacidad de afectar al centro de recompensa del cerebro, tal como se describe en el presente documento. De manera similar a los tilacoides aislados, un complemento alimenticio de este tipo puede encontrar un uso terapéutico así como no terapéutico. El complemento alimenticio puede ser, por ejemplo, un sorbo de zumo de frutas, por ejemplo, un sorbo de arándano, o una sopa o un sorbo de verduras, por ejemplo, sopa de patata, sopa de brócoli, sopa de patata o sopa de tomate, en los que se añaden los tilacoides aislados, o partes de los mismos. Los ingredientes en el complemento alimenticio son tales que contienen antioxidantes, vitaminas, fibras que proporcionan una mayor utilidad en cuanto a salud.

En realizaciones en las que los tilacoides aislados se administran como parte íntegra de una composición, el contenido de tilacoides en la composición puede corresponder a un contenido de clorofila de 1 mg a 100 mg de clorofila por g de composición (peso seco). Preferiblemente, la composición comprende desde aproximadamente 8 hasta aproximadamente 80 mg de clorofila por gramo (peso seco), preferiblemente desde aproximadamente 10 hasta aproximadamente 50 mg, tal como de aproximadamente 10 mg a 30 mg, de 20 mg a 40 mg, o de 30 mg a 40 mg de contenido de clorofila por gramo (peso seco). Además, el contenido de hidratos de carbono de la composición puede ser desde aproximadamente 5 hasta aproximadamente 50 g de contenido de hidratos de carbono por 100 g de la composición (peso seco), preferiblemente de aproximadamente 10 g a 40 g por 100 g, tal como de 15 g a 30 g, de 20 g a 30 g, o de 30 g a 40 g por 100 g (peso seco). Además, el contenido de proteína de la composición puede ser desde aproximadamente 10 hasta aproximadamente 60 g de proteína por 100 g de la

composición (peso seco), preferiblemente de aproximadamente 10 g a 40 g por 100 g, preferiblemente de 15 g a 30 g, de 20 g a 30 g, o de 30 g a 40 g por 100 g (peso seco).

Según una realización, la composición es una composición nutricional o farmacéutica oral que comprende una emulsión de aceite en agua fisiológicamente tolerable que comprende tilacoides. En una emulsión de este tipo, la cantidad de tilacoides puede ser del 20 al 30% en peso, tal como aproximadamente el 25% en peso. Además, el contenido de aceite puede ser del 20 al 30% en peso, tal como aproximadamente el 25% en peso. El aceite usado puede ser aceites vegetales de calidad alimentaria, tal como aceite de colza comestible (también denominado aceite de canola), aceite de oliva, aceite de girasol, etc.

Dado que la composición puede administrarse de diversas formas, la dosis diaria de tilacoides que va a administrarse puede variar. Como principio rector, la cantidad de la composición que va a administrarse puede seleccionarse de una manera tal que la dosificación se correlacione con la dosis diaria de 2,4 mg a 240 mg de tilacoides por kg de masa corporal del mamífero.

Además, los presentes inventores han descubierto recientemente y de manera sorprendente (consúltese el documento PCT/EP2013/068656) que los tilacoides regulan la microbiota intestinal y, por tanto, pueden funcionar como agente prebiótico. Según una realización, una composición tal como se da a conocer en el presente documento, por tanto, comprende además bacterias probióticas. Las bacterias probióticas que van a incluirse en la composición pueden ser *Bifidobacterium*, por ejemplo, *Bifidobacterium infantis*, o *Lactobacillus*, por ejemplo, *Lactobacillus plantarum*. Además, también pueden incluirse en la composición agentes prebióticos, tales como transgalacto-oligosacárido, inulina, fructo-oligosacárido (FOS), lactulosa y manano-oligosacáridos (MOS).

Sin más elaboración, se cree que un experto en la técnica puede, usando la descripción anterior, utilizar la presente invención en toda su extensión. Por tanto, las realizaciones específicas preferidas anteriores deben interpretarse como simplemente ilustrativas y no limitativas de la divulgación de ninguna manera.

Aunque la presente invención se ha descrito anteriormente con referencia a (a) realización/realizaciones específica(s), no se pretende que se limite a la forma específica establecida en el presente documento. Por el contrario, la invención sólo está limitada por las reivindicaciones adjuntas y, otras realizaciones diferentes de las especificadas anteriormente son igualmente posibles dentro del alcance de estas reivindicaciones adjuntas, por ejemplo, diferentes de las descritas anteriormente.

En las reivindicaciones, el término "comprende/que comprende" no excluye la presencia de otros elementos o etapas. De manera adicional, aunque las características individuales pueden incluirse en diferentes reivindicaciones, éstas posiblemente pueden combinarse de manera ventajosa, y la inclusión en diferentes reivindicaciones no implica que una combinación de características no sea factible y/o ventajosa.

Además, las referencias singulares no excluyen una pluralidad. Los términos "un", "una", "primero", "segundo", etc., no excluyen una pluralidad.

Experimental

Los siguientes ejemplos son ejemplos simples y de ninguna manera debe interpretarse como que limitan el alcance de la invención. Por el contrario, la invención sólo está limitada por las reivindicaciones adjuntas.

Ejemplo 1 – deseo reducido de alimento apetitoso

Presente estudio:

Se reclutaron 38 mujeres a través de carteles y anuncios en la comunidad local (Lund, Suecia). Los criterios fueron mujeres de 40-65 años, IMC entre 25-33, no fumadoras y sanas; los criterios de exclusión incluyeron diabetes, alergias alimenticias, síndrome de intestino intestinal, intolerancia alimenticia y uso reciente de antibióticos. Los sujetos no eran vegetarianos y no habían seguido ninguna dieta durante los últimos tres meses. Las características de referencia de las 38 mujeres incluidas pueden observarse en la tabla 1. Se crearon dos grupos de prueba a través de selección aleatorizada. El Comité de Ética en Lund, Suecia, aprobó el estudio.

Tabla 1 - Características de referencia de las 38 mujeres que anticipan el estudio de intervención alimentaria.

	Tilacoide (n = 19)	Control (n = 19)
Edad (años)	50,2 ± 6,9	54,2 ± 6,9
Peso corporal (kg)	79,9 ± 10,8	80,2 ± 8,2
IMC (kg/m ²)	28,9 ± 2,2	28,6 ± 2,3

MLG (kg)	47,6 ± 4,9	47,6 ± 3,2
Grasa corporal (kg)	32,3 ± 6,8	32,6 ± 6,2
Grasa corporal (%)	40,1 ± 4,0	40,4 ± 4,1
<i>IMC = Índice de masa corporal, definido como la relación entre la masa corporal (kg) y la longitud corporal (metros) al cuadrado.</i>		
<i>MLG = Masa libre de grasa; incluye huesos, músculos y órganos.</i>		

5 Los sujetos llegaron en ayunas (es decir, sin ingesta de alimento o bebida durante la noche) a la clínica a las 7:00 la mañana del estudio. Se montó un catéter venoso para obtener de manera repetitiva muestras de sangre a lo largo del día. Los sujetos recibieron un desayuno isocalórico (tabla 2) de 660 kcal (60% de hidratos de carbono, 28% de grasa y 12% de proteínas).

Tabla 2 - El contenido calórico en cada ingrediente del desayuno (primera comida) especificado como kcal

Ingredientes del desayuno	Cantidad	Contenido calórico
Yogur de vainilla, 2,5% de grasa	150 g	121,5 kcal
Muesli tropical (F-musli, AXA Lantmännen, Järna, Suecia)	1 dl = 45 g	185 kcal
Pan blanco (Skogaholmslimpa, Pågen, Malmö, Suecia)	1 pieza = 40 g	98 kcal
Mantequilla (Bregott, Arla Foods, Estocolmo, Suecia)	1 cucharadita	33 kcal
Queso, 28% de grasa (Gouda, Friendship, Alemania)	2 piezas = 20 g	77 kcal
Pimiento rojo	2 piezas = 20 g	6 kcal
Zumo de naranja (Bravo, Skånemejerier, Lunnarp, Suecia)	2 dl	86 kcal
Café/té (con 1 cucharada de leche con el 0,5% de grasa si se prefiere)	1 taza	~10 kcal
Sorbo de arándano (+/- complemento de tilacoides)	1 sorbo	45 kcal
		660 kcal

10 Se tomaron 50 g de sorbo de arándano con o sin complementación de 5 g de tilacoides aproximadamente cinco minutos antes de su desayuno. Se les dijo a los sujetos que se comieran todo el alimento dado en un plazo de 15 minutos. No se permitió beber ni comer entre comidas. Se les dio a los sujetos una segunda comida que consistía en una pizza (Grandiosa Gudfatern, Procordia AB, Eslöv, Suecia), agua y café/té después de 6 horas con la instrucción de comer y beber hasta quedar satisfechos. Se sirvió la segunda comida en un cubículo para cada sujeto uno por uno. Se les dio a las participantes una tercera comida, es decir cena, que consistía en un salmón "pytt i panna" (Laxpytt, Findus AB, Bjuv, Suecia) para consumir una cantidad libremente elegida por la noche en casa.

15 Se tomaron muestras de sangre justo antes del desayuno (punto de tiempo: 0 minuto) y posteriormente a 15, 30, 45, 60, 90, 120, 180, 240, 300 y 360 minutos. Se les dio el almuerzo justo después de la toma de muestras de sangre en el punto de tiempo 360 minutos. Se llevó a cabo análisis para un número de componentes incluyendo el GLP-1.

20 Se respondieron a los cuestionarios (diseñados como Escala Visual Analógica, EVA) con respecto a las sensaciones de hambre, saciedad y deseo de diferentes alimentos en los mismos puntos de tiempo en que se tomaron muestras de sangre a lo largo del día.

25 También se respondió al cuestionario entre la segunda y la tercera comida en los puntos de tiempo 60, 120, 180 y 240 minutos después del almuerzo.

30 El polvo de tilacoides usado en el presente estudio de comidas se produjo como Appethyl, por Future-ceuticals, Chicago, IL, EE.UU. Se mezclaron 5 gramos del polvo con 50 g de zumo de arándano (Ekströms Blåbärssoppa Original, Procordia AB, Eslöv, Suecia) y 2 g de aceite de colza (Zeta rapsolja, DI LUCA & DI LUCA AB, Estocolmo, Suecia). El control consistió en 50 g de zumo de arándano y 2 g de aceite de colza.

35 Se realizó el análisis de GLP-1 en plasma con un kit de ensayo de inmunoabsorción ligado a una enzima (ELISA) (n.º de cat. EGLP-35K; Millipore Corp. Billerica, MA, EE.UU.). El kit solo analiza las formas biológicamente activas de GLP-1: GLP-1 (7-36 amida) y GLP1 (7-37 amida) en plasma humano. Se usó un lector de placas de fluorescencia (FLUOstar OPTIMA 413-101; BMG LABTECH GmbH, Ortenberg, Alemania) con una longitud de onda de excitación de 355 nm y longitud de onda de emisión de 460 nm para la lectura de las muestras. El coeficiente de variación (CV)

interensayo está entre el 1 y el 13% y el coeficiente de variación intraensayo está entre el 6 y el 9%, según los datos del fabricante.

5 Se usó un cuestionario de escala visual analógica (EVA) para estimar la sensación de hambre, saciedad y antojos que tienen los sujetos de azúcar, azúcar/grasa y sal/grasa. Se les dieron preguntas a los sujetos en un papel y se les dijo que estimaran sus sensaciones y pensamientos escribiendo una línea vertical en una escala lineal horizontal. La escala tenía 100 mm de longitud y estaba delimitada por descripciones sensoriales (tabla 3).

10 Tabla 3. Las preguntas en el cuestionario EVA con frases delimitadas y puntuaciones.

Preguntas	Frase de delimitador	
	Puntuación 0	Puntuación 100
¿Cómo de hambriento te sientes ahora mismo?	Para nada hambriento	Extremadamente hambriento
¿Cómo de lleno estás ahora mismo?	Para nada lleno	Extremadamente lleno
¿Cuánto estás pensando en comida ahora mismo?	Para nada	Extremadamente
¿Cuánto deseas un sándwich [imagen que muestra un sándwich con queso y pimienta roja]?	Para nada	Extremadamente
¿Cuánto deseas patatas en bolsa [imagen que muestra patatas en bolsa saladas]?	Para nada	Extremadamente
¿Cuánto deseas chocolate [imagen que muestra chocolate con leche]?	Para nada	Extremadamente
¿Cuánto deseas caramelos [imagen que muestra caramelos variados]?	Para nada	Extremadamente

El régimen de dieta (es decir, la ingesta de 5 g de tilacoides al día) continuó durante tres meses.

15 *Resultados*

Se observó una reducción significativa en el deseo de alimento apetitoso junto con la ingesta de tilacoides (consúltense las figuras 1B-D). Se produjo la disminución de deseo de los caramelos (golosinas), de la grasa y el dulce (chocolate), y también de la grasa y la sal (patatas en bolsa). Por tanto, se concluyó que los tilacoides tienen la capacidad de suprimir el deseo o la apetencia del dulce, la sal y la grasa. Esta supresión de la apetencia dura todo el día tras el consumo de un sorbo de tilacoides por la mañana. Además, la preferencia de alimento apetitoso disminuyó aún más después de 3 meses de tratamiento con tilacoides.

25 De manera importante, el efecto sobre el hambre fue mucho menos pronunciado (consúltense la figura 1A). A pesar de estar hambrientas, las mujeres tuvieron una apetencia significativamente menor de alimento apetitoso, tal como caramelos, chocolate o patatas en bolsa. Por tanto, el efecto subyacente de la presente invención no está relacionado al parecer con los hallazgos previos de que la ingesta de tilacoides aislados enriquecidos puede suprimir el apetito, debido a la disminución de actividad lipolítica (consúltense el documento WO 2006/132586), y al retraso de la captación de moléculas, tales como glucosa (consúltense el documento WO 2012/113918).

30 Sin estar vinculado a ninguna teoría, parece que el mecanismo probablemente se refiere a la liberación de péptido similar al glucagón (GLP-1), que se liberó significativamente por los tilacoides en comparación con el control (figura 2). Por tanto, los tilacoides producen la liberación endógena de una hormona que regula el comportamiento alimenticio relacionado con recompensa en una dirección que es útil para prevenir y tratar la obesidad. Especialmente, los sujetos que han tomado tilacoides serán más propensos a elegir una comida sana ya que el deseo de alimento apetitoso se reduce significativamente. Además, se reduce el riesgo de comer en exceso. Esto conducirá a un menor riesgo de diabetes tipo 2 y enfermedad cardiovascular asociada con obesidad y resistencia a la insulina.

