

Señor Director
Dirección de Nuevas Creaciones
Superintendencia de Industria y Comercio
E. S. D.

Expediente : **NC2019/0006257**

Referencia : Solicitud de la PCT patente de invención denominada
**"PROBIOTICOS PARA USO EN EL TRATAMIENTO DE LA
DIVERTICULOSIS Y ENFERMEDAD DIVERTICULAR"**

Solicitante : **SOFAR S.P.A.**

I. RESPUESTA A REQUERIMIENTO

CAROLINA VERA MATIZ, obrando como apoderada de la sociedad solicitante, oportunamente doy respuesta al requerimiento de Oficio No. 5100, notificado el día 24 de junio de 2019 por su Despacho.

II. IDIOMA Y PRESENTACIÓN

De acuerdo con su requerimiento, me permito anexar la traducción al castellano de la solicitud de la patente en referencia, conformada por; Descripción, resumen y reivindicaciones, de conformidad con lo establecido en los artículos 7 y 8 de la Decisión 486 de la Comunidad Andina.

De acuerdo con lo anterior considero que el requerimiento ha sido resuelto y por consiguiente solicito se ordene la inmediata publicación de la patente en la Gaceta de la Propiedad Industrial.

NFBC

Oficina Principal/Main Office
Calle 70 A No. 11 - 43, Bogotá D.C. Colombia.
Tel 571+3176650 /3127928 Fax 571+2126167/
6062872

Quito, Ecuador
Avda. 6 de Diciembre y La Niña - Edificio Multicentro
Ofc.603
Tel. (593) 2-2555208 Fax.(593) 2-2297528.

Web: www.veraabogadossa.com E-mail: vera@veraabogadossa.com
Miembros de/Members of: PRAGMA, EEIG.International network of law firms

III. ANEXOS

Me permito anexar el siguiente documento:

- Traducción al castellano de la solicitud de la PCT patente de invención.

Cordialmente,



CAROLINA VERA MATIZ

C.C. No. 52.225.999

T.P. 91835

“PROBIOTICOS PARA USO EN EL TRATAMIENTO DE LA DIVERTICULOSIS Y ENFERMEDAD DIVERTICULAR”

DESCRIPCIÓN

La presente invención se refiere al uso de probióticos para controlar el proceso inflamatorio del colon en sujetos con modificaciones estructurales de la pared del colon, preferiblemente en sujetos con diverticulosis, preferiblemente afectados por enfermedad diverticular.

ESTADO DE LA TÉCNICA

La diverticulosis colónica es la alteración anatómica más frecuente del colon, a menudo detectada durante la colonoscopia. Se refiere a modificaciones estructurales de la pared del colon, que parece estar caracterizada por la presencia de bolsas llamadas divertículos.

Aunque la mayoría de las personas con diverticulosis colónica permanecen asintomáticas, aproximadamente el 20% de los pacientes desarrollan síntomas. Esta condición se define como enfermedad diverticular.

Una situación en la que hay síntomas abdominales persistentes atribuidos a divertículos en ausencia de colitis macroscópicamente manifiesta o diverticulitis se define como enfermedad diverticular sintomática no complicada.

La diverticulitis, por el contrario, es una inflamación macroscópica aguda de los divertículos, que puede ser simple o complicada, dependiendo de si se observan o no las características de complicaciones tales como abscesos, peritonitis, obstrucción, fístulas o hemorragia en la tomografía computarizada. Los mecanismos patológicos que causan la formación de divertículos colónicos aún no están claros. Estas formaciones son probablemente el resultado de interacciones complejas entre la dieta, el micro-biota intestinal, los factores genéticos, la motilidad del colon y la inflamación microscópica. Todos estos factores también deben considerarse objetivos potenciales del tratamiento de la enfermedad diverticular.

Entre ellos, la alteración de la microbiota intestinal podría tener un papel importante. Recientemente, de hecho, se ha puesto a disposición una variedad de información preliminar sobre el impacto de las modificaciones de la población microbiana en sujetos con enfermedad diverticular, que podría

ser la causa de un proceso de disbiosis que favorezca el desarrollo de varios síntomas y que al mismo tiempo, podría predisponerlos a un episodio de diverticulitis.

