(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 770 401**

(51) Int. CI.:

A61K 35/74	(2015.01)	***C12N 1/20***	(2006.01)
A61K 35/744	(2015.01)	***C12R 1/23***	(2006.01)
A61K 35/745	(2015.01)	***C12R 1/24***	(2006.01)
A61K 35/747	(2015.01)	***C12R 1/245***	(2006.01)
A61K 35/66	(2015.01)	***C12R 1/25***	(2006.01)
A61K 33/24	(2009.01)	***C12R 1/46***	(2006.01)
A61P 3/04	(2006.01)	***C12R 1/85***	(2006.01)
A61P 3/08	(2006.01)		
A61P 3/10	(2006.01)		
A61P 9/10	(2006.01)		

(12) TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA T3

(86) Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **12.08.2013 PCT/US2013/054553**

(87) Fecha y número de publicación internacional: **27.03.2014 WO14046804**

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **12.08.2013 E 13839430 (9)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **06.11.2019 EP 2898061**

(54) Título: **Composiciones probióticas para el tratamiento de la obesidad y afecciones relacionadas con la obesidad**

(30) Prioridad:

20.09.2012 US 201261703257 P

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
01.07.2020

(73) Titular/es:

PROTHERA, INC. (100.0%)
795 Trademark Drive
Reno, Nevada 89521, US

(72) Inventor/es:

OLMSTEAD, STEPHEN, FRANCIS

(74) Agente/Representante:

ELZABURU, S.L.P

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

Composiciones probióticas para el tratamiento de la obesidad y afecciones relacionadas con la obesidad

Campo de la invención

La presente invención se refiere, en general, a combinaciones de organismos probióticos para el tratamiento de la obesidad, diabetes y afecciones relacionadas con la obesidad. Además, esta invención se refiere a métodos para combinar y usar organismos probióticos para prevenir y tratar la obesidad, la diabetes y enfermedades cardiovasculares.

Antecedentes de la invención

La obesidad, que antes era una afección poco común, ahora es una pandemia. La Organización Mundial de la Salud actualmente estima que 1.4 mil millones de adultos en todo el mundo tienen sobrepeso. De estos, una cifra alarmante de 200 millones de hombres y 300 millones de mujeres son obesos. La obesidad está asociada con una constelación de trastornos fisiológicos tales como resistencia a la insulina, diabetes mellitus tipo 2, hipertensión, dislipidemia, enfermedad cardiovascular y síndrome metabólico. Los costes médicos asociados con la obesidad en EE.UU. se han estimado en 147 mil millones de dólares por año. Se necesitan con urgencia intervenciones seguras y eficaces para combatir los problemas médicos y los costes asociados con la obesidad.

Considerada antes de manera simplista un trastorno causado por un desequilibrio de la ingesta de energía (consumo de calorías) frente al gasto de energía (actividad física/ejercicio), la obesidad ahora se considera un trastorno multifactorial, complejo. Entre otros factores, el mayor uso de jarabe de maíz con alto contenido de fructosa en los Estados Unidos refleja el rápido aumento de la obesidad (Bray et al., 2004). De hecho, estudios en ratas han demostrado que la diabetes tipo II y la hipertensión se pueden inducir con una dieta alta en fructosa (Hwang et al., 1987). La digestión, absorción y metabolismo de la fructosa difieren de los de la glucosa. El metabolismo hepático de la fructosa favorece la lipogénesis nueva. Además, a diferencia de la glucosa, la fructosa no estimula la secreción de insulina ni mejora la producción de leptina. Debido a que la insulina y la leptina actúan como señales clave en la regulación de la ingesta de alimentos y el peso corporal, esto sugiere que la fructosa de la dieta puede contribuir a la mayor ingesta de energía y aumento de peso.

Muchos estudios previos han mostrado que las bacterias probióticas mantienen el crecimiento de colonias de bacterias intestinales beneficiosas, pero también parece que ciertas cepas probióticas beneficiosas también pueden alterar las rutas metabólicas del hospedante para bien. Los organismos microbianos producen sustancias bioactivas que influyen en el metabolismo de carbohidratos y lípidos, y modulan los procesos inflamatorios tanto intestinales como sistémicos. Por lo tanto, ha habido un interés creciente en la identificación de complementos nutricionales y alimentos probióticos que sean eficaces para el control de la obesidad y la diabetes (para una revisión, véase Mallappa et al., 2012). En particular, se necesitan métodos para identificar organismos probióticos que se combinen para producir tratamientos eficaces para estas afecciones graves.

Se sabe desde hace tiempo que la microbiota intestinal extrae energía de sustancias alimenticias que el hospedante no puede digerir. Los componentes alimenticios que escapan a la digestión por enzimas endógenas en el tracto gastrointestinal superior están disponibles como sustratos en el intestino grueso. Estos carbohidratos alimenticios no digeribles incluyen almidón resistente, material de las paredes celulares vegetales y oligosacáridos. Además, varios estudios indican que la fructosa no es absorbida completamente en el intestino delgado; la fructosa no digerida es transportada al intestino grueso, donde es fermentada por la flora del colon. Además, diversas bacterias heterofermentativas son capaces de convertir la fructosa en manitol (Wisselink et al., 2002).

Yadav et al. (2007) estudiaron la progresión de la diabetes tipo II en ratas alimentadas con dietas con alto contenido de fructosa; observaron que una dieta complementada con *Lactobacillus acidophilus* y *Lactobacillus casei* retrasaba la aparición de intolerancia a la glucosa, hiperglucemia e hiperinsulinemia. Andreasen et al. (2010) describieron que una cepa de *Lactobacillus acidophilus* conservaba la sensibilidad a la insulina entre voluntarios con diabetes tipo II, mientras que la sensibilidad a la insulina disminuía en el grupo de placebo. Kadooka et al. (2010) observaron un efecto leve pero estadísticamente significativo de una cepa de *Lactobacillus gasseri* sobre la adiposidad abdominal, peso corporal y otras medidas corporales en adultos con tendencia a la obesidad. Sin embargo, Arora et al. (2012) no encontraron efecto de un solo agente probiótico, *Lactobacillus acidophilus* NCDC 13, sobre la pérdida de peso en sujetos obesos. Además, Murphy et al. (2012) no observaron mejora en los perfiles metabólicos en ratones obesos alimentados con la cepa UCC118 de *Lactobacillus salivarius*.

Los estudios realizados hasta la fecha se han centrado principalmente en especies probióticas individuales. Hasta la fecha, ningún grupo ha descrito un método sistemático para combinar microorganismos probióticos para mejorar la eficacia de las composiciones probióticas. Sin embargo, los autores de la invención han observado que ciertas mezclas de dos o más microorganismos probióticos, si se dan juntas, son más eficaces que las especies individuales. En particular, han encontrado que se puede combinar un microorganismo probiótico que metaboliza carbohidratos por la ruta de Embden-Myerhof (EMP) o una ruta de la fosfocetolasa (PKP) con un microorganismo probiótico que metaboliza carbohidratos por una ruta de la fructosa-6-fosfato (F6PPK) para producir efectos sinérgicos. Estas rutas metabólicas

son conocidas por los expertos en la técnica, pero el uso de rutas metabólicas complementarias para diseñar tratamientos eficaces para la obesidad no se ha descrito en el estado de la técnica.