40 Ejemplo 2 - necesidad disminuida de la nicotina (no dentro del alcance de la invención)

Como es bien sabido, los fumadores normalmente experimentan un deseo aumentado de fumar cuando participan en un programa de pérdida de peso, principalmente debido a que la nicotina reduce el apetito y disminuye la preferencia por el alimento. De manera inesperada, algunos fumadores que han tomado sorbos de tilacoides regularmente han informado de manera espontánea una menor necesidad de la nicotina. Normalmente, los sorbos de tilacoides se proporcionan como parte de un programa de pérdida de peso.

Por error, se incluyó un fumador en el estudio del ejemplo 1. Esta mujer, que había fumado aproximadamente 17 cigarrillos al día durante los últimos 40 años, informó un deseo de fumar significativamente menor una vez que participó en el estudio. Una vez que terminó el estudio, ella informó que el deseo de fumar había aumentado de nuevo.

Otra mujer, que fuma de manera habitual aproximadamente 23 cigarrillos al día, informó que su consumo de cigarrillos se redujo hasta aproximadamente 15 cigarrillos al día una vez que ella comenzó a tomar sorbos de tilacoides regularmente. Además, ella informó un menor deseo de fumar, lo que creía que era la explicación de por qué de repente fumaba menos.

Un hombre, que fuma de manera habitual de 15 a 20 cigarrillos al día, informó que su consumo de cigarrillos se redujo a menos de 10 cigarrillos al día, normalmente a aproximadamente 9 cigarrillos al día, 10 días después de que él comenzara a tomar sorbos de tilacoides regularmente por la mañana.

Ejemplo 3 - deseo disminuido de alimento apetitoso durante la intervención dietética

Los efectos observados en el ejemplo 1 se lograron sin ninguna restricción calórica. Sin embargo, la mayoría de los programas de pérdida de peso se basan en una restricción calórica. Por tanto, también se estudió el efecto de los tilacoides sobre el hambre hedónica durante una restricción calórica que se usa habitualmente en estudios de pérdida de peso.

Sujetos

Se reclutaron cuarenta y ocho mujeres con sobrepeso no fumadoras de mediana edad (40-65 años) que no estaban, actual o recientemente, a dieta para su selección a través de anuncios en el periódico local. Los criterios de exclusión fueron diabetes, enfermedad inflamatoria intestinal, enfermedad tiroidea, alergias alimenticias y un IMC por encima de 33. Se inscribieron treinta individuos como participantes en el estudio. Las 30 participantes inscritos acabaron el estudio. Se midió el cumplimiento a través de entradas de diario, entrevistas y el uso diario de podómetros. Se excluyeron cuatro participantes (una del grupo de control y tres del grupo de tilacoides) del análisis de datos debido al incumplimiento de la dieta y el régimen de ejercicio.

Las características de referencia de los 26 sujetos incluidos se enumeran en la tabla 1. Una participante en el grupo de control no se incluyó en el análisis de calificaciones subjetivas de hambre, saciedad y deseos de elementos alimenticios específicos debido a la no asistencia.

Tabla 1 - Características de referencia de las 26 mujeres incluidas en el estudio (promedio ± DE). No hubo diferencias significativas entre los grupos.

	Grupo de control (n = 14)	Grupo de tilacoides (n = 12)
Edad (años)	53,0 ± 5,9	51,3 ± 5,3
Peso (kg)	76,6 ± 5,3	73,1 ± 7,4
IMC (kg/m ²)	27,7 ± 2,2	27,4 ± 1,7
Circunferencia de la cintura (cm)	88,9 ± 6,6	85,7 ± 8,3
Circunferencia de la cadera (cm)	103,4 ± 4,3	103,3 ± 4,5
Razón cintura/cadera	0,86 ± 0,06	0,83 ± 0,06

Los procedimientos, objetivos y requisitos del estudio se explicaron en detalle a las participantes, y se firmaron los consentimientos escritos tanto antes de la selección como antes de que comenzara el estudio. El estudio se aprobó por el Comité de Ética de la Universidad de Lund, y se realizó según la declaración de Helsinki. Después de completar el estudio, todas las participantes recibieron una compensación de 2000 SEK (186,20 €) (imponible).

Diseño del estudio experimental

El estudio se realizó y diseñó como un estudio de intervención de dieta y ejercicio aleatorizado, simple ciego, con duración de dos meses. Los participantes se aleatorizaron en dos grupos para garantizar una distribución normal dentro y entre los grupos basándose en el peso corporal, el IMC, la glucosa en sangre, la insulina, los triacilglicéridos (TAG) y el colesterol (total y LDL). Uno de los grupos recibió complementación de tilacoides en una bebida de arándano cada día, mientras que el otro grupo sirvió como control, recibiendo una bebida de arándano diaria sin tilacoides.

Cada dos semanas, en el mismo momento en la mañana, las participantes visitaron la clínica para las mediciones de peso corporal, composición corporal, circunferencias de cintura y cadera y para la toma de muestras de sangre. Para optimizar las condiciones para todas las mediciones, las participantes recibieron instrucciones de tomar una cena estandarizada en la noche antes de cada día de la prueba y abstenerse de la ingesta adicional de alimentos o líquido después de las 20:00.

Las participantes tuvieron un total de cinco citas programadas individualmente durante el estudio. En el primer y en el último día (día 1 y 56), tras las mediciones antropométricas y la toma de muestras de sangre, se sirvió un desayuno isocalórico (2114 kJ/505 kcal) que consistía en la bebida de arándano con o sin tilacoides, yogur con manzana, cereal de desayuno, frutos secos y café o té (tabla 2). Después de 240 minutos, se dio un almuerzo isocalórico para llevar (2593 kJ/630 kcal) que consistía en una comida de curry tailandés congelada, ensalada de judías y un plátano. Se rellenaron los cuestionarios EVA midiendo parámetros subjetivos de hambre, saciedad y deseo de alimentos específicos en puntos de tiempo dados a lo largo del día tanto en el día 1 como en el día 56, mientras que se tomaron las muestras de sangre sólo durante los 240 minutos iniciales tras el desayuno.

Tabla 2. Contenidos del desayuno y almuerzo servidos en los días primero y último del estudio.

Componentes de la comida	Cantidad (g)	Calorías (kJ/kcal)	Proteína (g)	Grasa (g)	Hidratos de carbono (g)	Fibra (g)
Desayuno						
Yogur natural	300	753/180	10,2	9,0	14,4	0,0
Muesli con frutas y frutos secos	45	775/185	2,9	4,9	30,4	3,4
Manzana (Granny Smith)	60	139/34	0,2	0,1	7,4	1,1
Almendras	10	255/61	2,0	5,2	1,3	0,7
Sorbo de arándano, con o sin tilacoides	50	192/45	2,7	3,4	5,5	0,5
Ingesta total	465	2114/505	18,0	22,6	59,1	5,7
Almuerzo						
Pollo al curry rojo (producto congelado)	380	1558/380	15,2	13,3	45,6	1,9
Ensalada de judías (producto listo)	100	591/144	6,0	5,0	18,0	* No se indica en el producto
Plátano	105	444/106	1,0	0,5	23,1	1,8

Tilacoides

Los tilacoides usados en el presente estudio se prepararon a partir de hojas de espinaca tierna usando el método de pH, tal como se describió (Emek SC, *et al. A large scale method for preparation of plant thylakoids for use in body weight regulation*, Prep Biochem Biotechnol 2010, 40(1):13-27). Se secó la suspensión de tilacoides para obtener un polvo de tilacoides, preparado por Swepharm AB (Södra Sandby, Suecia). 100 g de tilacoides consisten en 41,1 g de proteína, 14,5 g de grasa, 36,8 g de hidratos de carbono, 3,5 g de sal así como pigmentos tales como 3640 mg de clorofila, 28 mg de luteína, 730 ug de zeaxantina, 4760 ug de betacaroteno, 21 ug de vitamina A, 1330 ug de vitamina K, 6,07 mg de vitamina E y 166 ug de ácido fólico.

El grupo de tilacoides recibió 5,6 g de polvo de tilacoides mezclado con 2,8 g de aceite de colza (Zeta, Di Luca y Di Luca AB, Estocolmo, Suecia) y 50 g de sopa de arándano (Ekströms original, Procordia Food AB, Eslöv, Suecia). El grupo de control recibió 2,8 g de aceite de colza mezclado con 50 g de sopa de arándano. Las bebidas de arándano con y sin tilacoides contenían 209 kJ/50 kcal frente a 188 kJ/45 kcal, respectivamente. Las bebidas se tomaron antes del desayuno cada día.

Restricción calórica y recomendaciones dietéticas

Antes de que comenzara el estudio, se calculó el requisito energético diario promedio para las participantes en 8800 kJ (~2100 kcal), con respecto a la edad, el peso, la altura y el supuesto consumo energético diario, según la ecuación de Harris Benedict usando Dietist XP (Kostdata, Bromma, Suecia). Durante el estudio, la ingesta energética calculada se redujo en un 15% de E hasta ~7500 kJ/día (~1800 kcal/día). Se les proporcionó a las participantes una colección de recetas seleccionadas (3 desayunos, 29 almuerzos/cenas y 4 postres) para elegir. La ingesta energética recomendada al día durante el estudio se dividió en tres comidas/día: 2100 kJ (~500 kcal) para el

desayuno, y 2500 kJ (~600 kcal) para el almuerzo y la cena, respectivamente. Se permitieron 400 kJ (~100 kcal) adicionales para leche en café/té y ajustes individuales. Se permitieron agua, café y té entre comidas, pero no alimentos o tentempiés adicionales. La dieta no permitía ninguna bebida endulzada.

5 Los sujetos también recibieron instrucciones de realizar 60 minutos de ejercicio de baja/media intensidad cada día, tal como marcha rápida, natación, aeróbicos básicos, etc.

Cada día, las participantes respondieron a preguntas respecto a su elección de comidas, estado de salud y ejercicio en un diario. Estos datos se usaron para analizar el cumplimiento de las pautas del estudio.

10

Análisis somáticos

Se midió el peso corporal con una escala digital (TANITA WB-100A, clase III, Ámsterdam, Países Bajos). Se midieron la composición de la masa de grasa corporal (kg) y la grasa del tronco (kg) con un analizador de impedancia bioeléctrica (TANITA-BC 418 MA). Se midieron la circunferencia de la cintura, a medio camino entre el margen inferior de la costilla y la cresta ilíaca, y la circunferencia de la cadera a los 0,5 cm más cercanos usando una cinta métrica no elástica.

15

Cuestionarios

20

Se usaron cuestionarios contruidos como EVA (Flint A, *et al. Reproducibility, power and validity of visual analogue scales in assessment of appetite sensations in single test meal studies*, Int J Obes Relat Metab Disord 2000, 24(1):38-48.) para medir las sensaciones de hambre, saciedad y deseo de elementos alimenticios específicos. Las imágenes ayudaron a la evaluación del deseo de elementos alimenticios específicos. Se presentaron para tentempiés con alto contenido de hidratos de carbono, imágenes de un sándwich y un panecillo de canela dulce, para sal y grasa imágenes de patatas en bolsa y cacahuetes salados, para tentempié dulce imágenes de caramelos y un polo, y para grasa y dulce imágenes de tarta y chocolate. El primer (día 1) y el último día (día 56) del estudio, los sujetos respondieron preguntas antes del desayuno (0 min) y en los puntos de tiempo 15, 60, 120, 180, 240 (antes de que se sirviera el almuerzo), 270 (después de que se sirviera el almuerzo), 330, 390, 450 y 630 minutos. Se les dieron instrucciones escritas en la primera página del cuestionario, y cada sujeto recibió individualmente instrucciones sobre cómo rellenar el cuestionario para evitar una mala interpretación. Una línea de 100 mm delimitada por descriptores a cada lado de la línea, véase la tabla 3, siguió las preguntas. Los sujetos recibieron instrucciones de colocar una línea vertical a través de la escala, calificándose así cómo de fuertes eran sus sensaciones en cada punto de tiempo. Se puntuaron las calificaciones como mm entre “para nada” y la nota de los sujetos individuales.

25

30

35

Tabla 3. Preguntas en los cuestionarios EVA realizadas durante los días primero y último del estudio.

Preguntas	Delimitador: 0 mm	Delimitador: 100 mm
¿Cómo de hambriento te sientes ahora mismo?	Para nada hambriento	Extremadamente hambriento
¿Cómo de lleno estás ahora mismo?	Extremadamente lleno	Para nada lleno
¿Cuánto te gustaría tomar un sándwich o un panecillo de canela ahora mismo?	Para nada	Extremadamente mucho
¿Cuánto te gustaría tomar cacahuetes o patatas en bolsa salados ahora mismo?	Para nada	Extremadamente mucho
¿Cuánto te gustaría tomar dulces/caramelos ahora mismo?	Para nada	Extremadamente mucho
¿Cuánto te gustaría tomar chocolate ahora mismo?	Para nada	Extremadamente mucho

40 *Estadística*

Los cálculos de potencia se basaron en estudio piloto previos que examinaban la complementación de tilacoides en seres humanos con respecto a los cambios en la glucosa en sangre. Con una sensibilidad de 0,80 y un nivel de significancia de 0,05, los cálculos de potencia indicaron un tamaño de muestra de 14 en cada grupo, cuando se estableció la diferencia clínica en 0,6 y la desviación estándar intrasujeto en 0,56. Se realizaron los análisis de datos estadísticos de todas las muestras de sangre y mediciones corporales usando R Development Core Team, versión 2.15.3, 2011 (R Foundation for Statistical Computing, Viena, Austria). Se realizó el análisis en dos etapas. En primer lugar, se ajustó el modelo de regresión simple para cada sujeto y para cada una de las 13 variables medidas tomando el tiempo como variable explicativa (5 puntos de tiempo) y la variable medida como la variable de respuesta. Los valores de pendiente obtenidos representaron la tasa de cambio ajustada para un individuo y una

45

50

variable particulares. En segundo lugar, se realizó un análisis multivariante sobre las tasas de cambio así obtenidas, usando la prueba T2 de Hotelling de dos muestras con las 13 variables tratadas juntas. Se examinaron las desviaciones del supuesto de normalidad y se determinó que no eran graves. De manera adicional, con fines de interpretación, se analizó la diferencia media de variables de pendiente entre los dos grupos con la prueba de la t para un problema de dos muestras univariante para cada una de las 13 variables medidas. Los valores de p obtenidos a partir de estas comparaciones de variables individuales deben tratarse con precaución debido al efecto de pruebas múltiples y, por tanto, sólo se usan para comentar e interpretar qué variables contribuyen más a la diferencia significativa entre los grupos.