Además, en los últimos años, numerosos hallazgos han sugerido un papel importante de la inflamación en la determinación de los síntomas y en el desarrollo de complicaciones.

De hecho, se ha observado que la enfermedad diverticular tiene un infiltrado inflamatorio microscópico significativo. Esta inflamación microscópica, que va desde una mayor infiltración crónica de linfocitos hasta un infiltrado de neutrófilos activos, parece estar relacionada con la gravedad de la enfermedad.

Además, la enfermedad diverticular muestra una mayor expresión de citoquinas pro-inflamatorias como el $\text{TNF}\alpha$. La inflamación persistente, tanto endoscópica como histológica, se ha identificado recientemente como un factor de riesgo significativo para la recurrencia de la diverticulitis.

A la luz de lo anterior, existe una gran necesidad de identificar productos que permitan controlar el proceso inflamatorio a nivel del colon, en particular para prevenir / controlar / tratar la enfermedad diverticular y sus síntomas y para prevenir sus complicaciones.

El solicitante ha encontrado el uso de probióticos basados en bacterias y / o levaduras y / u otros microorganismos como una solución a las necesidades descritas anteriormente. En particular, la presente solución propone el uso de bacterias pertenecientes al género *Lactobacillus* y / o *Bifidobacterium*, preferiblemente la especie bacteriana *Lactobacillus paracasei*.

De hecho, después de la administración de los probióticos, como se describe en detalle a continuación, se observa una regulación negativa de la expresión de iNOS, las citoquinas pro-inflamatorias y la liberación de NO en sujetos sanos y, sobre todo, en sujetos afectados por diversas formas de diverticulosis que se someten a estimulación / Tratamiento con bacterias patógenas como la *E. coli* enteroinvasiva. Por lo tanto, la administración de probióticos, en particular basada en bacterias pertenecientes al género *Lactobacillus* y / o *Bifidobacterium*, preferiblemente la especie bacteriana *Lactobacillus paracasei*, ha demostrado ser efectiva en el tratamiento y / o prevención de las diversas formas de enfermedad diverticular y / o los síntomas asociados con el mismo.

DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

La presente invención se describirá en detalle a continuación, también con la ayuda de las siguientes figuras y con ejemplos que no pretenden tener ningún carácter limitante.

En particular:

- La Figura 1 muestra los niveles basales de expresión de iNOS y la liberación de NO y S100B en las muestras recolectadas (Control, Diverticulosis, SUDD, SUDD + AD).
- La Figura 2 muestra los niveles basales de la expresión de A) IL-1 β , B) IL-6 y C) IL-10 en las muestras recolectadas (Control, Diverticulosis, SUDD, SUDD + AD).
- La Figura 3 muestra los niveles de expresión de iNOS antes y después de la estimulación bacteriana en las muestras examinadas (A-Control, B-Diverticulosis, C-SUDD, D-SUDD + AD).
- La Figura 4 muestra los niveles de NO liberado antes y después de la estimulación bacteriana en las muestras examinadas (A-Control, B-Diverticulosis, C-SUDD, D-SUDD + AD).
- La Figura 5 muestra los niveles de liberación de la proteína S100B antes y después de la estimulación bacteriana en las muestras examinadas (A-Control, B-Diverticulosis, C-SUDD, D-SUDD + AD).

DESCRIPCIÓN DETALLADA

Un primer aspecto de la presente invención se refiere al uso de probióticos para el tratamiento y / o prevención y / o mejora de los síntomas asociados con la diverticulosis, en particular la enfermedad diverticular. La enfermedad diverticular es preferiblemente una enfermedad diverticular no complicada sintomática (SUDD) o colitis segmentaria asociada con diverticulosis (SCAD). La diverticulosis, asociada con la enfermedad diverticular sintomática o asintomática, a la que en general hace referencia la presente invención, está asociada con una sobreexpresión de NO y / o iNOS y / o al menos una citoquina proinflamatoria, preferiblemente seleccionada de TNF α , IL1 β , IL-6b, IL-10 y sus combinaciones. Para los fines de la presente invención, los probióticos pueden tomarse como un adyuvante de cualquier terapia diseñada para tratar o prevenir la diverticulosis y las formas preferidas descritas anteriormente, es decir, tomar probióticos, preferiblemente de forma regular como se describe con mayor detalle a continuación, muestran favorecer un resultado positivo de los tratamientos actualmente disponibles