El documento US 2012/107291 A1 se refiere a bifidobacterias para tratar la diabetes y afecciones relacionadas.

El documento US 2008/0187525 A1 describe formulaciones que incluyen enzimas digestivas y tensioactivos polisorbatos que mejoran la colonización de probióticos y microorganismos administrados.

El documento WO 2007/140621 A1 se refiere a composiciones probióticas que comprenden bacterias probióticas útiles como complemento alimenticio para normalizar la flora gastrointestinal.

Bahadori et al. (*Acta Med. Austriaca*, Vol. 24, No. 5, 1997, pág. 185-187) describen el efecto de la levadura de cromo y el picolinato de cromo en la composición corporal de pacientes obesos no diabéticos durante y después de una dieta de fórmula.

Norris Leigh et al. (*AM J. Clin. Nutr*., Vol. 90, 2009, pág. 468-476) describen una comparación del ácido linoleico conjugado alimenticio con el aceite de cártamo en la composición corporal en mujeres obesas posmenopáusicas con diabetes mellitus tipo 2.

En resumen, no se ha cubierto la necesidad de métodos, composiciones, etc. mejorados que puedan prevenir el aumento de peso y mejorar uno o más síntomas y signos asociados con la obesidad. Las intervenciones dietéticas y/o farmacéuticas eficaces para estas afecciones podrían tener un gran impacto en la salud pública. Los presentes sistemas y métodos, etc., proporcionan estas y/u otras ventajas.

Objetos de la invención

Un objeto de la presente invención es proporcionar mezclas de microorganismos probióticos que sean seguras y eficaces para prevenir el aumento de peso y para el tratamiento de la obesidad, diabetes, hipertensión y enfermedades cardiovasculares.

Otro objeto de la invención es enseñar métodos para combinar microorganismos probióticos para crear composiciones sinérgicas.

Estos y otros objetos de la presente invención se harán más evidentes a partir de la descripción y ejemplos que siguen.

Resumen de la invención

En un aspecto, las composiciones de la presente memoria se dirigen a proporcionar composiciones probióticas que son capaces de mantener o reducir el peso corporal o el índice de masa corporal (IMC), prevenir o tratar la obesidad y/o afecciones relacionadas con la obesidad. Las composiciones también se pueden usar para prevenir el aumento de peso excesivo durante el embarazo.

Las composiciones y formulaciones proporcionadas en la presente memoria se pueden usar como complementos alimenticios o como aditivos alimentarios o como agentes farmacéuticos o de otro modo, según se desee, para lograr estos objetivos.

Las composiciones se pueden usar como complementos alimenticios, aditivos de alimentos y bebidas, y como agentes farmacéuticos para reducir los síntomas de obesidad, diabetes y/o afecciones relacionadas con la obesidad en un ser humano que lo necesite.

La inclusión de un primer microorganismo probiótico que metaboliza los carbohidratos por una ruta homofermentativa o heterofermentativa (EMP o PKP) y un segundo microorganismo probiótico que metaboliza los carbohidratos por una ruta de la fructosa-6-fosfato (F6PPK) es esencial para esta invención. El primer microorganismo puede ser una bacteria de ácido láctico homofermentativa o heterofermentativa de una especie de *Lactobacillus.*

En una realización adicional, las composiciones, etc., se proporcionan en cápsulas u otros formatos de administración adecuados, y una sola cápsula proporciona una ración o dosis completa. En términos generales, una ración es una cantidad individual completa de alimento o bebida. Los complementos nutricionales y similares se consideran típicamente alimentos, y por lo tanto en la presente memoria el término "ración" es el término usado para una porción completa de complemento, que puede ser, por ejemplo, 1 cápsula, 1/4 cucharadita o 6 comprimidos. La dosis es una cantidad completa de medicamento que se debe tomar en una vez. Como se usa en la presente memoria, ambos indican una porción completa que debe tomar o se debe administrar a un receptor en una sola vez.

En general, los rendimientos probióticos son de 100-450 mil millones de unidades formadoras de colonias (UFC) por gramo. En un ejemplo, cada ración o dosis comprende al menos aproximadamente mil millones y hasta 50 mil millones de unidades formadoras de colonias (UFC) de microorganismos activos por ración de 1 cápsula. Para dosis de raciones más altas, se pueden usar polvos. Por ejemplo, Ther-Biotic Complete Powder (ProThera, Inc.) tiene 400 mil millones de UFC por cucharadita.

En una realización adicional, el primer microorganismo es uno o más de *Lactobacillus acidophilus (L. acidophilus), L. brevis, L. bulgaricus, L. casei, L. crispatus, L. curvatus, L. fermentum, L. gasseri, L. helveticus, L. johnsonii, L. paracasei, L. pentosus, L. plantarum, L. reuteri, L. rhamnosus, L. salivarius, L. sakei;* y el segundo microorganismo es uno o más de *B. bifidum, B. breve, B. lactis, B. longum* o *B. infantis,* y el tercer microorganismo es uno o más especies de estreptococos (p. ej. *Streptococcus thermophilic*) o Leuconostoc (p. ej. *Leuconostoc mesenteroides* (y subespecies de la misma, tales como *Leuconostoc pseudomesenteroides* y *Leuconostoc mesenteroides* ssp. *Cremoris)).*

En una realización, los tres microorganismos se combinan con uno o más probióticos adicionales. El probiótico adicional puede ser cualquier microorganismo que tenga un efecto beneficioso en la obesidad y/o afecciones relacionadas con la obesidad. Típicamente, el probiótico adicional es uno o más de: *Lactobacillus acidophilus, L. brevis, L. bulgaricus, L. casei, L. crispatus, L. curvatus, L. fermentum, L. gasseri, L. helveticus, L. johnsonii, L. paracasei, L. humans paraplantarum, L. pentosus, L. plantarum, L. reuteri, L. rhamnosus, L. salivarius, L. sakei, B. animalis, B. bifidum, B. breve, B. lactis, B. longum, B. infantis, Streptococcus thermophilus*, *Saccharomyces boulardii* y *Saccharomyces cereviseae.*

En una realización adicional, la composición puede ser un complemento alimenticio que se administra como un polvo seco, un comprimido, una cápsula de hidroxipropilmetilcelulosa o una cápsula de gelatina. Los métodos de ejemplo para encapsulación de probióticos se pueden encontrar, p. ej., en la solicitud de patente de EE.UU. 2007/0122397.

En una realización adicional, la composición se puede proporcionar dentro de un alimento o bebida adecuada para consumo humano. Para el propósito de esta invención, los productos de alimentos y bebidas de ejemplo incluyen un producto a base de cereales, pastel de arroz, pastel de soja, producto de barrita nutritiva, producto de barrita nutritiva conformada en frío, natillas, pudin, gelatina, leche de arroz, leche de soja, leche de almendras, yogur, kéfir, zumo, producto de puré de frutas, caramelo, chocolatina y compota de manzana.