Se realizaron análisis estadísticos de los cuestionarios EVA usando Prism, versión 6 (GraphPad Software, Inc, San Diego, CA, EE.UU.). En los días primero y último, respectivamente, se analizaron las variaciones en las calificaciones durante el día con un ANOVA de mediciones repetidas bidireccional con el tratamiento y el tiempo como factores fijos. Se analizaron de manera adicional los puntos de tiempo individuales con una prueba de comparación múltiple seguida de la prueba LSD de Fisher. Se analizaron los cálculos numéricos del área total bajo la curva (AUCt) con una prueba del orden con signo de Wilcoxon para datos emparejados para comparar la diferencia entre los días primero y último del estudio dentro de los grupos. Se usó también la prueba de la t de Mann-Whitney para comparar las diferencias entre los grupos.

Los datos objetivos mostraron una distribución normal para la mayoría de las variables y algunas desviaciones del supuesto normal para determinadas variables (HbA1c, Apo B y peso corporal en el grupo de tilacoides), pero no fueron críticas para el resultado del análisis. Éste último se evaluó mediante un estudio de remuestreo. En las figuras, los datos se expresan como media \pm EEM, mientras que los datos de las tablas se proporcionan como media \pm DE. Se consideró que los valores de $P < 0,05$ eran estadísticamente significativos, y que los valores de $p < 0,1$ eran de interés.

Resultados

Después de dos meses de dieta restringida, todas las participantes perdieron peso corporal y experimentaron una disminución de grasa corporal total sin diferencia significativa entre los grupos de control y tratado con tilacoides.

El análisis de las calificaciones subjetivas de hambre, usando cuestionarios EVA, reveló una disminución de la sensación de hambre dentro del grupo de tilacoides al final del estudio en comparación con el primer día ($p=0,016$, figura 3A), mientras que no se encontró ningún cambio en la sensación de hambre en el grupo de control (figura 3A). No se encontraron diferencias en las sensaciones de hambre entre el grupo de tilacoides y el control en el primer día ($F(10,240)=1,6$, ns) o en el último día del estudio ($F(10,210)=0,83$, ns) (figuras 3B y 3C).

Se observó una fuerte tendencia a una reducción en el deseo de chocolate dentro del grupo de tilacoides al final del estudio en comparación con el primer día ($p=0,052$), pero no en el grupo de control ($p=0,62$, figura 4A), confirmando que los tilacoides, no la intervención dietética, reducen el deseo de chocolate. El análisis ANOVA del deseo de chocolate entre el grupo tratado y el control en el primer día y el último día, respectivamente, reveló una interacción significativa entre el tiempo y el tratamiento (primer día; $F(10,240)=1,9$, $p<0,05$), último día ($F(10,230)=1,9$, $p<0,05$). El análisis de los puntos de tiempo individuales mostró una disminución del deseo de chocolate en el grupo de tratamiento antes del almuerzo en el primer día y en la tarde en el último día (figuras 4B y 4C).

El deseo de un tentempié con hidratos de carbono no se alteró significativamente a lo largo del transcurso del estudio en ninguno de los grupos (figura 5A). Sin embargo, hubo una interacción entre el tiempo y el tratamiento en el deseo de un tentempié con hidratos de carbono en el primer día de tratamiento ($F(10,240)=2,1$, $p<0,05$), pero no en el último día ($F(10,230)=1,3$, ns, figura 5C). Sin embargo, el deseo de un tentempié con hidratos de carbono se disminuyó antes del almuerzo y en la tarde en el primer día (figura 5B). Los resultados muestran que tanto los tilacoides como la intervención dietética reducen el deseo de tentempiés con hidratos de carbono. Además, los hallazgos de la figura 5B confirman los hallazgos del ejemplo 1.

No se informaron efectos secundarios de la complementación de tilacoides.

Discusión

La complementación diaria de tilacoides durante dos meses en combinación con una dieta restringida dio como resultado una pérdida de peso corporal de magnitud similar en los grupos tratado con tilacoides y de control. La disminución general del peso corporal fue 0,65 kg/semana en el grupo de tilacoides y 0,59 kg/semana en el grupo de control (diferencia no significativa).

Se redujeron las sensaciones de hambre y deseo de chocolate mediante el tratamiento con tilacoides a lo largo del transcurso del estudio. Por el contrario, no se redujeron en el grupo de control. Además, se disminuyó el deseo de chocolate y tentempié con hidratos de carbono en el grupo tratado con tilacoides en comparación con los controles en el primer día del estudio y también en el último día para el chocolate.

De manera interesante, en el primer día (consúltese la figura 3B), no se observó diferencia en las sensaciones de hambre (hambre homeostática), mientras que se redujeron tanto el deseo de chocolate (consúltese la figura 4B) como de tentempié con hidratos de carbono (consúltese la figura 4C). Esto está en consonancia con los hallazgos del ejemplo 1 (consúltese la figura 1). Claramente, los tilacoides tienen un efecto sobre el hambre hedónica, que se distingue de su efecto a largo plazo sobre el hambre homeostática, confirmando el efecto de la presente invención. Además, como resulta evidente de los ejemplos 1 y 3, los tilacoides pueden suprimir el hambre hedónica, independientemente de la restricción calórica.

Aunque la reducción de peso corporal fue similar entre los dos grupos, parecía que este nivel de pérdida de peso se alcanzó con menos esfuerzo en el grupo tratado con tilacoides en comparación con el grupo de control, basándose en las calificaciones subjetivas reducidas de hambre y deseo de alimento apetitoso en el grupo de tilacoides. Esto sugiere que los tilacoides ejercen su efecto de control del apetito incluso durante la restricción calórica y que este efecto se mantiene tras la pérdida de peso. Esto es una propiedad importante del tratamiento con tilacoides, ya que el hambre es común en la pérdida de peso y a menudo conduce a comer en exceso y recuperar el peso corporal.

Por tanto, la ingesta de tilacoides alivia algunas del estrés relacionado con la restricción calórica durante los programas de pérdida de peso corporal. Además, la ingesta de tilacoides ayuda a adoptar un comportamiento alimenticio más sano y a reducir la ingesta relativa de alimento apetitoso. Esto puede ser crucial en el mantenimiento de un comportamiento alimenticio sano y en la evasión del aumento de peso tras un programa de pérdida de peso.

Por tanto, puede concluirse que los tilacoides aislados pueden suprimir el hambre hedónica independientemente de la restricción calórica.

Ejemplo 4 - supresión de la apetencia y el hambre hedónica en personas que comen emocionalmente

Materiales y métodos

Sujetos

Se reclutaron 32 mujeres a través de anuncios locales. Se evaluó a las voluntarias para determinar la elegibilidad a través de un procedimiento de selección que incluía cuestionarios que evaluaban la salud general, los comportamientos alimenticios y los gustos subjetivos por diferentes productos alimenticios. Durante el procedimiento de selección, se excluyeron 6 mujeres y se incluyeron 26 mujeres en el estudio. Criterios de inclusión: mujeres de edades entre 40 y 70, peso normal o sobrepeso. Criterios de exclusión: diabetes, enfermedades que afectan al apetito, alergias alimenticias o intolerancia a los alimentos servidos en el estudio, o haber estado a dieta durante los últimos 3 meses. 22 sujetos completaron el estudio y se incluyeron en el análisis final (tabla 1).

Tabla 1 - Características de referencia

		Mediana	Intervalo intercuartílico	Intervalo (mín-máx)
Edad (años)	(n=22)	54,5	47,0-59,5	40-66
IMC (kg/m ²)	(n=22)	25,3	24,5-29,4	22,4-36,2
Grasa corporal (%) ^a	(n=21)	37,2	31,5-40,4	26,9-47,1

^aAnalizador de composición corporal (TANITA-BC 418 MA, Ámsterdam, Países Bajos. Un sujeto excluido de este análisis debido al fallo del analizador de composición corporal.

Diseño del estudio

El estudio fue un estudio de intervención de comida aleatorizado, unicéntrico, doble ciego, controlado por placebo, con un diseño cruzado, realizado en el centro biomédico (BMC) en la Universidad de Lund, Suecia. Se sometió a prueba a cada participante en dos días, separadas por un período de reposo farmacológico de al menos 1 semana, recibiendo un complemento de plantas verdes (5 g) un día y placebo el otro día. Se aleatorizó la asignación a tratamiento o placebo y se equilibró entre los días de la prueba.

Los sujetos llegaron por la mañana, en ayunas desde las 22:00. Durante los días de la prueba, se siguió un horario tal como se muestra en la tabla 2. No se permitió alcohol ni actividad física intensa los días antes o durante los días de la prueba. Antes del desayuno, las participantes rellenaron un cuestionario construido como escalas visuales analógicas (EVA) (Flint *et al.* Int J Obes Relat Metab Disord, 25, 781-792) con preguntas respecto a hambre, saciedad y apetencia de productos alimenticios específicos. Posteriormente, se sirvió una bebida de arándano, con o sin complementación de membranas de plantas verdes (tilacoides), seguida de un desayuno sueco estandarizado con alto contenido de hidratos de carbono. Se rellenó el cuestionario EVA cada hora así como antes y después del almuerzo y del bufé de tentempiés *ad libitum*, servidos a las 13:00 y 16:00, respectivamente. Entre el desayuno y el almuerzo, las participantes abandonaron las instalaciones para trabajar o realizar actividades libres, y se les recordó

que rellenaron los cuestionarios EVA cada hora por medio de mensajes de texto. Después del almuerzo, las participantes permanecieron en sus sitios asignados, sentadas una al lado de la otra, con divisores de cartón entre ellas, todas frente a una ventana. Se les permitió leer o trabajar en ordenadores portátiles hasta las 16:00 cuando se sirvió el bufé de tentempiés en la mesa en bandejas individuales. Un panfleto, que contenía información sobre los productos servidos, acompañaba al bufé, garantizando la frescura de los alimentos. Incluía los nombres de fabricantes e imágenes de los envases. Se usaron las mismas imágenes para el cuestionario EVA. Antes de empezar a comer del bufé de tentempiés frente a ellas, las participantes rellenaron el cuestionario EVA una vez más. Después, se les permitió comer libremente de los productos en sus bandejas, se les alentó a seguir sus deseos y pedir más si se les acababa. Se les ocupó por el bufé de tentempiés durante 45 min, sin hacer nada más durante este tiempo. Después de eso, rellenaron el cuestionario EVA de nuevo, incluyendo esta vez preguntas respecto a cuánto les gustaron los productos que probaron. Finalmente, tuvieron la oportunidad de comentar libremente cómo se sintieron durante el día de la prueba.

Tabla 2 - Horario del día de la prueba, día 1 y 2

Hora	Acontecimiento	Punto de tiempo
07:30	Las participantes llegaron al BMC	
07:45	EVA	Nivel de referencia; Punto de tiempo 0
08:00	Bebida de arándanos, con/sin 5 g de membranas de plantas verdes (tratamiento/placebo). Desayuno, que incluye café/té	
08:15	EVA	Punto de tiempo 15 min
09:00	EVA	Punto de tiempo 60 min
10:00	EVA	Punto de tiempo 120 min
11:00	EVA	Punto de tiempo 180 min
12:00	EVA	Punto de tiempo 240 min
12:45	EVA	Punto de tiempo 285 min
13:00	Almuerzo	Punto de tiempo 300 min
13:20	EVA	Punto de tiempo 320 min
14:00	EVA	Punto de tiempo 360 min
15:00	EVA	Punto de tiempo 420 min
16:00	Bufé de tentempiés servido. EVA	Punto de tiempo 480 min
16:45	EVA después del bufé de tentempiés	Punto de tiempo 525 min

Potencia y tamaño de la muestra

Se calculó el número de participantes requeridos para lograr una potencia de 0,8 en este estudio cruzado usando datos de un estudio anterior. Basándose en estos cálculos, se necesitaron 15 sujetos para detectar una diferencia de 10 mm en las calificaciones EVA del hambre. Este número de sujetos también es suficiente para detectar diferencias en las calificaciones de apetencia de alimento apetitoso. Según la bibliografía, 17 sujetos deben ser suficientes para detectar una diferencia en la ingesta de alimentos de 500 kJ/120 kcal.

Ética

El estudio se aprobó por el Comité de Ético de estudios en humanos en Lund (2006/361). Se realizó el ensayo según la Declaración de Helsinki. Los sujetos dieron el consentimiento informado escrito antes de que empezara el estudio. Las participantes no recibieron ninguna compensación monetaria.

Membranas de plantas verdes

Se prepararon las membranas de plantas verdes (Appethyl, Greenleaf Medical AB, Estocolmo, Suecia) usadas en el presente estudio a partir de hojas de espinaca tierna usando el método de pH tal como se describió anteriormente (Emek *et al.*, Prep Biochem Biotechnol, 40, 13-27), seguido de secado mediante tambor. 100 g de membranas de plantas verdes contienen 26,1 g de proteína, 7,24 g de grasa, 48,7 g de hidratos de carbono, 27,9 mg de luteína, 730 µg de zeaxantina, 3,45 mg de betacaroteno, 21 µg de vitamina A, 1330 µg de vitamina K1, 6,07 mg de vitamina E y 166 µg de ácido fólico. Se sirvieron 5 g de membranas de plantas verdes en una bebida de arándano fría, mezclada con 2,5 g de aceite de colza (Zeta, Di Luca y Di Luca AB, Estocolmo, Suecia) y 92,5 g de sopa de

arándano (Ekströms original, Procordia Food AB, Eslöv, Suecia), servida inmediatamente antes del desayuno en los días de la prueba de tratamiento. En los días de la prueba de control, se les sirvió a las participantes una bebida placebo, que consistía en 2,5 g de aceite de colza mezclado con 92,5 g de sopa de arándano. Las bebidas de arándano contenían 82 kcal con membranas de plantas verdes y 64 kcal sin ellas.