diseñados para tratar y / o prevenir esta patología en sus diferentes formas. Por lo tanto, el uso de probióticos para tratar y / o prevenir y / o mejorar los síntomas asociados con la diverticulosis, en particular, la diverticulosis asintomática y / o la enfermedad diverticular, puede asociarse o combinarse con otros enfoques terapéuticos, preferiblemente farmacológicos o sociales de tipo de comportamiento, por ejemplo, un estilo de vida saludable o una dieta.

En este contexto, la definición de "probiótico" es la formulada por un grupo de expertos convocado conjuntamente en 2001 por la FAO y la OMS: "Microorganismos vivos que, cuando se administran en cantidades adecuadas, confieren un beneficio para la salud al huésped". En particular, en Italia, el Ministerio de Salud ha definido a los probióticos como "microorganismos que demuestran ser capaces de, una vez ingeridos en cantidades suficientes, ejercer funciones que son beneficiosas para el organismo", haciéndose eco sustancialmente de la definición de las dos organizaciones mencionadas anteriormente.

Los probióticos a los que se refiere la presente invención se basan en bacterias y / o levaduras y / u otros microorganismos.

De acuerdo con un aspecto preferido de la presente invención, las bacterias pertenecen preferiblemente a un género seleccionado de: *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Bacillus*, *Propionibacterium*, *Streptococcus*, *Lactococcus*, *Aerococcus*, *Enterococcus* y sus combinaciones. El género preferido para los fines de la presente invención es *Lactobacillus* y/o *Bifidobacterium*.

De acuerdo con un aspecto preferido adicional de la invención, las bacterias del género *Lactobacillus* pertenecen a al menos una de las siguientes especies: *Lactobacillus paracasei*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus amylolyticus*, *Lactobacillus amylovorus*, *Lactobacillus alimentarius*, *Lactobacillus aviaries*, *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus buchneri*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus cellobiosus*, *Lactobacillus coryniformis*, *Lactobacillus crispatus*, *Lactobacillus curvatus*, *Lactobacillus delbrueckii*, *Lactobacillus farciminis*, *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus gallinarum*, *Lactobacillus gasseri*, *Lactobacillus helveticus*, *Lactobacillus hilgardii*, *Lactobacillus johnsonii*, *Lactobacillus kefiranofaciens*, *Lactobacillus kefiri*, *Lactobacillus mucosae*, *Lactobacillus panis*, *Lactobacillus collinoides*, *Lactobacillus paraplantarum*, *Lactobacillus pentosus*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus pontis*, *Lactobacillus reuteri*, *Lactobacillus sakei*, *Lactobacillus salivarius* y *Lactobacillus sanfranciscensis*.

Particularmente preferidos para los propósitos de la presente invención son

las especies bacterianas *Lactobacillus paracasei*, preferiblemente la cepa DG[®] (*Lactobacillus paracasei* CNCM I-1572).

La cepa bacteriana *L. casei* DG[®] (*Lactobacillus paracasei* CNCM I1572) fue ingresada por SOFAR S.p.A. con la Colección Nacional de Cultivos de Microorganismos del Instituto Pasteur de París el 05/05/1995, con el número de depósito CNCM I-1572.

De acuerdo con un aspecto preferido adicional de la invención, las bacterias del género *Bifidobacterium* pertenecen a al menos una de las siguientes especies: *B. animalis*, *B. bifidum*, *B. breve*, *B. infantis*, *B. longum*, *B. adolescentis*, *B. catenulatum*, *B. angulatum*, *B. asteroides*, *B. boum*, *B. choerinum*, *B. coryneforme*, *B. cuniculi*, *B. denticolens*, *B. dentium*, *B. gallicum*, *B. gallinarum*, *B. indicum*, *B. inopinatum*, *B. lactis*, *B. magnum*, *B. merycicum*, *B. minimum*, *B. pseudocatenulatum*, *B. pseudolongum*, *B. pullorum*, *B. ruminantium*, *B. saeculare*, *B. subtile*, *B. thermacidophilum*, *B. thermophilum* and *B. tsurumiense*.