En una realización, ninguno de los organismos probióticos en la composición se han se propagado o cultivado o se propagan o cultivan en medios que contienen caseína o gluten.

En una realización adicional, la composición puede ser una composición farmacéutica, sujeta a la aprobación de la FDA. Las composiciones farmacéuticas, cápsulas, etc., en la presente memoria están contenidas en un recipiente farmacéuticamente aceptable. Como composición farmacéutica, el producto se puede comercializar y dispensar junto con la descripción escrita, folleto, ficha de información, catálogo o etiqueta que explica que el producto puede reducir uno o más síntomas de la obesidad y/o el producto está exento de caseína y gluten. En una realización adicional, el producto se comercializa junto con una descripción escrita, folleto, ficha de información, catálogo o etiqueta que explica que el producto es hipoalergénico. La etiqueta puede ser una etiqueta aprobada por la FDA.

La composición nutricional y/o farmacéutica que es objeto de la presente invención puede comprender además al menos un agente prebiótico que promueve el crecimiento de microorganismos probióticos en el tracto gastrointestinal. El agente prebiótico puede comprender al menos uno de un fructooligosacárido, galactooligosacárido, lactulosa, beta-glucano, inulina, pectina y almidón resistente.

La composición nutricional y/o farmacéutica puede comprender además isómeros de ácido linoleico conjugado (CLA), que contienen dobles enlaces conjugados. El ácido linoleico conjugado (CLA) es un grupo de ácidos grasos poliinsaturados que se encuentran en la carne de vaca, cordero y productos lácteos, que existen como isómeros de posición y estereoisómeros del octadecadienoato (18:2) (Caescu et al., 2004). Se han atribuido varios beneficios para la salud al CLA en modelos animales experimentales, que incluyen acciones para reducir la carcinogénesis, aterosclerosis, aparición de diabetes y masa de grasa corporal. Los isómeros de CLA más bioactivos son cis-9, trans-11, trans-10 y cis-12.

La composición nutricional y/o farmacéutica además puede contener cromo. El cromo, como complemento nutricional, se usa para mejorar el control de azúcar en la sangre en personas con prediabetes, diabetes tipo 1 y tipo 2, y niveles altos de azúcar en la sangre debido a la toma de esteroides. Dos formas de cromo de fácil absorción son el polinicotinato de cromo o picolinato de cromo o histidinato de cromo. Como un ejemplo, las composiciones contempladas en la presente memoria pueden contener polinicotinato de cromo en una dosis de aproximadamente 500-1000 µg por cápsula o dosis.

La afección relacionada con la obesidad que es el objeto de la invención puede ser una o más de hiperglucemia, resistencia a la insulina, diabetes, hipertrigliceridemia, hipercolesterolemia, aterosclerosis, angina de pecho, oclusión arterial, infarto de miocardio y/o accidente cerebrovascular.

Además, las composiciones de la invención se pueden usar para mejorar o prevenir el aumento de peso excesivo durante el embarazo. El Instituto de Medicina recomienda un aumento de peso de 11.3-15.9 kg (25-35 libras) para mujeres de peso normal, 12.7-18.1 kg (28-40 libras) para las consideradas de peso inferior al normal, 6.8-11.3 kg (15-25 libras) para mujeres con sobrepeso y no más de 6,8 kg (15 libras) para mujeres obesas. Una mujer con un IMC (índice de masa corporal) normal de 20-25 debe intentar seguir este programa de aumento de peso:

Semanas totales	Aumento acumulado	Ejemplo (mujer de (63.5 kg (140 libras))
15 semanas	0.9-2.3 kg (2-5 libras)	Peso total: 64.4-65.8 kg (142-145 libras)

20 semanas	2.7-5.0 kg (6-11 libras)	Peso total: 66.2-68.5 kg (146-151 libras)
25 semanas	5.0-7.7 kg (11-17 libras)	Peso total: 68.5-71.2 kg (151-157 libras)
30 semanas	7.3-10.4 kg (16-23 libras)	Peso total: 70.8-73.9 kg (156-163 libras)
35 semanas	9.1-12.7 kg (20-28 libras)	Peso total: 72.6-76.2 kg (160-168 libras)
40 semanas	11.3-15.9 kg (25-35 libras)	Peso total: 74.8-79.4 kg (165-175 libras)
		(Conversión: 1 libra = 0.4536 kg)

Por lo tanto, "aumento de peso excesivo" se puede definir como aumento de peso que supera las directrices mostradas antes.

Las composiciones se pueden usar para mejorar o prevenir la diabetes gestacional. La diabetes gestacional se define como "cualquier grado de intolerancia a la glucosa con inicio o primer reconocimiento durante el embarazo" (Metzger et al., 1998).

En otros aspectos más, esta solicitud se dirige a composiciones aisladas y purificadas como se describe en la presente memoria para usar en la fabricación de un medicamento para reducir o mantener el índice de masa corporal (IMC) o para inhibir, prevenir o tratar la obesidad o una afección relacionada con la obesidad, así como a métodos de fabricación de dichos medicamentos, que pueden comprender combinar una cantidad farmacéuticamente eficaz de la composición y una cápsula, comprimido, polvo o líquido farmacéuticamente aceptable.

Estos y otros aspectos, características y realizaciones se exponen dentro de esta aplicación, incluyendo la siguiente Descripción detallada. A menos que se indique expresamente lo contrario, todas las realizaciones, aspectos, características, se pueden mezclar y emparejar, combinar y permutar de cualquier manera deseada.

Descripción detallada de la invención

El índice de masa corporal (IMC) (calculado como el peso en kilogramos dividido entre el cuadrado de la altura en metros) es la medida más comúnmente aceptada para el sobrepeso y/o la obesidad. En adultos, un IMC superior a 25 se considera sobrepeso, mientras que la obesidad se define como un IMC de 30 o más, con un IMC de 35 o más considerado como comorbilidad grave y un IMC de 40 o más considerado obesidad mórbida. Para los propósitos de esta invención, "obesidad" significará un IMC de 30 o más.

Una de cada cinco personas con sobrepeso está afectada por el "síndrome metabólico". El síndrome metabólico es uno de los problemas de salud relacionados con la obesidad que está creciendo más rápido en los Estados Unidos y se caracteriza por un conjunto de problemas de salud que incluyen obesidad, hipertensión, niveles anormales de lípidos y niveles altos de azúcar en la sangre. Según los Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades (CDC), el síndrome metabólico afecta a casi una cuarta parte (22 por ciento) de la población estadounidense, un valor estimado de 47 millones de personas. El conjunto de problemas caracterizados por comprender el síndrome metabólico puede aumentar el riesgo del paciente de desarrollar problemas de salud más graves, tales como diabetes, cardiopatías y accidentes cerebrovasculares.