5

Comidas

El desayuno en ambos días de la prueba fue un desayuno sueco estandarizado con alto contenido de hidratos de carbono con yogur y muesli, una rebanada de pan blanco con mantequilla, queso y pimiento dulce, café o té. La distribución energética fue el 31,2 por ciento de energía total (% de E) de grasa, el 15,4% de E de proteína y el 53,4% de E de hidratos de carbono. Los azúcares constituían el 22,6% de E. El almuerzo que se sirvió en ambos días de la prueba fue una porción de pizza, hecha a partir de masa madre, con salsa de tomate, jamón, cebolla, champiñones y queso, servida con brócoli hervido y agua de grifo. El café o té tras el almuerzo era opcional, pero se les requirió a los sujetos que tuvieran el mismo ambos días de la prueba. La distribución energética del almuerzo fue el 45,9% de E de hidratos de carbono, el 32,5% de E de grasa y el 21,6% de E de proteína. Además, se les permitió a las participantes una taza de café/té, sin azúcar o edulcorante, entre el desayuno y el almuerzo, y una taza de café/té después del almuerzo. Se realizaron los cálculos de la distribución energética usando Dietist Net Pro (Kost och Näringsdata AB, Bromma, Suecia).

20 Bufé de tentempiés

Se eligió una gama de los tentempiés, dulces y repostería más vendidos para el bufé de tentempiés (tabla 3), basándose en las respuestas al cuestionario del producto. Se agruparon estos productos en tres categorías diferentes: tentempiés salados, dulces, y dulces y grasos. Los tentempiés con sabor salado incluían patatas en bolsa y frutos secos salados variados, los productos con sabor dulce, que contienen azúcar, incluían dos clases diferentes de dulces y zumo de naranja, los productos con sabor dulce que contienen tanto azúcar como grasa fueron: chocolate con leche, chocolate negro, tofe cubierto de chocolate, pastel de chocolate y panecillo de canela. Cada participante recibió una bandeja con los productos servidos en recipientes separados, pesados antes y después del consumo. Se eligieron las cantidades de manera que fueran más que suficientes para una persona, para garantizar el consumo *ad libitum*. Se sirvió café, té y agua con los tentempiés en una cantidad limitada. Las bebidas eran opcionales, pero los sujetos debían tener la misma en ambos días de la prueba.

30

Tabla 3 - Componentes del bufé de tentempiés, contenido energético por 100 g.

Productos	Calorías (kJ/kcal)	Proteína (g/% de E)	Grasa (g/% de E)	Hidr. de carbono (g/% de E)	Azúcar (g/% de E)	Sal (g)
Salados						
Patatas en bolsa "Sourcream & onion" (Estrella, Suecia)	2200/525	6,0/4,6	32,5/56,4	50,5/39	3,6/2,8	1,7
Frutos secos variados "Vår klassiska nötmix" (OLW, Suecia)	2450/590	25,0/16,8	48,0/72,5	16,0/10,7	4,2/2,8	1,3
Dulces						
Dulces "Ahlgrens bilar" (Cloetta, Suecia)	1450/350	6,0/6,8	0,3/0,8	81,0/92,4	55,0/62,7	0,25 ^a
Dulces "Gott & Blandat" (Malaco, Suecia)	1450/340	0,0/0	0,0/0	85,0/100	61,0/71,8	0,25 ^a
Zumo de naranja "Apelsin juice" (Kiviks Musteri AB, Suecia)	180/40	0,6/5,9	<0,5/11	8,5/83,1	8,5/83,1	0,01 ^a
Dulces y grasos						
Chocolate con leche "Marabou mjölkchoklad", (Marabou, Suecia)	2290/550	4,8/3,5	32,0/53	59,0/43,4	58,0/42,7	0,25 ^a
Chocolate negro "Lindt Excellence 70% dark" (Lindt & Sprüngli, Suecia)	2180/520	8,0/6,1	40,0/68,7	33,0/25,2	28,0/21,4	0,15 ^a
Tofe cubierto de chocolate "Dumlekola original" (Fazer, Suecia)	1980/470	3,6/3,1	21,0/40,4	66,0/56,5	53,0/45,4	0,4 ^a

Pastel de chocolate "Delicatoboll", (Delicato, Suecia)	2000/480	5,0/4,2	29,0/54,7	49,0/41,1	30,0/25,2	0,4
Panecillo de canela "Kanelbulle" (Bonjour, VAASAN Sverige AB, Suecia)	1350/320	6,2/8	9,6/27,8	50/64,3	15/19,3	0,5
^a El contenido de sal expresado inicialmente como contenido de sodio se ha convertido en una cantidad de sal multiplicando el valor de sodio por 2,5, tal como recomienda la agencia alimentaria nacional sueca (Livsmedelsverket).						

Cuestionario de productos

5 Se construyó el cuestionario de productos para este estudio como una herramienta para elegir productos adecuados para medir los antojos y la ingesta de tentempiés en una población sueca. Contenía preguntas específicas sobre los tentempiés de las marcas más populares en Suecia: patatas en bolsa, frutos secos, chocolate, dulces, repostería, panecillos, zumo de frutas y refrescos. Se hicieron preguntas acerca de con cuánta frecuencia consumía el que responde el alimento apetitoso, cuánto les gustaba los productos en una escala hedónica de nueve puntos y qué producto de cada categoría preferían.

10

Cuestionario de tres factores de la alimentación revisado de 18 elementos, versión 2 (TFEQ-R18V2)

15 El TFEQ-R18V2 es una versión revisada del cuestionario de tres factores de la alimentación (TFEQ) original, una escala de autoevaluación ampliamente usada en estudios de comportamiento alimenticio. Mientras que el TFEQ original contenía 51 elementos, el TFEQ-R18V2 contiene 18 preguntas para medir tres tipos de comportamiento alimenticio: comer emocional, comer descontroladamente y restricción cognitiva. El cuestionario usado en el presente estudio fue una traducción del sueco.

Cuestionario EVA

20 Se usaron de manera repetida los cuestionarios construidos como escalas visuales analógicas EVA durante los días de la prueba (tabla 2) para medir las sensaciones de apetito y antojos de elementos alimenticios específicos (tabla 3). Se construyó el cuestionario como folleto con instrucciones escritas en la primera página. Una línea horizontal de 100 mm sobre la que los sujetos marcaron su respuesta siguió todas las preguntas. La línea estaba delimitada en cada extremo, expresando el valor mínimo en el lado izquierdo: "Para nada", y el valor máximo en el lado derecho: "Extremadamente". En el último punto de tiempo del día, se añadieron preguntas sobre los gustos por los productos probados ese día particular para garantizar la evaluación de las propiedades de recompensa de los elementos. Cuando se analizaron, se combinaron las calificaciones de los elementos alimenticios individuales en tres categorías diferentes y se presentaron como tentempiés salados, dulces, y dulces y grasos (tabla 3). Para los análisis respecto a todos los tentempiés juntos, se combinaron todos los valores y se presentaron como total/todos los tentempiés.

30

Estadística

35 Se realizaron todos los análisis estadísticos usando el software estadístico Prism versión 6 (GraphPad Software, Inc, San Diego, CA, EE.UU.). Se computaron la distribución normal de los parámetros apareados y las diferencias calculadas entre las condiciones de tratamiento y de control mediante la prueba de normalidad general d'Agostino & Pearson, verificada por el análisis de diagrama de caja y del histograma y la comparación entre los valores de media y mediana. Debido a la pequeña muestra de población, la variación normal fue difícil de determinar, que es por lo que se prefirieron pruebas no paramétricas. Se analizaron las variaciones en las calificaciones EVA a lo largo del tiempo con un ANOVA de mediciones repetidas bidireccional (RM) para someter a prueba el tiempo, el tratamiento, y la interacción entre tiempo y tratamiento. Se realizaron los análisis de las calificaciones EVA en puntos de tiempo individuales así como de las diferencias del área bajo la curva total (AUCt) para las calificaciones EVA, la ingesta de alimentos y las calificaciones de gustos usando la prueba del orden con signo de Wilcoxon para datos emparejados. Se analizaron los valores de p dados en el texto y en las leyendas de las figuras con la prueba del orden con signo de Wilcoxon para datos emparejados si no se indica lo contrario.

45

50 Se calculó el efecto del tratamiento de membranas de plantas verdes sobre las sensaciones de hambre, saciedad y deseo de productos alimenticios específicos y la preferencia, respectivamente, restando las calificaciones EVA para el día del tratamiento de los valores del día de control, excepto para la saciedad, que se calculó de la manera contraria. Se calculó el efecto del tratamiento sobre la ingesta de alimentos como diferencia en la ingesta calórica entre los días de control y de tratamiento. Se requirió el cálculo de los valores delta para los efectos del tratamiento para tener en cuenta las observaciones apareadas. Después se correlacionaron estos valores delta a las puntuaciones de comportamiento alimenticio, tal como se midió mediante el cuestionario de TFEQR18-V2, dividido en los tres dominios: comer emocional, comer descontroladamente y restricción cognitiva. Se calcularon también las correlaciones entre puntuaciones de comportamiento alimenticio, IMC y porcentaje de grasa corporal. Se computaron todas las correlaciones mediante el coeficiente de correlación de Pearson. Los coeficientes de

55

correlación (r), y los coeficientes de determinación (R^2), iguales a y por encima de 0,3 se consideraron bastante fuertes y se han incluido en el documento. Tanto en las figuras como en el texto, los datos se expresan como media \pm EEM si no se indica lo contrario. Los valores de $p < 0,05$ se consideraron estadísticamente significativos, y los valores de $< 0,10$ de interés.

5

Resultados

Calificaciones EVA sobre el hambre y la saciedad

10 El tratamiento con membranas de plantas verdes redujo las calificaciones subjetivas del hambre en comparación con el control y fueron menores a lo largo del día ($F(1,21) = 6,237, p < 0,05$, figura 6A), el AUCt para el hambre disminuyó en un 21% entre las condiciones de control y tratadas ($p < 0,05$, figura 6B). La diferencia en las calificaciones del hambre entre control y tratamiento fue más pronunciada antes del almuerzo y antes del bufé de tentempiés, alcanzando la significancia más alta en los puntos de tiempo 285 min y 480 min después del comienzo del desayuno (figura 6A).

15

El tratamiento con membranas de plantas verdes también aumentó las calificaciones de la saciedad en comparación con el control (figuras 6C-D). Las puntuaciones de la saciedad generalmente fueron mayores durante el día entero en la condición tratada ($F(1,21) = 8,745, p < 0,01$, figura 6C), el AUCt para la saciedad se incrementó en un 14% tras el tratamiento ($p < 0,01$, AUCt, figura 6D). Se observaron diferencias significativas en la saciedad entre los grupos de control y de tratamiento a los 60 y 120 min, así como inmediatamente antes del bufé de tentempiés en el punto de tiempo 480 min (figura 6C).

20

Calificaciones EVA sobre la apetencia de alimento apetitoso

25

El tratamiento con membranas de plantas verdes disminuyó las sensaciones subjetivas de la apetencia de todas las clases de alimento apetitoso en comparación con el control (figura 7). Las calificaciones EVA fueron consistentemente menores durante el día de la prueba de tratamiento para todas las categorías de tentempiés (salados, dulces, y dulces y grasos) así como la apetencia total de todos los tentempiés.

30

El efecto del tratamiento sobre las calificaciones para la apetencia de tentempiés salados se presenta en la figura 7A ($F(1,21) = 6,110, p < 0,05$). El tratamiento redujo la apetencia de tentempiés salados en un 30% entre las condiciones de control y tratadas ($p < 0,01$, AUCt, figura 7B). Específicamente, el deseo de tentempiés salados fue menor en el grupo tratado en los puntos de tiempo 60, 120 y 360 minutos en comparación con el control (figura 7A).

35

El efecto del tratamiento sobre las calificaciones para la apetencia de tentempiés dulces se presenta en la figura 7C ($F(1,21) = 8,412, p < 0,01$). La apetencia de dulce disminuyó un 38% entre las condiciones de control y tratadas ($p < 0,001$, AUCt, figura 7D). Además, hubo una tendencia hacia una interacción entre tiempo y tratamiento en la apetencia de tentempiés dulces, es decir el impacto de tiempo sobre las calificaciones EVA dependía de si el sujeto recibió tratamiento o placebo ($F(11,231) = 1,803, p = 0,05$). El deseo de tentempiés dulces fue menor en el grupo tratado en comparación con el control en todos los puntos de tiempo entre el desayuno y el almuerzo, comenzando a los 15 minutos después del desayuno. También fue menor en la tarde en el punto de tiempo 420 minutos (figura 7C).

40

El efecto del tratamiento sobre las calificaciones para la apetencia de tentempiés dulces y grasos se presenta en la figura 7E ($F(1,21) = 5,198, p < 0,05$). La apetencia de dulce y graso disminuyó un 36% en el grupo tratado en comparación con el control ($p < 0,05$, AUCt, figura 7F). El deseo de tentempiés dulces y grasos fue menor en el grupo tratado en comparación con el control en los puntos de tiempo 60, 120, 180 minutos y también justo antes del almuerzo a los 285 minutos (figura 7E).

45

El análisis ANOVA de la apetencia total de todos los tentempiés reveló un efecto del tratamiento ($F(1,21) = 7,364, p < 0,05$, figura 7G). El análisis posterior de puntos de tiempo individuales mostró que el tratamiento disminuyó la apetencia total a los 15, 60, 120, 180, 285 y 420 minutos después del desayuno ($p < 0,05$). La apetencia de todos los tentempiés combinados disminuyó en un 36% en el grupo tratado en comparación con el control ($p < 0,05$, AUCt, figura 7H).

50

Ingesta de alimentos del bufé de tentempiés ad libitum

De los 22 sujetos, todos comieron algo del bufé de tentempiés en ambos días de la prueba. Hubo una fuerte tendencia hacia una ingesta calórica reducida de elementos alimenticios salados tras el tratamiento con membranas de plantas verdes en comparación con el control, con una diferencia media de 65 kcal ($p = 0,0547$, figura 8). No hubo diferencias significativas en la ingesta de tentempiés dulces o dulces y grasos, o en el consumo total entre las condiciones de tratamiento y de control.

60

Preferencia por alimento apetitoso medida después del consumo del bufé de tentempiés

65

Sólo a los sujetos que probaron un elemento se les permitió calificar su preferencia por él. Para cada producto alimenticio específico que va a incluirse en el análisis de puntuaciones de preferencia, los sujetos tuvieron que probar y calificar su preferencia por el producto en ambos días de control y de tratamiento. Se excluyó un individuo del análisis debido a no rellenar el formulario correctamente. El tratamiento con membranas de plantas verdes produjo una menor preferencia por los productos dulces después del consumo, en comparación con los días de control ($p < 0,01$, figura 9). Por el contrario, la preferencia por productos salados, y dulces y grasos, se intercambió entre los días de tratamiento y de control. No hubo diferencia significativa en la preferencia total por todos los tentempiés en los días de tratamiento en comparación con los días de control ($p = 0,15$, figura 9).