De acuerdo con un aspecto preferido adicional de la invención, las bacterias del género *Bacillus* pertenecen a al menos una de las siguientes especies: *Bacillus clausii*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus coagulans*, *Bacillus megaterium*, *Bacillus halodurans*, *Bacillus thuringiensis*, *Bacillus insolitus* y *Bacillus marinus*.

De acuerdo con un aspecto preferido adicional de la invención, las bacterias del género *Propionibacterium* pertenecen a al menos una de las siguientes especies: *P. shermanii*, *P. acnes*, *P. australiense*, *P. avidum*, *P. cyclohexanicum*, *P. freudenreichii*, *P. granulosum*, *P. jensenii*, *P. microaerophilum*, *P. propionicum* y *P. thoenii*.

De acuerdo con un aspecto preferido adicional de la invención, las bacterias del género *Streptococcus* pertenecen a al menos una de las siguientes especies: *Streptococcus thermophilus*, *Streptococcus salivarius*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus anginosus*, *Streptococcus bovis*, *Streptococcus canis*, *Streptococcus constellatus*, *Streptococcus downei*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Streptococcus equinus*, *Streptococcus ferus*, *Streptococcus infantarius*, *Streptococcus iniae*, *Streptococcus intermedius*, *Streptococcus milleri*, *Streptococcus mitis*, *Streptococcus mutans*, *Streptococcus oralis*, *Streptococcus orisratti*, *Streptococcus parasanguinis*, *Streptococcus peroris*, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus pseudopneumoniae*, *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus ratti*, *Streptococcus tigurinus*, *Streptococcus sanguinis*, *Streptococcus sobrinus*, *Streptococcus suis*, *Streptococcus uberis*, *Streptococcus vestibularis*, *Streptococcus viridans* y *Streptococcus zooepidemicus*.

De acuerdo con un aspecto preferido adicional de la invención, las bacterias del género *Lactococcus* pertenecen a al menos una de las siguientes especies: *L. chungangensis*, *L. formosensis*, *L. fujiensis*, *L. garvieae*, *L. lactis*, *L. piscium*, *L. plantarum*, *L. raffinolactis* y *L. taiwanensis*

De acuerdo con un aspecto preferido adicional de la invención, las bacterias del género *Aerococcus* pertenecen a al menos una de las siguientes especies: *A. urinae*, *A. sanguinicola*, *A. christensenii*, *A. suis*, *A. urinaeequi* y *A. urinaehominis*.

De acuerdo con un aspecto preferido adicional de la invención, las bacterias del género *Enterococcus* pertenecen a al menos una de las siguientes especies: *Enterococcus avium*, *Enterococcus durans*, *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium*, *Enterococcus gallinarum*, *Enterococcus haemoperoxidus*, *Enterococcus hirae*, *Enterococcus malodoratus*, *Enterococcus moraviensis*, *Enterococcus mundtii*, *Enterococcus pseudoavium*, *Enterococcus raffinosus* y *Enterococcus solitarius*.

De acuerdo con un aspecto preferido adicional de la invención, las levaduras pertenecen preferiblemente al género *Saccharomyces*, más preferiblemente a la especie *Saccharomyces cerevisiae* y / o *Saccharomyces boulardii*.

Un aspecto adicional de la presente invención se refiere a una composición que comprende los probióticos como se describe anteriormente.

Los microorganismos de la composición de la presente invención están preferiblemente vivos, y por lo tanto la composición también se puede definir como probiótico. Alternativamente, los microorganismos que se pueden usar están muertos o tindalizados.

En una realización adicional, los microorganismos están en forma de un lisado o extracto y, por lo tanto, la composición también se puede definir como un para-probiótico, o un solo componente, o varios componentes del mismo, presentes en el nivel de la pared bacteriana.

En general, los microorganismos comprendidos en la composición de la presente invención son microorganismos individuales o combinaciones de cualquier especie microbiana incluida en la lista QPS de la EFSA.