Las personas con sobrepeso y obesidad tienen una mayor incidencia de cardiopatías y, por lo tanto, son víctimas de ataques cardiacos, insuficiencia cardiaca congestiva, muerte súbita cardiaca, angina y ritmo cardiaco anormal, con mayor frecuencia que los que mantienen un índice de masa corporal saludable. La obesidad a menudo aumenta el riesgo de cardiopatía debido a su efecto negativo en los niveles de lípidos en la sangre, que aumentan en pacientes obesos y después, a su vez, aumentan los niveles de triglicéridos y disminuyen las lipoproteínas de alta densidad, que también se conocen como HDL. Las personas con una cantidad excesiva de grasa corporal tienen niveles más altos de triglicéridos y lipoproteínas de baja densidad, que también se conocen como LDL o "colesterol malo", así como niveles más bajos de colesterol HDL en la sangre. Esta combinación crea condiciones óptimas para desarrollar cardiopatía aterosclerótica.

Tener sobrepeso u obesidad aumenta el riesgo de desarrollar presión arterial alta. La hipertensión, o presión arterial alta, aumenta mucho el riesgo de ataque cardiaco, accidente cerebrovascular e insuficiencia renal. De hecho, la presión arterial aumenta a medida que aumenta el peso corporal. Perder incluso 4,5 kg (10 libras) puede reducir la presión arterial, y perder peso tiene el mayor efecto en las personas con sobrepeso y que ya tienen hipertensión.

La obesidad está asociada con el desarrollo de diabetes. Más de 80 por ciento de las personas con diabetes tipo 2, la forma más común de la enfermedad, son obesas o tienen sobrepeso. La diabetes tipo 2 se desarrolla cuando está alterada la producción de insulina por el páncreas en el contexto de resistencia a la insulina en los tejidos y órganos del cuerpo. Puesto que la obesidad disminuye la capacidad de la insulina para controlar el azúcar en la sangre (glucosa), existe un riesgo mayor de desarrollar diabetes porque el cuerpo empieza a producir insulina en exceso para regular los niveles de azúcar en la sangre. Con el tiempo, el cuerpo ya no puede mantener los niveles de azúcar en la sangre en el intervalo normal. Finalmente, la incapacidad para lograr el equilibrio de azúcar en la sangre saludable da como resultado el desarrollo de diabetes tipo 2. Además, la obesidad complica la atención y tratamiento de la diabetes tipo 2 al aumentar la resistencia a la insulina y la intolerancia a la glucosa, lo que hace que el tratamiento farmacológico para la enfermedad sea menos eficaz. En muchos casos, una reducción del peso corporal a un intervalo normal

normaliza la glucosa en la sangre y restablece la sensibilidad a la insulina.

La obesidad infantil también es un problema de salud pública importante, en particular en los países occidentales. Los niños de 2-18 años de edad se consideran obesos si el IMC es mayor del percentil 95. A pesar de las políticas dirigidas a reducir su prevalencia, la obesidad infantil se ha más que duplicado en niños y triplicado en adolescentes en los últimos 30 años. Al igual que con los adultos, la obesidad en la infancia causa hipertensión, dislipidemia, inflamación crónica, mayor tendencia a la coagulación de la sangre, disfunción endotelial e hiperinsulinemia. Este grupo de factores de riesgo de enfermedad cardiovascular se ha identificado en niños de hasta 5 años de edad. Por lo tanto, existe una necesidad urgente de intervenciones eficaces seguras, que incluyen intervenciones nutricionales, para combatir la epidemia de la obesidad en niños, así como en adultos.

Las presentes composiciones, medicamentos, terapias, sistemas, se dirigen a la prevención, inhibición y tratamiento de la obesidad y afecciones relacionadas con la obesidad. Dichas afecciones relacionadas con la obesidad se seleccionan del grupo que consiste en resistencia a la insulina, hiperglucemia, diabetes, hipertrigliceridemia, aterosclerosis, angina de pecho, infarto de miocardio y/o accidente cerebrovascular.

Composiciones probióticas

Los "probióticos" dentro del contexto de la presente invención se usan de acuerdo con su significado habitual, por ejemplo como complementos alimenticios microbianos viables seleccionados que, cuando se introducen en cantidades suficientes, afectan de forma beneficiosa al organismo humano a través de sus efectos en el tracto gastrointestinal (Holzapfel et al., 2001; Holzapfel y Schillinger, 2002). La FAO/OMS ha adoptado la definición de probióticos como "microorganismos vivos que cuando se administran en cantidades adecuadas confieren un beneficio para la salud en el hospedante" (directrices de la FAO/OMS, 2002). Estas bacterias beneficiosas se pueden encontrar, por ejemplo, en la leche o en las fábricas de procesamiento de leche, plantas vivas o en descomposición, y también en los intestinos del hombre y animales.

Actualmente, los probióticos mejor estudiados son las bacterias del ácido láctico, en particular *Lactobacillus* spp. y *Bifidobacterium* spp. *Lactobacillus* es un género de bacterias anaerobias facultativas Gram positivas. El género *Lactobacillus* actualmente comprende más de 100 especies y abarca una amplia variedad de organismos. Son comunes y normalmente benignos. En seres humanos, están presentes en la vagina y el tracto gastrointestinal, donde son simbióticos y constituyen una pequeña parte de la flora intestinal (Tannock, 1999). Los lactobacilos que se han usado en seres humanos incluyen *L. acidophilus, L. salivarius, L. johnsonii, L. casei, L. lactis, L. reuteri, L. plantarum, L. rhamnosus, L. brevis, L. gasseri,* y otras especies y subespecies. El uso de especies de *Lactobacillus* en seres humanos se ha revisado ampliamente en la bibliografía científica, incluyendo las referencias proporcionadas en la presente memoria. Estos ingredientes están fácilmente disponibles en proveedores comerciales, que incluyen Danisco-Dupont (EE.UU.); Chr. Hansen (Dinamarca); Institut Rosell Lallemand (Montreal, Canadá); y otros. Las especies y cepas de ejemplo de *Lactobacillus* para la presente invención incluyen las siguientes cepas bien conocidas: *L. acidophilus* NCFM, *L. acidophilus* La-14, *L. bulgaricus* Lb-64, *L. brevis* Lbr-35, *L. casei* Lc-11, *L. lactis* Ll-23, *L. plantarum* Lp-115, *L. paracasei* Lpc-37, *L. rhamnosus* Lr-32 y *L. salivarius* Ls-33, que son bien conocidas por los expertos en la técnica.

Bifidobacterium es un género de bacterias anaerobias Gram positivas, que actualmente comprende 31 especies caracterizadas, 11 de las cuales se han detectado en heces humanas (Tannock, 1999). Las bifidobacterias son bacterias en forma de varillas irregulares o ramificadas, Gram positivas, que se encuentran habitualmente en los intestinos de seres humanos y la mayoría de los animales e insectos. Las cepas probióticas de *Bifidobacterium* que son útiles para la presente invención incluyen, pero no se limitan a las siguientes cepas que son bien conocidas por los expertos en la técnica: *B. breve* Bb-03, *B. lactis* Bi-07 y Bi-04, *B. longum* Bi-05.