10 *Comportamiento alimenticio medido mediante el cuestionario de tres factores de la alimentación (TFEQ-R18V2)*

Las participantes respondieron a cada una de las 18 preguntas sobre indicaciones que caracterizan los comportamientos relacionados con comer en una escala de Likert de cuatro puntos. Se codificaron las respuestas en una escala de cuatro puntos (1-4), con los valores más altos que indican más del comportamiento. Los valores medios para cada una de las tres categorías de comportamiento fueron: dominio de comer emocional 2,27 (+/- 0,15), dominio de restricción cognitiva 2,52 (+/- 0,15) y dominio de comer descontroladamente 2,26 (+/- 0,10).

20 *Correlaciones entre el efecto del tratamiento sobre la apetencia y las puntuaciones para el comportamiento alimenticio*

El efecto del tratamiento sobre la apetencia de tentempiés dulces y grasos así como de todas las clases de tentempiés mostró una correlación positiva con las puntuaciones de comer emocional, de manera que las puntuaciones más altas para el comportamiento de comer emocional se correlacionaron a un efecto del tratamiento de membranas de plantas verdes mayor sobre las calificaciones de la apetencia de alimento apetitoso en general, y alimentos dulces y grasos en particular ($p < 0,01$ respectivamente, r de Pearson, figuras 10A y B). Los dominios de restricción cognitiva y comer descontroladamente no mostraron ninguna correlación entre los efectos del tratamiento y la puntuación para el comportamiento alimenticio.

30 *Correlaciones adicionales analizadas*

No hubo correlaciones entre las diferentes puntuaciones de comportamiento alimenticio y el efecto del tratamiento con membranas de plantas verdes sobre el hambre, la saciedad, la ingesta de alimentos o la preferencia. Tampoco hubo ninguna correlación entre el IMC o el porcentaje de grasa corporal y las puntuaciones para el comportamiento alimenticio, ni correlaciones entre las diferentes puntuaciones de comportamiento alimenticio.

35 No se informaron efectos o acontecimientos adversos.

Discusión

40 El presente ejemplo demuestra que la ingesta de tilacoides antes del desayuno aumenta las calificaciones subjetivas de saciedad y disminuye las calificaciones de hambre así como los antojos de tentempiés y dulces durante el día. Cuando se correlaciona con las puntuaciones de comportamiento alimenticio, el efecto del tratamiento de membranas de plantas verdes sobre la apetencia se correlacionó de manera positiva con comer emocional para todos los tentempiés, siendo específicamente dirigidos los alimentos dulces y grasos. La ingesta de tilacoides también disminuyó las preferencias subjetivas por el dulce, puntuado directamente tras el consumo.

50 La promoción de saciedad por los tilacoides encontrada en este ejemplo es un hallazgo completamente novedoso. Esta comenzó a los 60 minutos después del desayuno, lo que sugiere una señalización de saciedad temprana potenciada. Además, las calificaciones para la saciedad en el grupo tratado también fueron mayores varias horas después del almuerzo, en comparación con el placebo. La saciedad potenciada puede explicarse mediante la secreción aumentada de hormonas de saciedad CCK, tanto en el punto de tiempo temprano como en los puntos de tiempo posteriores.

55 El tratamiento también tuvo un efecto atenuante sobre las calificaciones del hambre a lo largo del día. En comparación con las calificaciones para la saciedad, la diferencia en calificaciones del hambre alcanzó significancia más tarde, a los 180 minutos después del desayuno en comparación con los 60 minutos para la saciedad. Los presentes hallazgos sobre el hambre verifican los hallazgos previos sobre las calificaciones disminuidas del hambre tras el tratamiento con membranas de plantas verdes. El hambre suprimida puede estar relacionado con una reducción de los niveles de grelina y un efecto indirecto de niveles circulantes aumentados de las hormonas de saciedad CCK y GLP-1. La aparición posterior de la supresión del hambre sugiere un efecto indirecto por los tilacoides sobre la promoción de hormonas de saciedad.

65 Además de aumentar la saciedad y reducir el hambre, en este estudio el tratamiento con membranas de plantas verdes también redujo la apetencia de todas las categorías de tentempiés apetitosos; tentempiés salados, dulces, y dulces y grasos así como todos los tentempiés juntos, en comparación con el control. Los presentes resultados demuestran que el tratamiento con membranas de plantas verdes suprime el hambre hedónica directamente.

Sin estar vinculado a ninguna teoría, el hambre hedónica suprimida por los tilacoides puede ser un efecto de los niveles alterados de la hormona del apetito relacionada con recompensa GLP-1.

5 En el presente estudio, los análisis de correlación demostraron que los individuos que puntuaron alto para el comportamiento de comer emocional tuvieron un efecto mayor de las membranas de plantas verdes sobre la reducción de la apetencia de alimento apetitoso, que es un hallazgo completamente novedoso. Comer emocional es más común en mujeres que en hombres, y se ha asociado con antojos y el consumo aumentado de alimentos dulces y grasos, especialmente en respuesta a factores estresantes y emociones negativas. Varios estudios han mostrado
10 que la correlación entre los tipos de comportamiento alimenticio y el IMC es la más fuerte para el comportamiento de comer emocional, y mayor en los sujetos con sobrepeso. Por tanto, afectar al comer en exceso específicamente en personas que comen emocionalmente es muy importante.

15 Los hallazgos sobre la preferencia reducida son importantes, ya que la preferencia de la dulzura influye en la apetencia de productos que saben dulce. De hecho, las mujeres con sobrepeso han mostrado que tienen una preferencia aumentada por el dulce. Una preferencia reducida puede, a lo largo del tiempo, provocar una reducción en la apetencia del dulce. Como consecuencia, la apetencia reducida puede disminuir el consumo de tentempiés entre comidas y, por tanto, el comer en exceso. En este estudio, el tratamiento redujo la apetencia del dulce en una mayor medida en comparación con otras clases de tentempiés. También hubo una aparición más temprana. La
20 apetencia del dulce se redujo desde los 15 minutos en adelante, en comparación con la apetencia de tentempiés salados, y dulces y grasos, que se redujeron a partir de los 60 minutos, respectivamente. Esto implica que el tratamiento agudo con membranas de plantas verdes, en particular, control el sabor dulce. No se conoce el mecanismo para este direccionamiento.

25 El presente ejemplo muestra que el tratamiento con membranas de plantas verdes atenúa el hambre homeostática y hedónica, así como la apetencia de alimento apetitoso y la preferencia por el dulce. La reducción de la apetencia es importante, ya que la apetencia es la principal causa de comer hedónico, que contribuye al consumo excesivo y la obesidad. Además, los individuos que son obesos y/o están en dieta son incluso más susceptibles al hambre hedónica. Por tanto, la reducción de los antojos de alimento apetitoso es necesaria para controlar el apetito, evitar el
30 aumento de peso y facilitar una pérdida de peso permanente. La complementación mediante membranas de plantas verdes puede ayudar a evitar comer entre comidas, por tanto comer en exceso, y a la larga, el sobrepeso.

REIVINDICACIONES

1. Uso no terapéutico de tilacoides aislados para reducir el deseo de alimento apetitoso, con el fin de disminuir el hambre hedónica en el ser humano, en el que dicho uso incluye la ingesta de tilacoides aislados.
2. Uso según la reivindicación 1, en el que el alimento apetitoso tiene una o varias de las siguientes características:
 - un índice glucémico de al menos 60, tal como al menos 70;
 - un alto contenido de azúcar de al menos el 5% en peso para bebidas y al menos el 20% en peso, tal como al menos el 50% en peso, para otro alimento;
 - comprende un edulcorante;
 - un alto contenido de grasa de al menos el 20% en peso y un alto contenido de azúcar de al menos el 20% en peso;
 - un alto contenido de grasa de al menos el 20% en peso y un índice glucémico de al menos 50; y
 - un alto contenido de grasa de al menos el 20% en peso y un contenido de sal (NaCl) de al menos el 1,0% en peso.
3. Uso según la reivindicación 2, en el que el alimento apetitoso tiene al menos una de las siguientes características:
 - un alto contenido de azúcar de al menos el 5% en peso para bebidas y al menos el 20% en peso, tal como al menos el 50% en peso, para otro producto alimenticio; y
 - un alto contenido de grasa de al menos el 20% y un alto contenido de azúcar de al menos el 20% en peso;

en el que los azúcares comprendidos en el alimento apetitoso se seleccionan del grupo que consiste en los monosacáridos glucosa, fructosa y galactosa, los disacáridos sacarosa, maltosa y lactosa, y mezclas de los mismos.
4. Uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que la liberación de GLP-1 (péptido similar al glucagón de tipo 1) se aumenta por dicho uso de tilacoides aislados.
5. Uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en el que el efecto de recompensa del alimento apetitoso, que afecta al centro de recompensa del cerebro, se disminuye por dicho uso de tilacoides aislados.
6. Uso no terapéutico de tilacoides aislados para disminuir el efecto de recompensa del alimento apetitoso, tales como el alimento apetitoso según una cualquiera de las reivindicaciones 2 ó 3.
7. Uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en el que los tilacoides aislados se han aislado de hojas verdes de plantas o de algas verdes; preferiblemente los tilacoides se han aislado de hojas de trébol, colza, remolacha azucarera, diente de león, *Arabidopsis thaliana*, maíz, tabaco, girasol, *Chenopodium*, *Atriplex*, espinaca, acelga, quinoa, col rizada o hierbas; más preferiblemente los tilacoides se han aislado de espinaca.
8. Uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en el que los tilacoides aislados usados son una parte íntegra de una composición nutricéutica.
9. Uso según la reivindicación 8, en el que el contenido de tilacoides aislados en la composición nutricéutica se corresponde a un contenido de clorofila de desde aproximadamente 10 hasta aproximadamente 50 mg de clorofila por gramo de la composición (peso seco); preferiblemente el contenido de hidratos de carbono de la composición nutricéutica es desde 5 hasta 50 g de hidratos de carbono por 100 g de la composición nutricéutica (peso seco); y/o el contenido de proteína de la composición nutricéutica es desde 10 hasta 60 g de proteína por 100 g de la composición nutricéutica (peso seco).
10. Uso según la reivindicación 8 ó 9, en el que la composición nutricéutica comprende una emulsión de aceite en agua fisiológicamente tolerable que comprende tilacoides aislados.
11. Uso según la reivindicación 10, en el que la composición nutricéutica comprende bacterias probióticas y opcionalmente un agente prebiótico.
12. Uso según la reivindicación 5, en el que el efecto de recompensa se disminuye aumentando la liberación de GLP-1 (péptido similar al glucagón de tipo 1).
13. Uso según la reivindicación 1, en el que el hambre hedónica se disminuye aumentando la liberación de

GLP-1 (péptido similar al glucagón de tipo 1).

¿Cuánta hambre tienes?

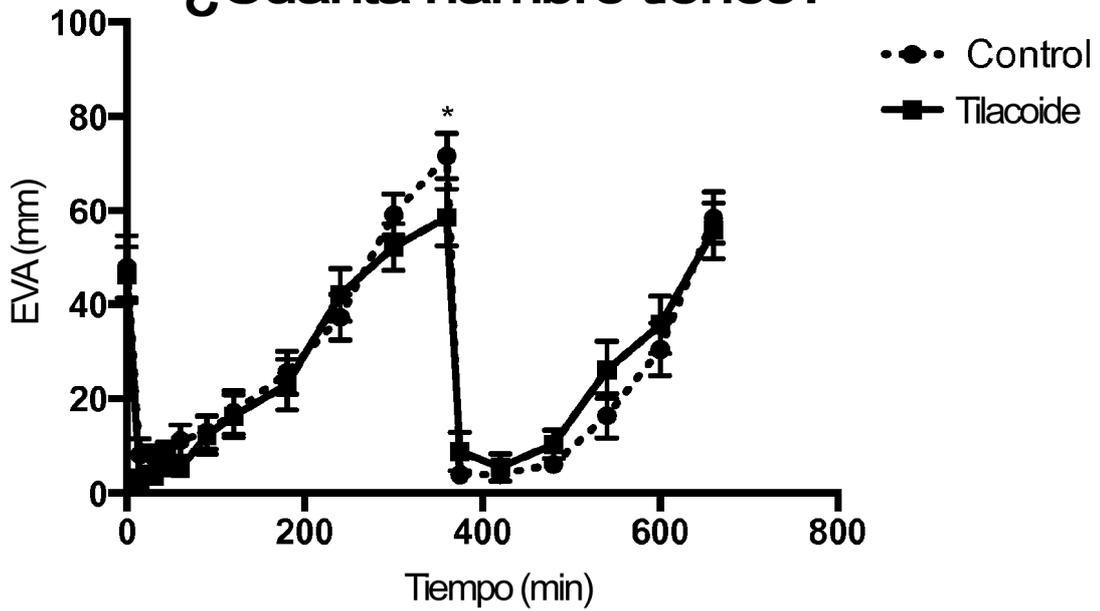


Fig. 1A

¿Antojos de dulces?

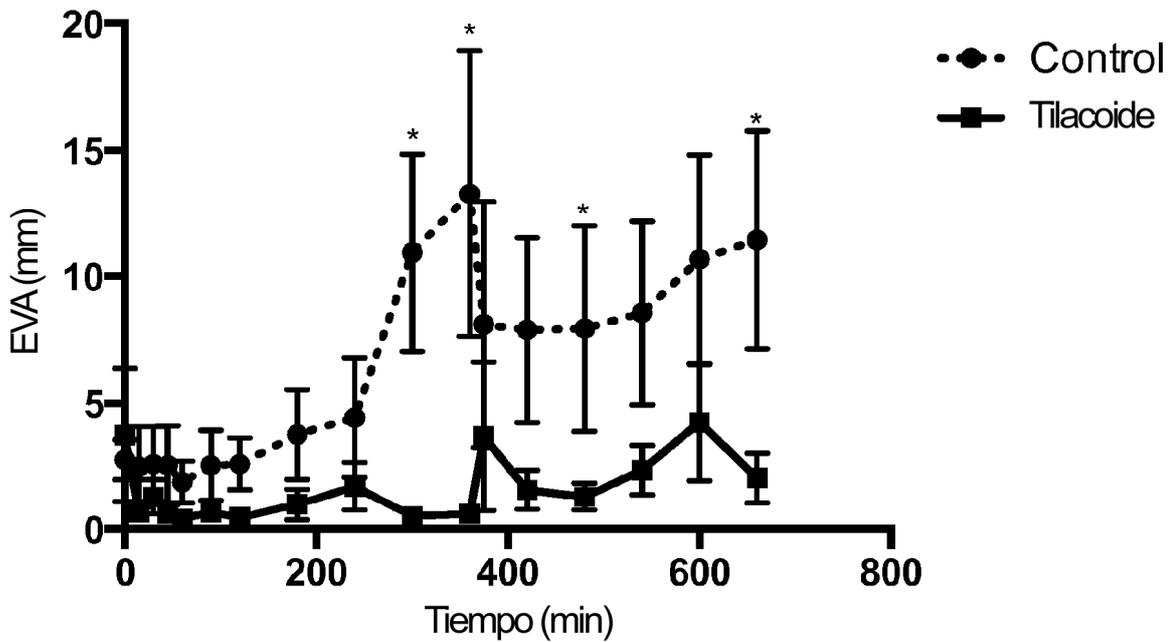


Fig. 1B

¿Antojos de patatas en bolsa?