Preferiblemente, las bacterias comprendidas en la composición son capaces de sobrevivir el tránsito gastrointestinal y, por lo tanto, de alcanzar el colon vivo.

Los microorganismos de la presente invención se administran preferiblemente en una cantidad que oscila entre 1 billón y 100 billones, más preferiblemente 10-75 billones, incluso más preferiblemente 15-50 billones, lo más preferiblemente 20-30 billones de células, preferiblemente células

bacterianas, por administración.

Según un aspecto preferido, la administración de microorganismos, preferiblemente de bacterias, tiene lugar al menos 1-2 veces al día.

Todas las vías de administración están previstas en la presente invención. Preferiblemente, la administración de la composición y / o probióticos, preferiblemente basados en bacterias, es oral, más preferiblemente en forma de píldoras, cápsulas, tabletas, polvo granular, cápsulas de cubierta dura, gránulos que se disuelven oralmente, sobres, pastillas o frascos bebibles.

Alternativamente, la composición de la invención y / o los probióticos, preferiblemente basados en bacterias, se formulan como un líquido, por ejemplo, como un jarabe o bebida, o si no se agregan (se añaden) a los alimentos, por ejemplo, para Un yogur, queso o jugo de frutas. Alternativamente, la composición de la invención y / o los probióticos, preferiblemente basados en bacterias, se formulan en una forma capaz de ejercer una acción tópica, por ejemplo, como un enema.

La formulación oral de la composición y / o probióticos a los que se refiere la presente invención, preferiblemente basados en bacterias, comprende además excipientes generalmente aceptados para la producción de probióticos y / o productos farmacéuticos.

Según un aspecto preferido de la invención, la composición comprende además agentes anti-aglomerantes, preferiblemente dióxido de silicio o estearato de magnesio.

De acuerdo con un aspecto preferido de la invención, la composición comprende además agentes de recubrimiento, preferiblemente gelatina.

En una realización adicional de la invención, la composición de la invención comprende vitaminas, elementos traza, preferiblemente zinc o selenio, enzimas y / o sustancias prebióticas, preferiblemente fructo-oligosacáridos (FOS), galacto-oligosacáridos (GOS), inulina, guaran combinaciones de los mismos.

EJEMPLO

El estudio experimental que subyace a la presente invención se basa en muestras de biopsia aisladas de 40 pacientes. Los sujetos quedaron así estratificados:

- 10 pacientes con diverticulosis asintomática, 3 de ellos mujeres; edad: 59-77);
- 10 pacientes con enfermedad diverticular no complicada sintomática (SUDD siglas en inglés), 3 de los cuales son mujeres; edad: 44-92);
- 10 pacientes con la enfermedad diverticular no complicada sintomática precedida por diverticulitis aguda, 2 de los cuales son mujeres; edad: 31-77);

-10 pacientes sin problemas gastrointestinales, 6 de ellos mujeres; edad: 33-75).

Se obtuvieron seis muestras de biopsia del colon sigmoide de cada paciente; En los pacientes con divertículos, las biopsias se aislaron cerca de ellos.

Se obtuvo el consentimiento informado de todos los pacientes y se obtuvo la aprobación del comité de ética de la Universidad Federico II de Nápoles.

Las biopsias polarizadas se colocaron en una rejilla metálica esterilizada con el lado de la mucosa hacia abajo y el lado de la serosa hacia arriba. Luego, la rejilla metálica se colocó en el centro de una placa de cultivo de órganos durante 24 horas y se mantuvo en DMEM-F12 a 37 ° C, en presencia de un 95% de oxígeno y un 5% de CO2. Las biopsias se estimularon luego con las bacterias patógenas y / o probióticas a nivel de la serosa como se muestra en la Tabla I.

Tablal.

	0h	2.5h	24h
BASAL (medium alone)			
EIEC	+EIEC		
EIEC + LCDG	+ EIEC	+ LCDG	
LCDG + EIEC	+LCDG	+ EIEC	
EIEC and LCDG	+EIEC and LCDG		

= CULTURE MEDIUM
 = EIEC
 = LCDG

Las bacterias patógenas utilizadas en los experimentos fueron: Escherichia coli enteroinvasiva (EIEC); Los probióticos probados fueron Lactobacillus casei DG® (Lactobacillus paracasei CNCM I1572; LCDG). El primero fue elegido por sus efectos nocivos en el tracto gastrointestinal, el último por su efecto probiótico.