Leuconostoc es un género de bacterias Gram positivas, que están dentro de la familia de las Leuconostocaceae. Todas las especies dentro de este género son heterofermentativas. *Leuconostoc,* junto con otras bacterias del ácido láctico tales como *Pediococcus* y *Lactobacillus,* es responsable de la fermentación de la col que hace chucrut. Para los fines de la presente invención, una cepa de ejemplo de *Leuconostoc* es *L. mesenteroides* ATCC 13146.

Metabolismo de carbohidratos en bacterias del ácido láctico

Las bacterias del ácido láctico (LAB) son capaces de generar energía por metabolismo homo o heterofermentativo de azúcares. Durante el crecimiento anaeróbico de LAB homofermentativas obligadas en presencia de sustrato en exceso, las fuentes de energía como la glucosa se convierten en piruvato por la ruta de Embden-Meyerhoff-Parnas, y el piruvato es metabolizado más a lactato (véase Figura 1). Las LAB homofermentativas incluyen la mayoría de las especies de enterococos, lactococos, pediococos, estreptococos, tetragenococos y vagococos.

Los primeros trabajos demostraron que las enzimas fructosa-1,6-bisfosfato aldolasa (EC 4.1.2.13) e isomerasa estaban ausentes en los organismos heterofermentativos, sugiriendo que la ruta no sigue el patrón habitual de glucólisis de Embden-Meyerhof (DeMoss et al., 1951). A medida que se realizaron más investigaciones, se comprendió que estos organismos usan una ruta diferente, llamada ruta de la fosfocetolasa (PKP; EC 4.1.2.9), que produce cantidades equimolares de CO_2, lactato y acetato-etanol (Fig. 2).

Las LAB heterofermentativas se pueden dividir en especies heterofermentativas obligadas, en las que tanto las hexosas como las pentosas son fermentadas por la ruta de PKP, y los organismos heterofermentativos facultativos, que degradan las hexosas por la ruta de Embden-Meyerhoff-Parnas y las pentosas por la PKP. Muchas de las enzimas usadas en esta última ruta son compartidas con la ruta de las pentosas fosfato.

La xilulosa-5-fosfato fosfocetolasa (XPK; EC 4.1.2.9) es la enzima central de la PKP de bacterias del ácido láctico heterofermentativas y homofermentativas facultativas. La XPK prefiere la xilulosa-5-fosfato a la fructosa-6-fosfato. En presencia de fosfato inorgánico esta enzima convierte la xilulosa-5-fosfato (X5P) en gliceraldehído-3-fosfato y acetilfosfato. Algunos taxones que se sabe que tienen la ruta de PKP incluyen *Lactobacillus brevis, Lactobacillus buchneri, Lactobacillus casei, Lactobacillus fermentum, Lactobacillus reuteri, Leuconostoc lactis, Leuconostoc mesenteroides, Leuconostoc mesenteroides* ssp. *cremoris,* y algunas especies de *Weissella.*

Los lactobacilos se pueden agrupar en una de estas categorías:

1) Homofermentativo obligado (Grupo I) que incluye: *L. acidophilus, L. delbrueckii, L. helveticus, L. salivarius*

2) Heterofermentativo facultativo (Grupo II) que incluye: *L. casei, L. curvatus, L. plantarum, L. sakei*

3) Heterofermentativo obligado (Grupo III) que incluye: *L. brevis, L. buchneri, L. fermentum, L. reuteri*

Las bifidobacterias se consideran comensales clave en interacciones de ser humano-microbio y contribuyen a la degradación de los polisacáridos no digeridos en el colon humano (Suzuki et al., 2010). Las bifidobacterias usan una ruta única de catabolismo de hexosas que produce principalmente acetato y lactato (de Vries y Stouthamer, 1967). Esta ruta de fermentación, que se conoce como "ruta bífida" ("Bifid shunt") o la "ruta de la fructosa-6-fosfato" produce 3 moles de acetato y 2 moles de lactato por 2 moles de glucosa, con la producción de 5 moles de ATP. La enzima clave en la ruta es la xilulosa-5-fosfato fosfocetolasa/fructosa-6-fosfato fosfocetolasa (Xfp; EC 4.1.2.22), que cataliza dos etapas importantes: división de D-fructosa-6-fosfato en D-eritrosa-4-fosfato y acetilfosfato, y división de D-xilulosa-5-fosfato en D-gliceraldehído-3-fosfato y acetilfosfato. Esta enzima se ha usado a menudo como herramienta en la identificación de bifidobacterias. Más recientemente, dichas enzimas de especificidad de sustrato doble se han encontrado en otros organismos que incluyen *Leuconostoc mesenteroides* y *Lactobacillus paraplantarum* (Lee et al. 2005; Jeong et al., 2007).

Además, *Bifidobacterium longum,* que metaboliza la fructosa intracelular por la ruta de la fructosa-6-P fosfocetolasa, contiene una fructoquinasa (Frk; EC 2.7.1.4) (Caescu et al. 2004). También se han encontrado fructoquinasas en *Leuconostoc mesenteroides, Leuconostoc pseudomesenteroides, Lactobacillus plantarum* y *Lactococcus lactis.* La presencia de fructoquinasa permite que estos organismos crezcan usando fructosa como una fuente única de carbono. Además, se sabe que una serie de bacterias de ácido láctico (LAB) heterofermentativas, levaduras y hongos filamentosos convierten la fructosa en manitol en cantidades significativas, incluyendo *Leuconostoc mesenteroides.* La reducción de fructosa a manitol en bacterias del ácido láctico heterofermentativas es catalizada por una manitol deshidrogenasa ligada a NADH (EC 1.1.1.67) (Wisselink et al., 2002; Saha y Racine, 2011).

En la práctica clínica los autores de la invención han descubierto que ciertas combinaciones de bacterias del ácido láctico, si se administran juntas, son mucho más eficaces que si se administra sola cualquiera de las especies. La base de la presente invención es la observación de que las composiciones que comprenden dos o más organismos probióticos, con diferentes rutas de metabolismo de carbohidratos, producen resultados sinérgicos con respecto a la pérdida de peso y la diabetes. Específicamente, han descubierto que los productos de combinación que contienen al menos una especie de *Lactobacillus* y al menos una especie de *Bifidobacterium* o *Leuconostoc* son eficaces en el tratamiento de la obesidad, diabetes y afecciones relacionadas con la obesidad.

Nadie ha reconocido previamente que se pueden usar distintas rutas metabólicas de carbohidratos para diseñar composiciones sinérgicas para el tratamiento de la obesidad. Sin estar limitados por la teoría, los autores de la invención proponen que los efectos beneficiosos de sus composiciones pueden ser resultado del metabolismo eficiente de los carbohidratos por la acción combinada de estas especies particulares; de la combinación de ácidos grasos de cadena corta u otros metabolitos producidos por las especies complementarias; o por otro mecanismo.