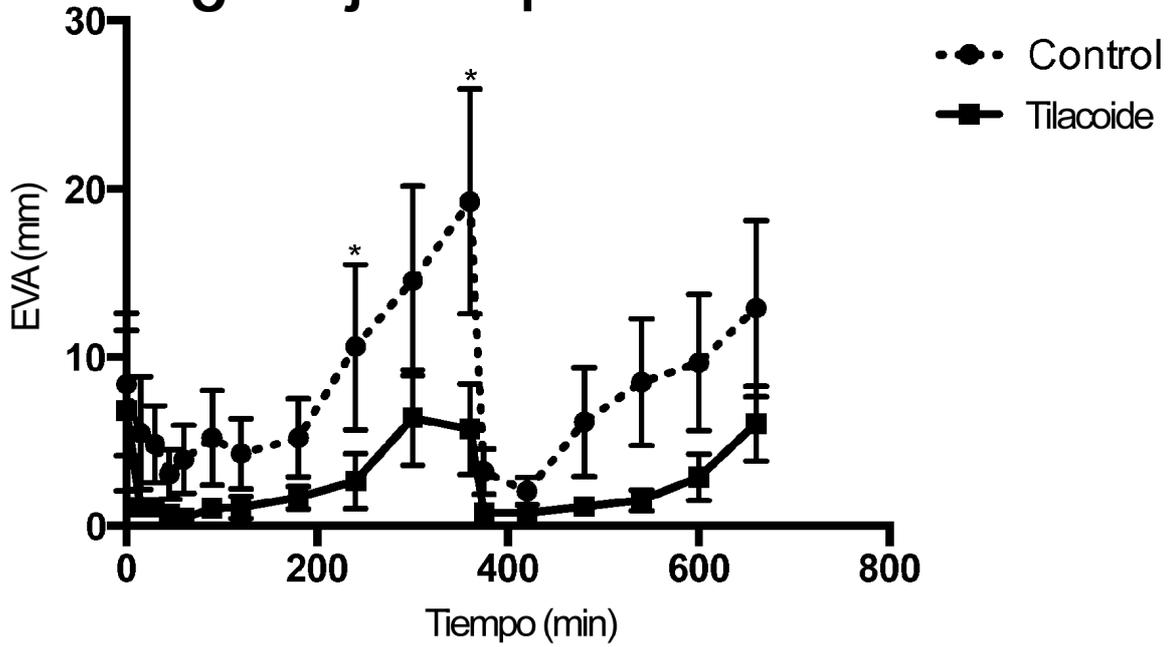


Fig. 1C

¿Antojos de chocolate?