Los sobrenadantes se recuperaron posteriormente y las biopsias se trataron con tampón RIPA. Ambos se congelaron a -80 ° C.

La extracción de proteínas fue controlada por Western Blot como se describe en Turco, F. et al. 2015. Los anticuerpos utilizados fueron: anti-iNOS de conejo (1: 500 vol / vol) o anti-α actina de ratón (1: 1000 vol / vol).

El óxido nítrico (NO) se midió utilizando la misma técnica ya descrita en Turco, F. et al. 2015.

En el caso de la prueba ELISA (ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas) que se utilizó para medir S100B, el protocolo que se siguió fue el descrito en

el manual del fabricante.

Los análisis estadísticos incluyeron análisis de varianza y la prueba de comparación múltiple de Bonferroni. Los datos presentados son la media $\pm$ desviación estándar de los experimentos. El nivel de significación estadística se fijó en $p < 0,05$.

Niveles basales de expresión de iNOS y liberación de NO, S100B y citoquinas.

Se midieron los niveles basales de expresión y liberación de mediadores de inflamación en el tracto gastrointestinal.

Los pacientes con diverticulosis mostraron un mayor nivel de expresión de iNOS que los sujetos sanos (Fig. 1A).

Los pacientes con enfermedad diverticular no complicada sintomática (SUDD) y enfermedad diverticular no complicada sintomática precedida por diverticulitis aguda (SUDD + AD) mostraron mayores diferencias en la expresión de iNOS en comparación con los sujetos sanos (+2.04 y +2.86 veces en comparación con el control -Fig. 1A).

Los pacientes con diverticulosis asintomática y aquellos con SUDD mostraron una liberación ligeramente mayor de NO que los sujetos sanos (Fig. 1B). Los pacientes con SUDD + AD mostraron una diferencia más marcada (+7.77 veces en comparación con el control - Fig. 1B).

Los datos mostrados en la Fig. 1C indican que no hubo diferencias significativas en la expresión de la proteína S100B (asociada previamente con la liberación de NO).

Además, se demostró un aumento en la liberación de la citoquina IL-1 β , sobre todo en los pacientes con SUDD + AD en comparación con los sujetos sanos (Fig. 2A). El mismo patrón también se observó para la citoquina IL-6 (Fig. 2B). En cuanto a la IL-10, se observó un aumento en el nivel de liberación en particular en los pacientes con AD de SUDD + (Fig. 2C).

Efectos de la estimulación bacteriana sobre la expresión de iNOS.

El efecto sobre dichos valores después de la estimulación bacteriana en la expresión del mediador de la inflamación se probó posteriormente en sujetos sanos y en aquellos con los diversos tipos de diverticulosis.

En particular, se evaluó la expresión de iNOS en biopsias de mucosa.

En sujetos sanos (control), la estimulación con EIEC provocó un aumento en la expresión de iNOS (+2.11 en comparación con el basal - Fig. 3A). La adición de LCDG antes o después de EIEC no alteró la expresión de iNOS, mientras que cuando se agregó LCDG junto con EIEC, se observó una reducción significativa en la expresión de iNOS (-1.50 veces en comparación con la estimulación con EIEC solo - Fig. 3A).

También en los pacientes con diverticulosis, la presencia de EIEC incrementó la expresión de iNOS (+2.86 veces en comparación con la basal - Fig. 3B). En este caso, la adición de LCDG provocó una reducción en el nivel de expresión de iNOS en comparación con la estimulación con EIEC solo, independientemente del momento en que la bacteria se agregó a EIEC (Fig. 3B).

En pacientes con SUDD y SUDD + AD, la estimulación con EIEC causó un aumento en la expresión de iNOS (+2.14 en comparación con el basal - Fig. 3C). En este caso, la acción de LCDG fue más efectiva si se administra con EIEC (Fig. 3C). La estimulación con LCDG no produjo en ningún caso un aumento en el nivel de expresión de iNOS.