Tabla 1. Composiciones para el tratamiento de la obesidad y diabetes

Composición	*Lactobacillus* sp. (por cápsula o ración)	*Bifidobacterium* sp. (por cápsula o ración)	Otras sp. (por cápsula o ración)
Composición 1	*L. acidophilus, L. rhamnosus, L. casei, L. plantarum, L. salivarius* (2.5+ mil millones de UFC de cada)	*B. bifidum, B. longum, B. lactis, B. breve (1.0+ mil millones de UFC de cada)*	*Streptococcus thermophilus (1.O+ mil millones de UFC)*
Composición 2 (Comparativa)	*L. rhamnosus, L. casei, L. salivarius, L. paracasei* (2.0+ mil millones de UFC de cada)	*B. bifidum, B. longum, B. breve, B. infantis* (2.0+ mil millones de UFC de cada)	

Composición 3 (Comparativa)	*L. acidophilus, L. rhamnosus,* L. brevis (1.0+ mil millones de UFC de cada)	*B. bifidum, B. lactis,* B. infantis (1.0+ mil millones de UFC de cada)	
Composición 4	*L. acidophilus, L. rhamnosus* (1.5+ mil millones de UFC de cada)	*B. bifidum, B. lactis* (1.5+ mil millones de UFC de cada)	*Leuconostoc mesenteroides* (1.0+ mil millones de UFC)
Composición 5 (Comparativa)	*L. acidophilus,* 2.5+ mil millones de UFC	*B. bifidum,* 2.5+ mil millones de UFC	-
Composición 6 (Comparativa)	*L. acidophilus, L. rhamnosus,* 1.25+ mil millones de UFC de cada	*B. bifidum, B. lactis,* 1.25+ mil millones de UFC de cada	-
Composición 7	*L. acidophilus* (6.3+ mil millones de UFC), L. rhamnosus (9.4+ mil millones de UFC), L. bulgaricus (1.5+ mil millones de UFC)	*B. bifidum,* 6.3+ mil millones de UFC	*Streptococcus thermophilus* 1.5+ mil millones de UFC
Composición 8 (Comparativa)	*L. rhamnosus, L. casei, L. salivarius, L. paracasei* (17+ mil millones de UFC de especies de *Lactobacillus* combinadas)	*B. bifidum, B. longum, B. breve, B. infantis* (8+ mil millones de UFC de especies de *Bifidohacterium* combinadas)	-
Composición 9 (Comparativa)	*L. acidophilus, L. rhamnosus, L. paracasci* (100+ mil millones de UFC de especies de *Lactobacillus* y *Bifidobacterium* combinadas)	*B. bifidum, B. longum, B. lactis*	-
Composición 10	*L. acidophilus* (1.85+ mil millones de UFC), *L. rhamnosus, L. bulgaricus, L. brevis, L. casei, L. salivarius, L. plantarum* (4.9+ mil millones de UFC combinadas con S. *thermophilus)*	B. bifidum (0.70+ mil millones de UFC), B. lactis	Streptococcus thermophilus
Composición 11 (Comparativa)	*L. rhamnosus* (2.5+ mil millones de UFC)	*B. bifidum, B. breve* (1.25+ mil millones de UFC)	*Saccharomyces boulardii* (5.0+ mil millones de UFC)

Ejemplo 1

Un hombre de 47 años se presenta para evaluación de obesidad. Ha estado aumentando de peso desde los 40 años. Pesa 127 kg (280 libras) y mide 180 cm (5 pies 11 pulgadas) de alto con un índice de masa corporal (IMC) de 39. Su presión arterial es 140/90. En el análisis de laboratorio es destacable una glucemia en ayunas de 136 mg/dl y triglicéridos de 220 mg/dl. Se recomienda una dieta que consiste en alto contenido de proteínas, reducida en carbohidratos refinados y 2200 calorías al día. Se prescribe un programa mínimo de ejercicio aeróbico de 4 días por semana. Se da al paciente una fórmula probiótica de multiespecies *Bifidobacterium*/*Lactobacillus*, (Composición 1; véase la Tabla 1) en la cantidad de dos cápsulas al día que se deben tomar con las comidas. En la visita de seguimiento del paciente después de 3 meses, su peso es de 105 kg (232 libras) con un IMC de 32.4. Su presión arterial ahora es 130/84 y la glucosa y triglicéridos son normales. Se le aconseja que continúe con la dieta, ejercicio y probióticos. Cuando lo vuelven a ver en 6 meses, pesa 85.7 kg (189 libras) con un IMC de 26.8.

Ejemplo 2

Una mujer de 62 años se presenta para evaluación de obesidad. Pesa 86.6 kg (191 libras) y mide 168 cm (5 pies y 6 pulgadas) de alto con un índice de masa corporal (IMC) de 31. Refiere que consume una dieta que consiste en aproximadamente 2200 calorías al día y camina durante 30 minutos de tres a cuatro días por semana. Durante los últimos tres meses ha estado consumiendo 3.000 millones de UFC/día de un complemento comercial de *Lactobacillus acidophilus*; sin embargo, no ha podido perder peso. Se da a la paciente una fórmula probiótica de multiespecies que contiene *Bifidobacterium* y *Leuconostoc* además de *Lactobacillus* (Composición 4; véase la Tabla 1) en la cantidad de una cápsula al día para tomar con una comida. En la visita de seguimiento de la paciente a los 3 meses, su peso es de 79,4 kg (175 libras) con un IMC de 28.

Ejemplo 3 (comparativo)

Una mujer embarazada de 30 años se presenta para la evaluación de ganancia de peso excesiva y diabetes gestacional en su semana 28 de embarazo. Mide 163 cm (5 pies 4 pulgadas) de altura y pesa 73.9 kg (163 libras), habiendo ganado 18.1 kg (40 libras) durante su embarazo. Una prueba de tolerancia a la glucosa oral pone de manifiesto un nivel de glucosa en plasma de 12 mmol/l cuando se mide 2 horas después de exposición, lo que sugiere una diabetes manifiesta. Se recomienda a la paciente que evite los alimentos con alto contenido de azúcar, como dulces y postres; que aumente su ingesta diaria de fibra alimenticia y proteínas; y que incorpore al menos 40 minutos al día de ejercicio suave en su rutina. Además, se da a la paciente una fórmula probiótica de *Lactobacillus*/*Bifidobacterium*, que consiste en *L. acidophilus, L. rhamnosus, B. bifidum,* y *B. lactis* (Composición 3;

véase la tabla 1) y se le recomienda tomar una cápsula al día con una comida. En la visita de seguimiento de la paciente en 2 semanas, su peso se ha estabilizado en 73,9 kg (163 libras) y su nivel de glucosa en plasma ha disminuido a 10,5 mmol/l cuando se mide 2 horas después de una exposición a glucosa.