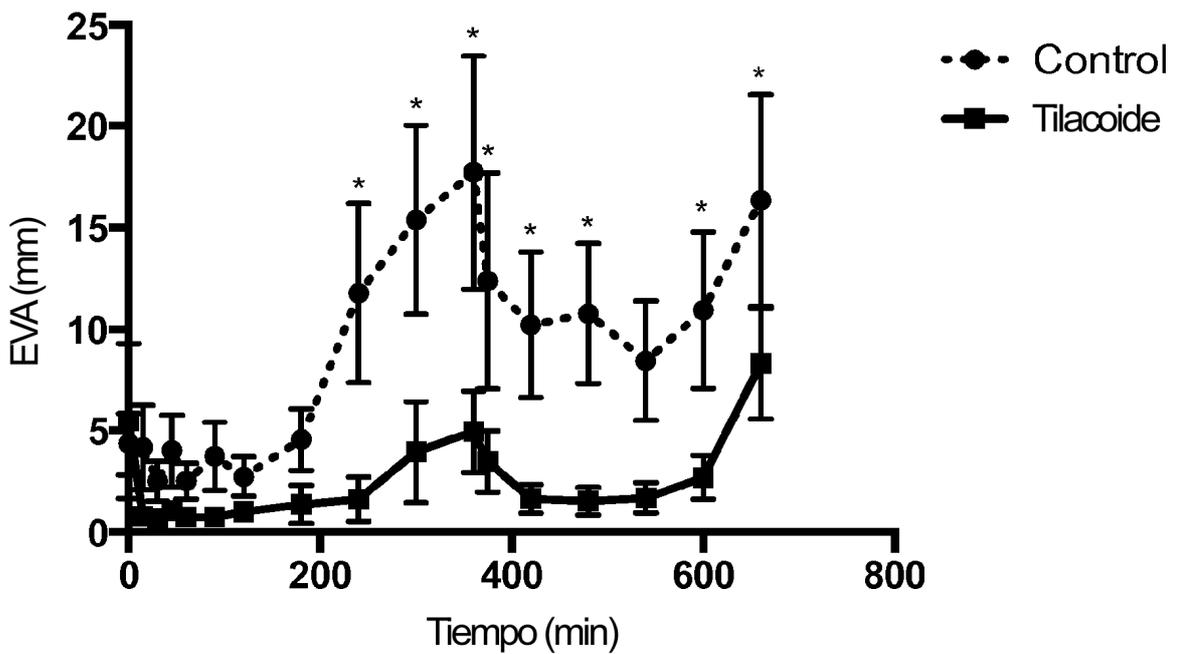


Fig. 1D

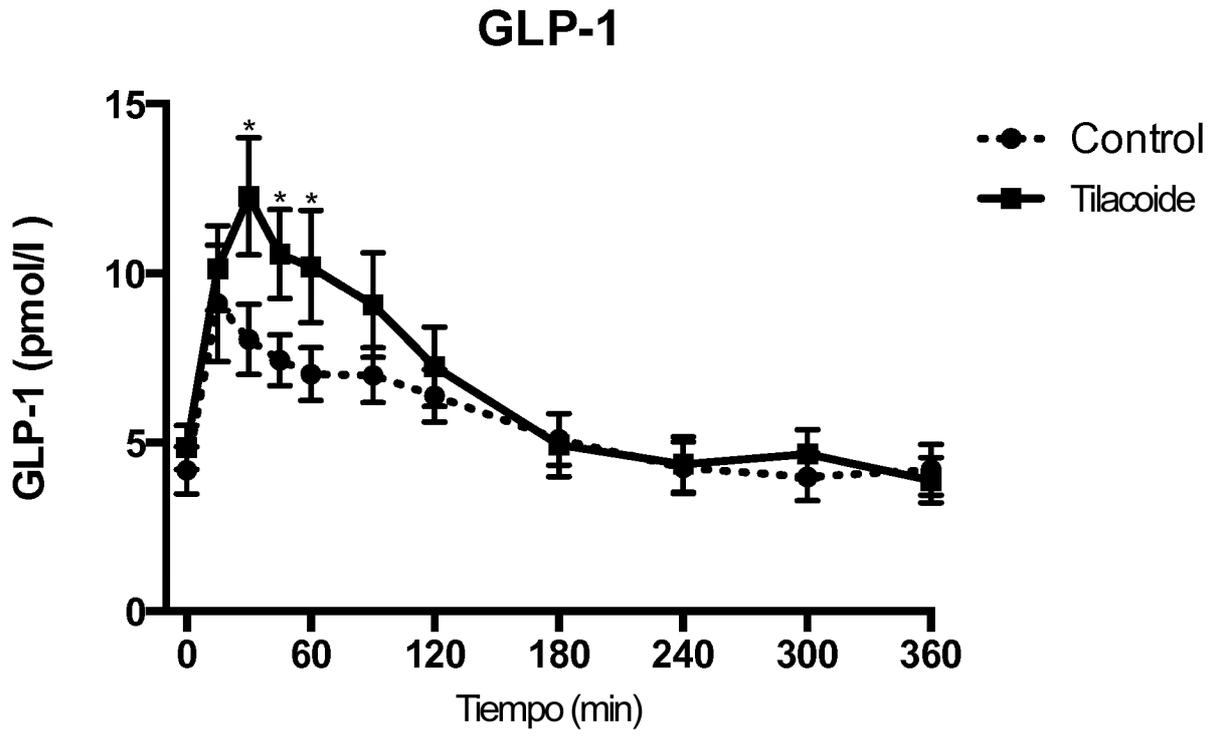


Fig. 2

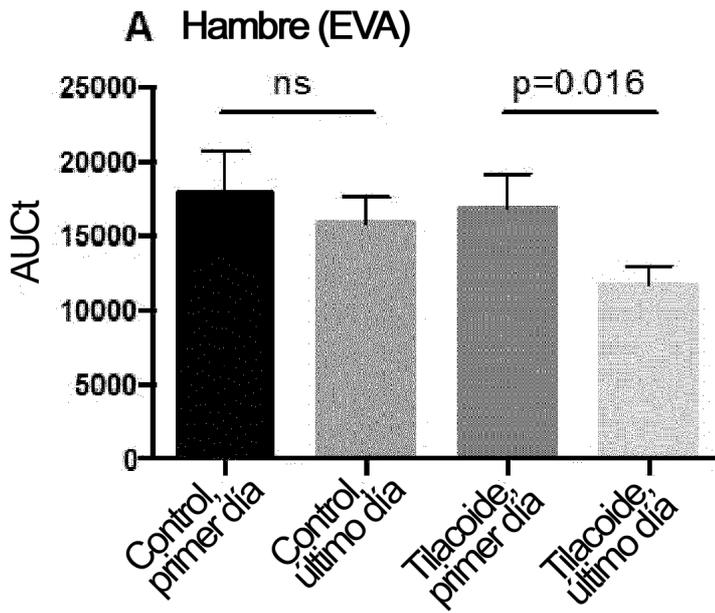


Fig. 3A

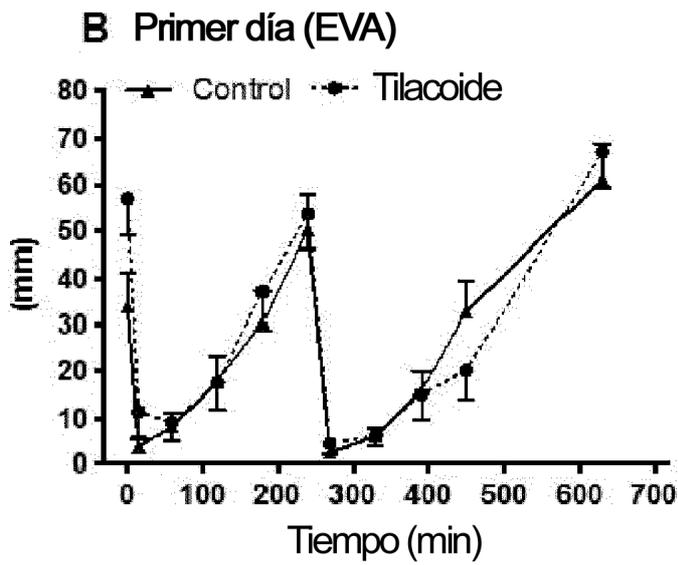


Fig. 3B

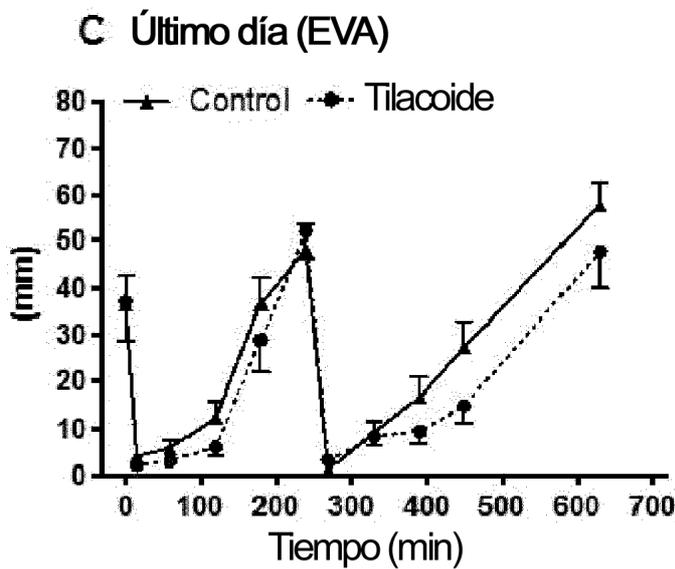


Fig. 3C

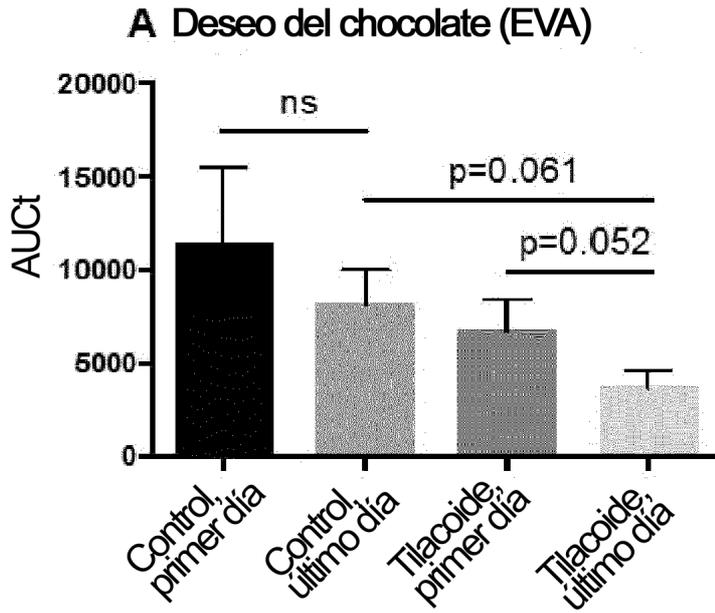


Fig. 4A

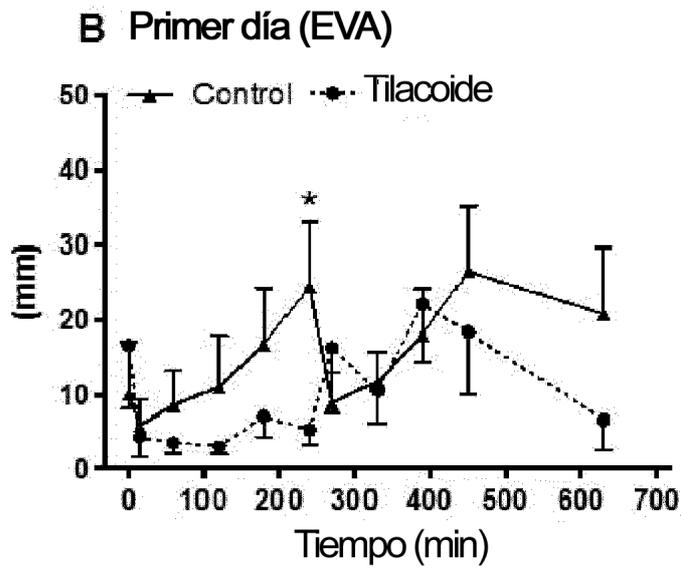


Fig. 4B

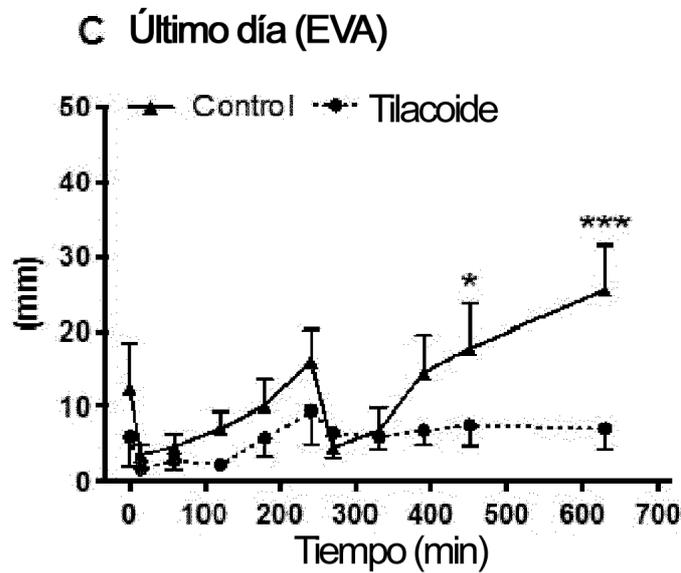


Fig. 4C

A Deseo de tentempié de hidratos de carbono (EVA)

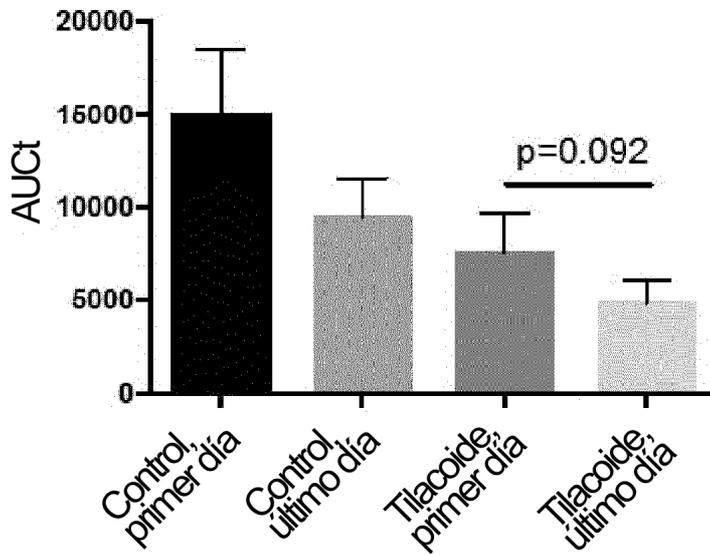


Fig. 5A

B Primer día (EVA)

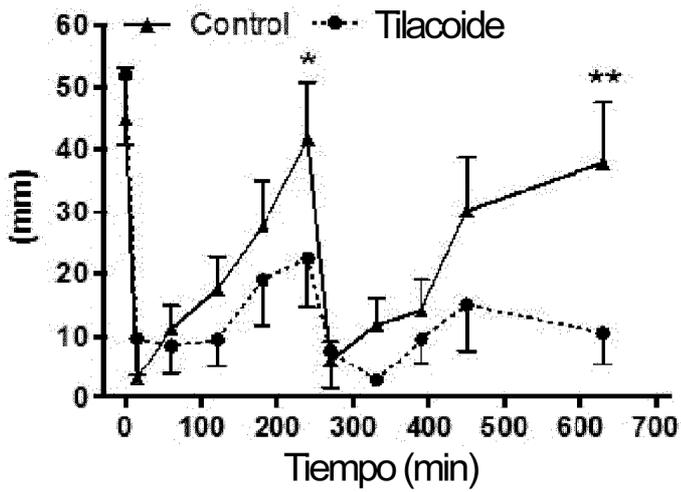


Fig. 5B

C Último día (EVA)