Efectos de la estimulación bacteriana sobre la liberación de NO.

En las muestras de sujetos sanos, la liberación de NO aumentó significativamente después de la estimulación con EIEC (Fig. 4A). La adición de LCDG antes, después o junto con EIEC alteró significativamente el valor basal de NO.

El mismo efecto se observó en los pacientes con diverticulosis asintomática y SUDD. De hecho, la administración de EIEC aumentó la liberación de NO y la presencia de LCDG canceló este efecto (Fig. 4B y 4C) independientemente de cuándo se agregó LCDG.

Los pacientes con AD de SUDD + mostraron un nivel basal muy alto de liberación de NO y, por lo tanto, la introducción de EIEC no produjo un aumento significativo en estos sujetos. La adición de LCDG tampoco produjo ningún cambio en los niveles de liberación de NO debido al muy alto nivel basal (Fig. 4D).

En los controles, la estimulación con EIEC provocó un aumento en la liberación de S100B (aproximadamente +2.7 veces en comparación con la basal, $p < 0.05$ - Fig. 5A). La estimulación simultánea con LCDG y EIEC provocó una reducción en el aumento de S100B después de la administración de EIEC (-2.90 veces en comparación con EIEC, $p < 0.05$ - Fig. 5A).

Los resultados expuestos anteriormente demuestran que la activación del sistema de inflamación dependiente de NO (y correlacionada con la expresión de iNOS) conduce a una liberación de NO que aumenta progresivamente yendo de sujetos con diverticulosis a SUDD + AD. La expresión de iNOS sigue la misma tendencia. En particular, en diverticulosis (aumento de 1.5 frente al control), en SUDD (aumento de 2 frente al control) y en SUDD + AD (aumento de 3 frente al control). Además, también se demostró que la administración de LCDG previene los efectos observados.

En particular, LCDG es capaz de contrarrestar los efectos de las bacterias patógenas, particularmente en sujetos con SUDD + AD.

Estos datos demuestran claramente que la LCDG se puede usar eficazmente como probiótico para la prevención y / o tratamiento, en sujetos con
5 diverticulosis, en particular la enfermedad diverticular SUDD y SUDD + AD, y / o los síntomas asociados con ellos.

REIVINDICACIONES

1. Probióticos que comprenden bacterias y / o levaduras y / o microorganismos adicionales para uso en el tratamiento y / o en la
 5 prevención y / o en la reducción de síntomas asociados con diverticulosis, preferiblemente enfermedad diverticular, sintomática y asintomática, en donde dichas bacterias pertenecen a al menos un género seleccionado de: *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Bacillus*, *Propionibacterium*, *Streptococcus*, *Lactococcus*, *Aerococcus*, *Enterococcus* y sus combinaciones
- 10 2. Uso de acuerdo con la reivindicación 1, en el que la enfermedad diverticular es una enfermedad diverticular no complicada sintomática (SUDD) o colitis segmentaria asociada con diverticulosis (SCAD).
3. Uso de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, en el que la diverticulosis, asociada con la enfermedad diverticular sintomática y asintomática, está
 15 asociada con una sobreexpresión de NO y / o iNOS y / o al menos una citoquina proinflamatoria, preferiblemente seleccionada de TNF α , IL1 β , IL-6b, IL-10 y sus combinaciones
4. Uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-3, en el que el género bacteriano se selecciona de: *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*.
- 20 5. Uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-4, en el que las bacterias del género *Lactobacillus* pertenecen a al menos una de las siguientes especies: *Lactobacillus paracasei*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus amylolyticus*, *Lactobacillus amylovorus*, *Lactobacillus alimentarius*, *Lactobacillus aviaries*, *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus buchneri*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus cellobiosus*,
 25 *Lactobacillus coryniformis*, *Lactobacillus crispatus*, *Lactobacillus curvatus*, *Lactobacillus delbrueckii*, *Lactobacillus farciminis*, *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus gallinarum*, *Lactobacillus gasseri*, *Lactobacillus helveticus*, *Lactobacillus hilgardii*, *Lactobacillus johnsonii*, *Lactobacillus kefiranofaciens*,
 30 *Lactobacillus kefiri*, *Lactobacillus mucosae*, *Lactobacillus panis*, *Lactobacillus collinoides*, *Lactobacillus paraplantarum*, *Lactobacillus pentosus*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus pontis*, *Lactobacillus reuteri*, *Lactobacillus sakei*, *Lactobacillus salivarius* and *Lactobacillus sanfranciscensis*, preferably the bacterial specie *Lactobacillus paracasei*, más
 35 preferiblemente la cepa *Lactobacillus paracasei* DG.
6. Uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-5, en el que las bacterias del género *Bifidobacterium* pertenecen a al menos una de las siguientes especies: *B. animalis*, *B. bifidum*, *B. breve*, *B. infantis*, *B. longum*, *B. adolescentis*, *B. catenulatum*, *B. angulatum*, *B. asteroides*, *B. boum*, *B.*