Ejemplo 4 (comparativo)

Se ve a una niña de 10 años en una clínica pediátrica para evaluación de la obesidad. Al nacer, pesaba 4.1 kg (9 libras) y medía 51 cm (20 pulgadas) de largo. Incluso en la infancia, la niña tenía factores de riesgo de obesidad como resultado de antecedentes familiares de la enfermedad. Además, la madre de la paciente tuvo diabetes gestacional, lo que puede predisponer a un niño al sobrepeso/obesidad. Los niños de 2-18 años de edad se consideran obesos si el IMC es mayor que el percentil 95. Durante la primera infancia, el peso de la paciente se mantuvo en el percentil 90 a 95. Sin embargo, continuó creciendo, y en su 10º cumpleaños se consideró que tenía sobrepeso con una altura de 127 cm (50 pulgadas), peso de 38.5 kg (85 libras), y el IMC de 24 que está en el percentil 96 de acuerdo con las directrices de los CDC (Centros para el Control de Enfermedades). Un dietista aconseja a la madre que modifique la dieta de la niña limitando los bocadillos y proporcionando fruta fresca para el postre en lugar de galletas. El dietista también aconseja un complemento probiótico, (Composición 2; véase la Tabla 1), que contiene una mezcla de *Lactobacillus* y *Bifidobacterium,* en la cantidad de una cápsula al día para consumir con una comida. En la visita de seguimiento 6 meses más tarde, la altura de la paciente es de 132 cm (52 pulgadas) y su peso es de 33,6 kg (74 libras), lo que representa una pérdida de peso de 5 kg (11 libras). El IMC de la paciente ahora es 19.2, poniendo el IMC para la edad en el percentil 76. Se aconseja a la madre de la paciente que continúe con la dieta y el régimen de probiótico y que anime a la niña a participar en un programa deportivo, de baile o de ejercicio.

Referencias

Documentos de patente de EE.UU.

Patente de EE.UU.	Fecha	Inventor
US 6 641 808	Noviembre, 2003	Bojrab
US 6 942 857	Septiembre 2005	Song, et al.

Solicitudes de patente de EE.UU.

Solicitudes	Fecha de publicación	Inventor
2011/0123501	26 de mayo, 2011	Chou, et al.
2010/0111915	6 de mayo, 2010	Isolauri, et al.
2005/0112112	26 de mayo, 2005	Park, et al.
2012/0121753	17 de mayo, 2012	Kirn, et al.
2010/0061967	11 de marzo, 2010	Rautonen
2012/0058094	8 de marzo, 2012	Blaser, et al.

Otras referencias

Arora T, Anastasovska J, Gibson G, Tuohy K, Sharma RK, Bell J, Frost G. Effect of Lactobacillus acidophilus NCDC 13 supplementation on the progression of obesity in diet-induced obese mice. Brit J Nutr 2012;31:1-8.

Andreasen AS, Larsen N, Skovsgaard TP, Berg RMG, Møller K, Svendsen KD, Jakobsen M y Pedersen BK. Effects of Lactobacillus acidophilus NCFM on insulin sensitivity and the systemic inflammatory response in human subjects. Brit J Nutr 2010;104:1831-1838.

Belury MA. Dietary conjugated linoleic acid in health: physiological effects and mechanisms of action. Annu Rev Nutr 2002;22:505-31.

Bray GA, Nielsen SJ, y Popkin BM. Consumption of high-fructose corn syrup in beverages may play a role in the epidemic of obesity. Am J Clin Nutr 2004;79:537-43.

Caescu CI, Olivier Vidal, Krzewinski F, Artenie V, y Bouquelet S. Bifidobacterium longum Requires a Fructokinase (Frk; ATP:d-Fructose 6-Phosphotransferase, EC 2.7.1.4) for Fructose Catabolism. J Bacteriol 2004;186(19):6515-6525.

DeMoss, RD, Bard, RC, Gunsalus, IC (1951). The mechanism of the heterolactic fermentation; a new route of ethanol formation. J Bacteriol 62(4):499-511.

De Vries W, Stouthamer AH. Pathway of glucose fermentation in relation to the taxonomy of bifidobacteria. J Bacteriol 1967;93:574-576.

FAO/WHO (2002) Guidelines for the evaluation of probiotics in food. London, Ontario, Canadá, 30 de abril y 1 de mayo, 2002.

Holzapfel WH, et al. Taxonomy and important features of probiotic microorganisms in food and nutrition. Am J Clin Nutr 2001;73(2 Suppl):365S-73S.

Holzapfel W H, Schillinger U. Introduction to pre and probiotics. Food Res Int 2002;35:109-116.

Hwang IS, Ho H, Hoffman BB, Reaven GM. Fructose-induced insulin resistance and hypertension in rats. Hypertension 1987; 10: 512-516.

Kadooka Y, Sato M, Imaizumi K, Ogawa A, Ikuyama K, Akai Y, Okano M, Kagoshima M, Tsuchida T. Regulation of abdominal adiposity by probiotics (Lactobacillus gasseri SBT2055) in adults with obese tendencies in a randomized controlled trial. Eur J Clin Nutr 2010;64(6):636-43.

Lee, JM, Jeong, D-W; Kim, OKMJ; Lee,J-H, Angres, I. et al. Cloning and characterization of the gene encoding phosphoketolase in Leuconostoc mesenteroides isolated from kimchi. Biotechnol Lett 2005;27(12):853-858.

Jeong DW, Lee JM, Lee HJ. Cloning and characterization of a gene encoding phosphoketolase in a Lactobacillus paraplantarum isolated from Kimchi. J Microbiol Biotechnol 2007;17(5):822-9.

Mallappa RH, Rokana N, Duary RK, Panwar H, Batish VK, Grover S. Management of metabolic syndrome through probiotic and prebiotic interventions. Indian J EndocrMetab 2012;16:20-27

Meile L, LM, Geissmann TA, Herensperger M, Teuber M. Characterization of the d-Xylulose 5-Phosphate/d-Fructose 6-Phosphate Phosphoketolase Gene (xfp) from Bifidobacteriumlactis. J Bacteriol 2001;183(9):2929-2936.

Metzger, B. E.; Coustan, D. R. (1998). "Summary and recommendations of the Fourth International Workshop-Conference on gestational diabetes mellitus. The Organizing Committee". Diabetes Care 21 Suppl 2: B161-B167.

Murphy EF, Cotter PD, Hogan A, O'Sullivan O, Joyce A, Fouhy F, Clarke SF, Marques TM, O'Toole PW, Stanton C, Quigley EM, Daly C, Ross PR, O'Doherty RM, Shanahan F. Divergent metabolic outcomes arising from targeted manipulation of the gut microbiota in diet-induced obesity. Gut 2012;Aug 9[Epub ya disponible]

Parvez S, Malik KA, Ah Kang S, Kim HY. Probiotics and their fermented food products are beneficial for health. J Appl Microbiol 2006;100:1171-85.

Sanders ME. Overview of functional foods: emphasis on probiotic bacteria. Int Dairy J 1998;8:341-347

Tannock GW. Identification of lactobacilli and bifidobacteria. Current Issues Molec Biol 1999;1:53-64.