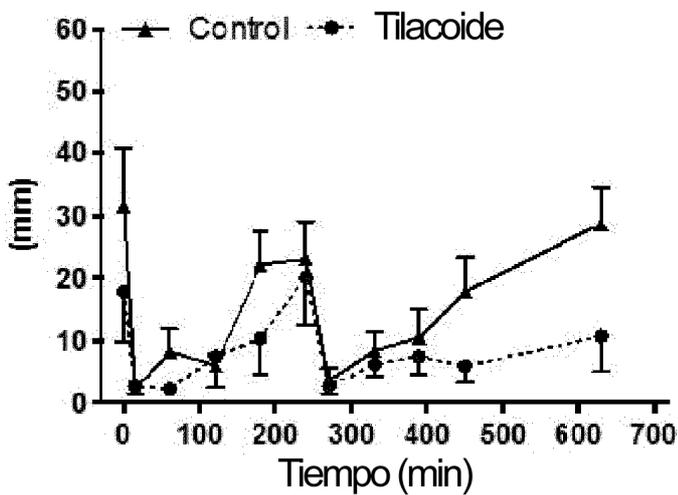


Fig. 5C

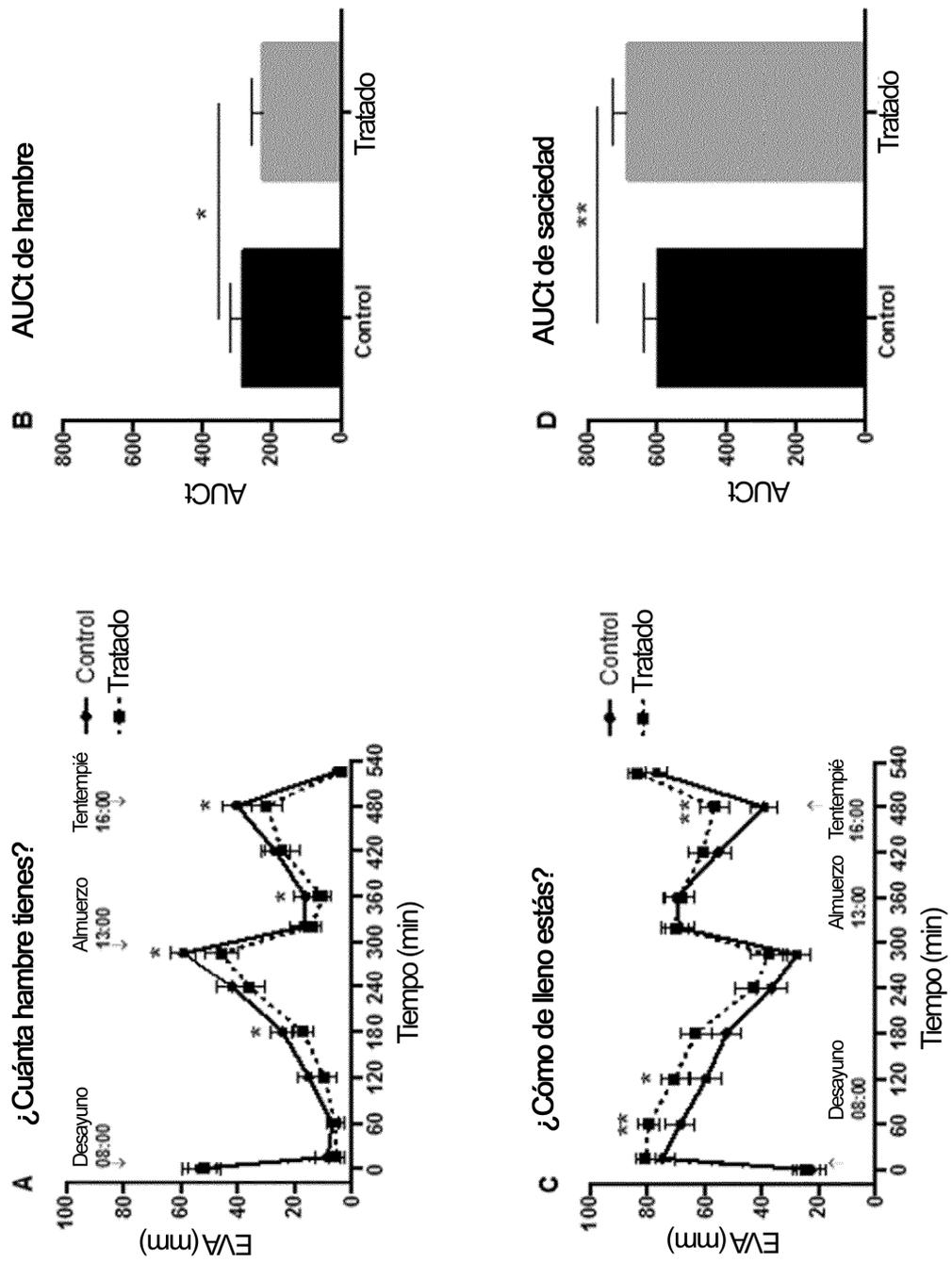


Fig. 6

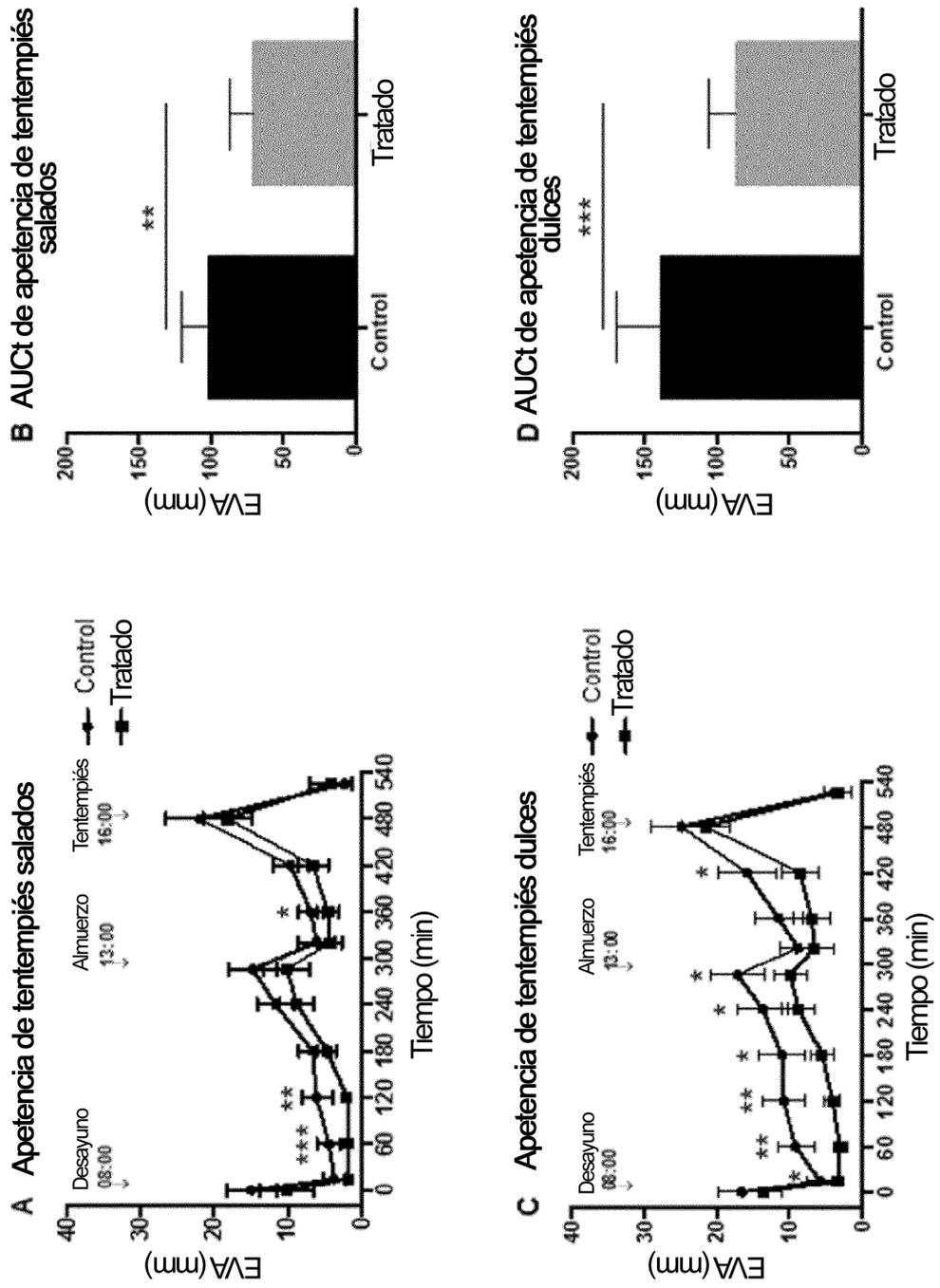


Fig. 7

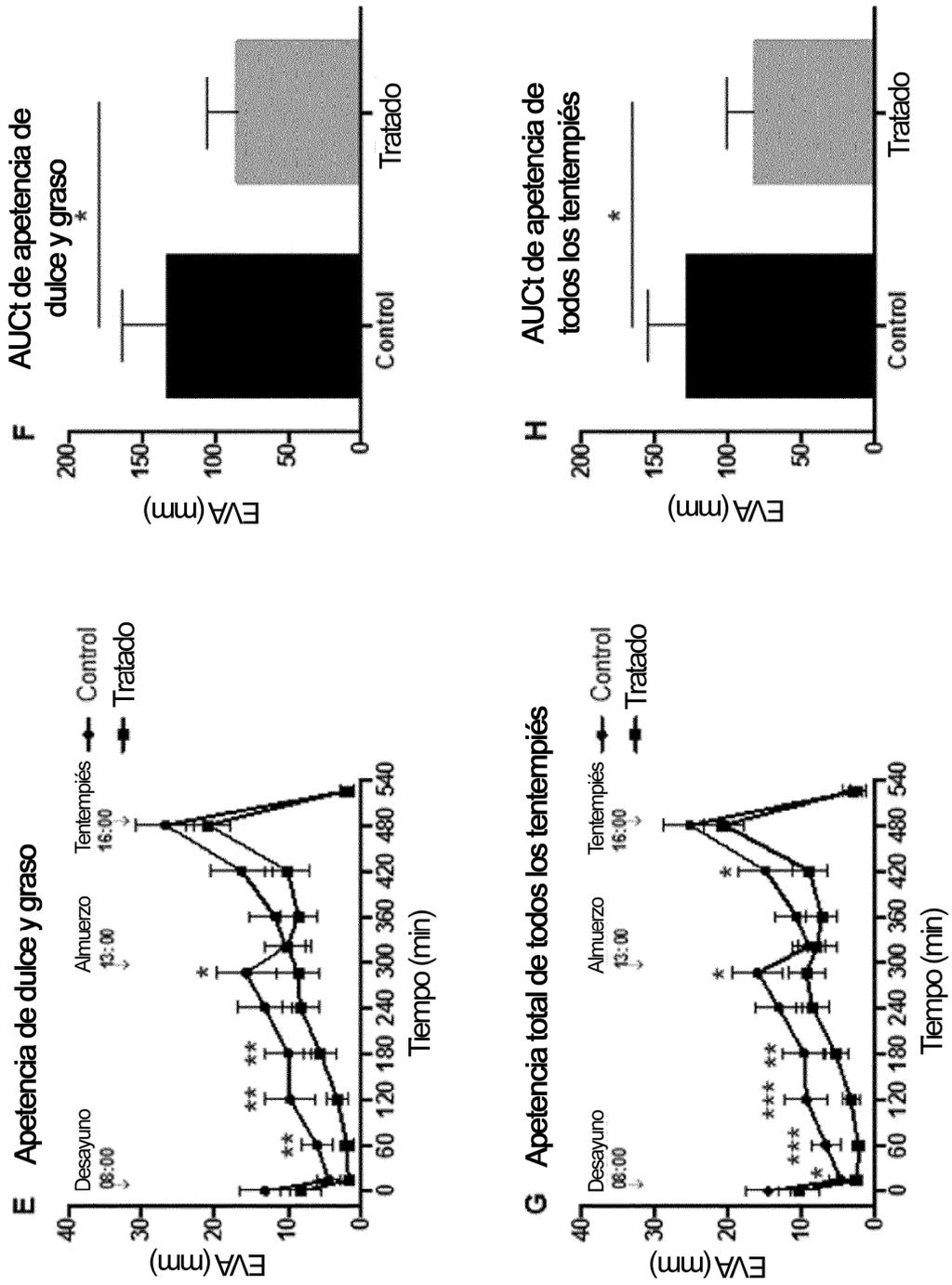


Fig. 7

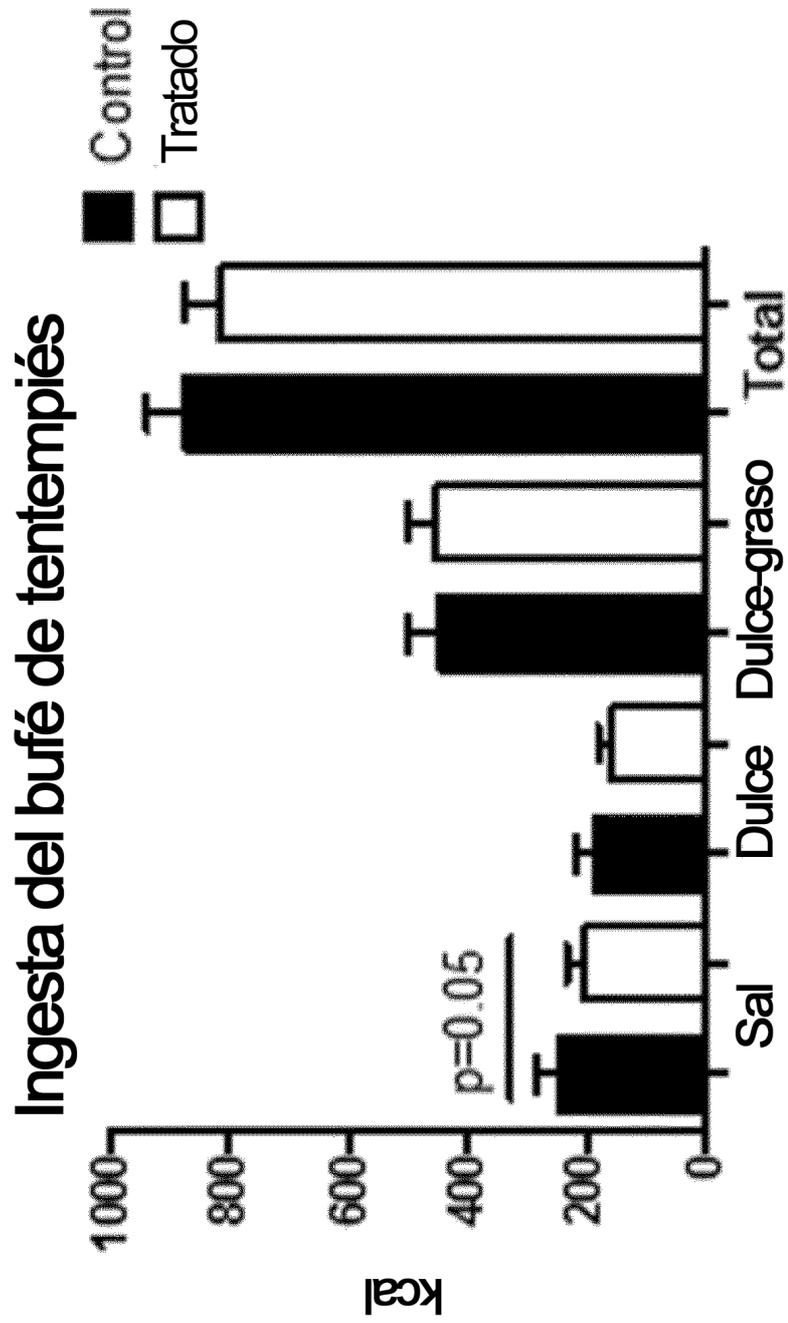


Fig. 8

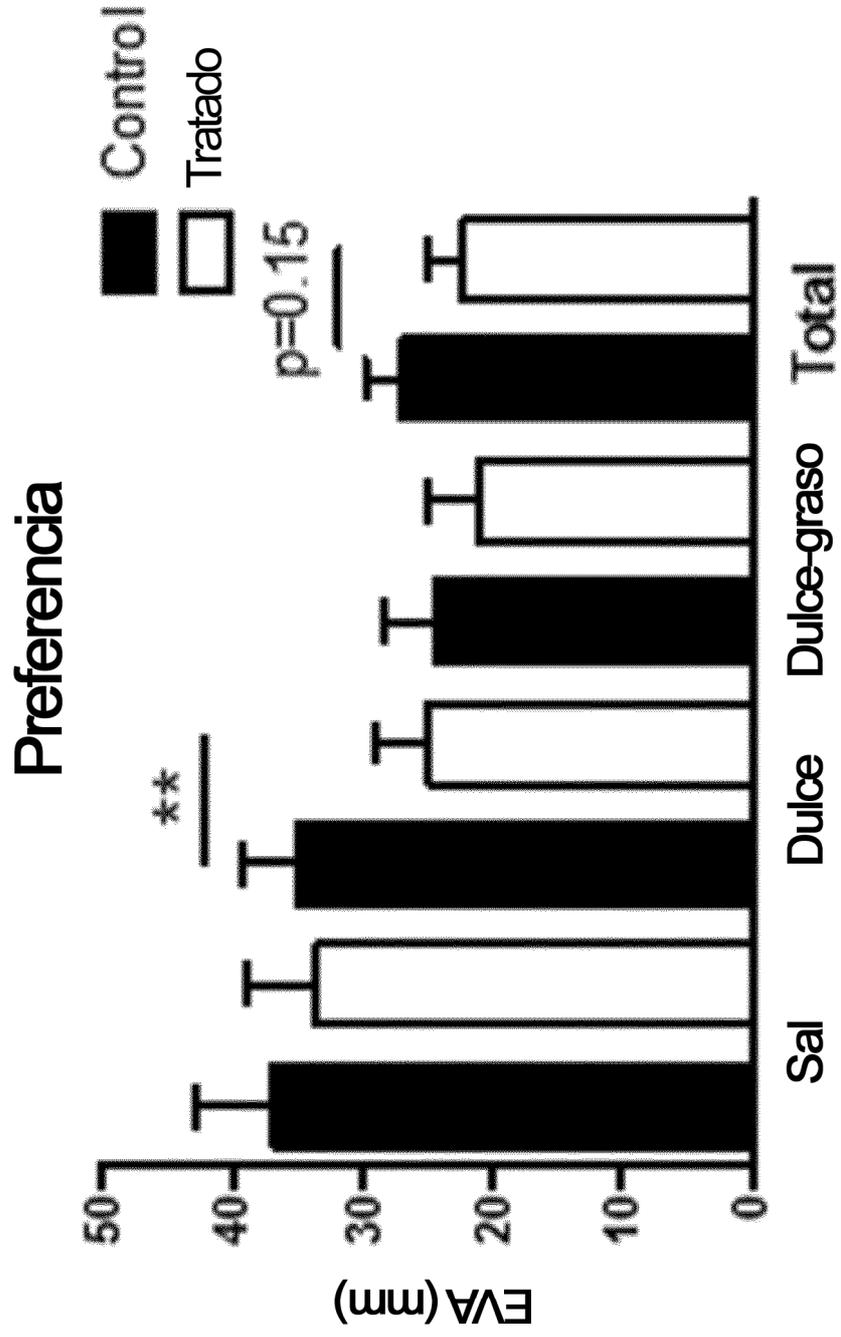


Fig. 9

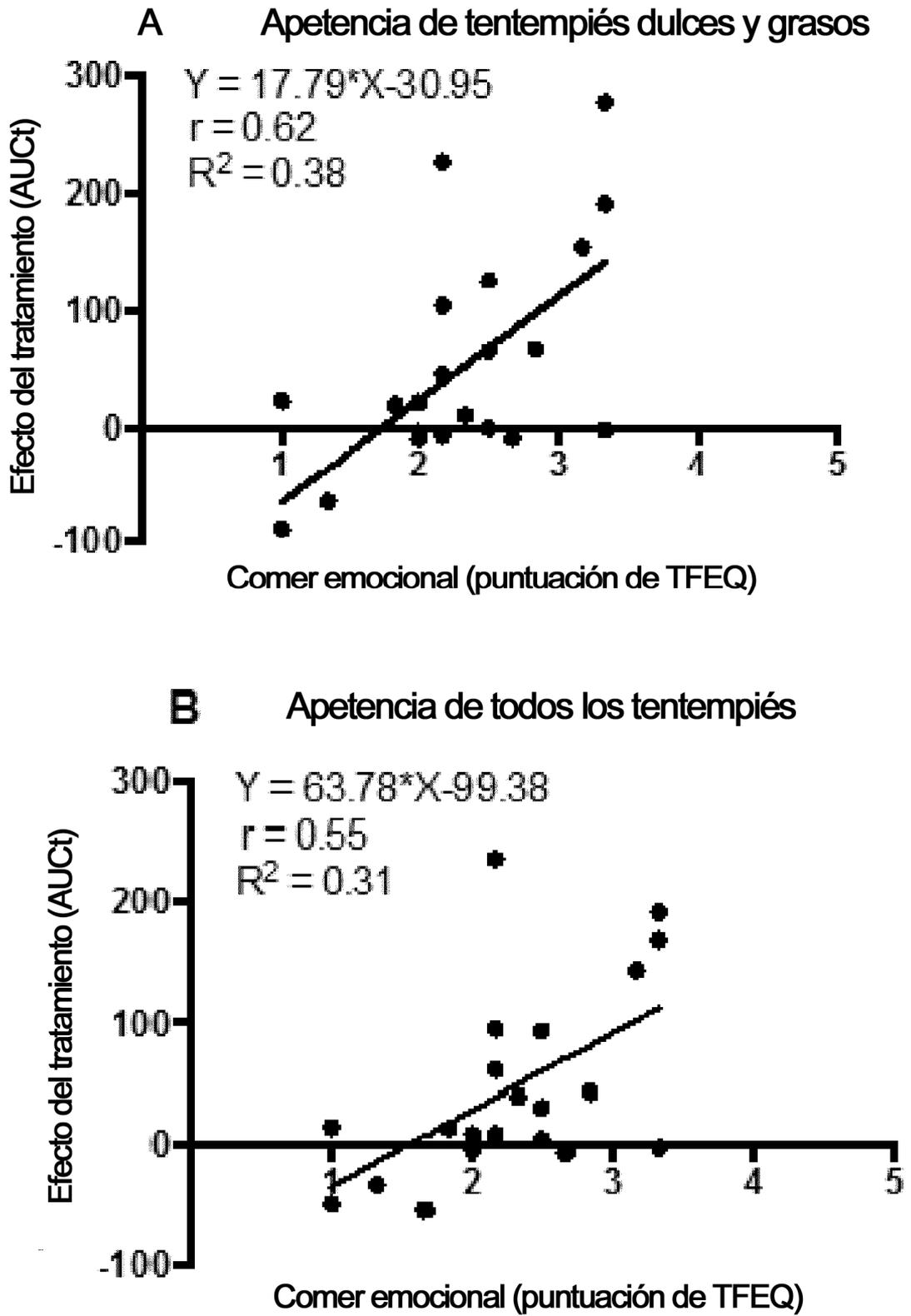


Fig. 11