Vaughan EE, Mollet B, de Vos WM. Functionality of probiotics and intestinal lactobacilli: light in the intestinal tract tunnel. Curr Opin Biotechnol 1999;10:505-510.

Saha BC, Racine FM. Biotechnological production of mannitol and its applications. Appl Microbiol Biotechnol. 2011;89(4):879-91.

Suzuki R, Katayama T, Kim B-J Wakagi T, Shoun H, Ashida H, Yamamoto K y Fushinobu S. Crystal structures of phosphoketolase: thiamine diphosphate-dependent dehydration mechanism. J. Biol. Chem 2010;285:34279-34287.

Wisselink HW, Weusthuis RA, Eggink G, Hugenholtz J, Grobben GJ. Mannitol production by lactic acid bacteria: a review. Intl Dairy J 2002;12:151-161

Yadav H, Jain S, Sinha PR. Antidiabetic effect of probiotic dahi containing Lactobacillus acidophilus and Lactobacillus casei in high fructose fed rats. Nutrition 2007; 23(1):62-68.

Ziemer CJ, Gibson GR. An overview of probiotics, prebiotics and synbiotics in the functional food concept: perspectives and future strategies. Int Dairy J 1998;8:473-479

Zubillaga M, Weil R, Postaire E, Goldman C, Caro R, Boccio J. Effect of probiotics and functional foods and their use in different diseases. Nutr Res 2001; 21:569-579

REIVINDICACIONES

1. Una composición que comprende, como un principio activo, una o más especies de *Lactobacillus,* una o más especies de *Bifidobacterium* y una especie de *Streptococcus* o *Leuconostoc*, en una cápsula, comprimido, polvo seco, alimento o bebida, para usar en un método para prevenir o mejorar la obesidad o una afección relacionada con la obesidad.

2. La composición para usar según la reivindicación 1, en donde la una o más especies de Lactobacillus se seleccionan de Lactobacillus rhamnosus, Lactobacillus acidophilus, Lactobacillus casei, Lactobacillus plantarum, Lactobacillus bulgaricus, Lactobacillus paracasei, Lactobacillus reuteri, Lactobacillus salivarius, Lactobacillus gasseri, Lactobacillus brevis y Lactobacillus fermentum.

3. La composición para usar según la reivindicación 1, en donde la una o más especies de Bifidobacterium se seleccionan de Bifidobacterium bifidum, Bifidobacterium longum, Bifidobacterium lactis, Bifidobacterium breve y Bifidobacterium infantis.

4. La composición para usar según la reivindicación 1, en donde la especie de Streptococcus es Streptococcus thermophilus.

5. La composición para usar según la reivindicación 1, en donde la especie de Leuconostoc es Leuconostoc mesenteroides.

6. La composición para usar según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en donde la composición comprende además al menos uno de Saccharomyces boulardii o Saccharomyces cerevisiae.

7. La composición para usar según la reivindicación 1, en donde la especie de Lactobacillus es Lactobacillus acidophilus, y la especie de Bifidobacterium es Bifidobacterium bifidum.

8. La composición para usar según la reivindicación 1, en donde la una o más especies de Lactobacillus comprenden Lactobacillus acidophilus y Lactobacillus rhamnosus, y la una o más especies de Bifidobacterium comprenden Bifidobacterium bifidum y Bifidobacterium lactis.

9. La composición para usar según la reivindicación 1, en donde la composición comprende Lactobacillus rhamnosus, Lactobacillus acidophilus, Lactobacillus bulgaricus, Bifidobacterium bifidum y Streptococcus thermophilus.

10. La composición para usar según la reivindicación 1, en donde la una o más especies de Lactobacillus comprenden Lactobacillus rhamnosus, Lactobacillus casei, Lactobacillus salivarius y Lactobacillus paracasei, y la una o más especies de Bifidobacterium comprenden Bifidobacterium bifidum, Bifidobacterium longum, Bifidobacterium breve y Bifidobacterium infantis.

11. La composición para usar según la reivindicación 1, en donde la una o más especies de Lactobacillus comprenden Lactobacillus paracasei, Lactobacillus acidophilus y Lactobacillus rhamnosus, y la una o más especies de Bifidobacterium comprenden Bifidobacterium bifidum, Bifidobacterium lactis y Bifidobacterium longum.

12. La composición para usar según la reivindicación 1, en donde la composición comprende Lactobacillus acidophilus, Lactobacillus rhamnosus, Lactobacillus casei, Lactobacillus salivarius, Lactobacillus plantarum, Bifidobacterium bifidum, Bifidobacterium longum, Bifidobacterium lactis, Bifidobacterium breve y Streptococcus thermophilus.

13. La composición para usar según la reivindicación 1, en donde la composición comprende Lactobacillus acidophilus, Lactobacillus rhamnosus, Bifidobacterium bifidum, Bifidobacterium lactis y Leuconostoc mesenteroides.

14. La composición para usar según la reivindicación 1 que contiene, por cápsula, comprimido, polvo seco o ración, al menos 2.5 mil millones de UFC de cada una de L. acidophilus, L. rhamnosus, L. casei, L. plantarum, y L. salivarius; al menos mil millones de UFC de cada una de B. bifidum, B. longum, B. lactis, y B. breve; y al menos mil millones de UFC de Streptococcus thermophilus.

15. La composición para usar según la reivindicación 1 que contiene, por cápsula, comprimido, polvo seco o ración, al menos 2 mil millones de UFC de cada una de L. rhamnosus, L. casei, L. salivarius, L. paracasei, B. bifidum, B. longum, B. breve y B. infantis.

16. La composición para usar según la reivindicación 1 que contiene, por cápsula, comprimido, polvo seco o ración, al menos mil millones de UFC de cada una de L. acidophilus, L. rhamnosus, L. brevis, B. bifidum, B. lactis y B. infantis.

17. La composición para usar según la reivindicación 1 que contiene, por cápsula, comprimido, polvo seco o ración, al menos 1.5 mil millones de UFC de cada una de L. acidophilus, L. rhamnosus, B. bifidum y B. lactis; y al menos mil millones de UFC de Leuconostoc mesenteroides.

18. La composición para usar según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 17, en donde la composición comprende además una molécula de ácido linoleico conjugado.

19. La composición para usar según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 18, en donde la composición comprende además una sal de cromo.

20. La composición para usar según la reivindicación 19, en donde la sal de cromo se selecciona del grupo que consiste en picolinato de cromo, histidinato de cromo, nicotinato de cromo y mezclas de los mismos.

21. La composición para usar según la reivindicación 19 o 20, en donde la sal de cromo se administra en el intervalo de 50-1000 µg.

22. La composición para usar según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 21, en donde la afección relacionada con la obesidad se selecciona de hiperglucemia, resistencia a la insulina, diabetes, hipertrigliceridemia, hipercolesterolemia, aterosclerosis, angina de pecho, infarto de miocardio y accidente cerebrovascular.