choerinum, *B. coryneforme*, *B. cuniculi*, *B. denticolens*, *B. dentium*, *B. gallicum*, *B. gallinarum*, *B. indicum*, *B. inopinatum*, *B. lactis*, *B. magnum*, *B. merycicum*, *B. minimum*, *B. pseudocatenulatum*, *B. pseudolongum*, *B. pullorum*, *B. ruminantium*, *B. saeculare*, *B. subtile*, *B. thermacidophilum*, *B. thermophilum* y *B. tsurumiense*.

7. Uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-6, en donde:

1) las bacterias del género *Bacillus* pertenecen a al menos una de las siguientes especies: *Bacillus clausii*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus coagulans*, *Bacillus megaterium*, *Bacillus halodurans*, *Bacillus thuringiensis*, *Bacillus insolitus* and *Bacillus marinus*; y/o 2) las bacterias del género *Propionibacterium* pertenecen a al menos una de las siguientes especies: *P. shermanii*, *P. acnes*, *P. australiense*, *P. avidum*, *P. cyclohexanicum*, *P. freudenreichii*, *P. granulosum*, *P. jensenii*, *P. microaerophilum*, *P. propionicum* and *P. thoenii*; y/o 3) las bacterias del género *Streptococcus* pertenecen a al menos una de las siguientes especies: *Streptococcus thermophilus*, *Streptococcus salivarius*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus anginosus*, *Streptococcus bovis*, *Streptococcus canis*, *Streptococcus constellatus*, *Streptococcus downei*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Streptococcus equinus*, *Streptococcus ferus*, *Streptococcus infantarius*, *Streptococcus iniae*, *Streptococcus intermedius*, *Streptococcus milleri*, *Streptococcus mitis*, *Streptococcus mutans*, *Streptococcus oralis*, *Streptococcus orisratti*, *Streptococcus parasanguinis*, *Streptococcus peroris*, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus pseudopneumoniae*, *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus ratti*, *Streptococcus tigurinus*, *Streptococcus sanguinis*, *Streptococcus sobrinus*, *Streptococcus suis*, *Streptococcus uberis*, *Streptococcus vestibularis*, *Streptococcus viridans* and *Streptococcus zooepidemicus*; y/o 4) las bacterias del género *Lactococcus* pertenecen a al menos una de las siguientes especies: *L. chungangensis*, *L. formosensis*, *L. fujiensis*, *L. garvieae*, *L. lactis*, *L. piscium*, *L. plantarum*, *L. raffinolactis*, *L. taiwanensis*; y/o 5) las bacterias del género *Aerococcus* pertenecen a al menos una de las siguientes especies: *A. urinae*, *A. sanguinicola*, *A. christensenii*, *A. suis*, *A. urinaeequi* and *A. urinaehominis*; y/o 6) las bacterias del género *Enterococcus* pertenecen a al menos una de las siguientes especies: *Enterococcus avium*, *Enterococcus durans*, *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium*, *Enterococcus gallinarum*, *Enterococcus haemoperoxidus*, *Enterococcus hirae*, *Enterococcus malodoratus*, *Enterococcus moraviensis*, *Enterococcus mundtii*, *Enterococcus pseudoavium*, *Enterococcus raffinosus* y *Enterococcus solitarius*.

8. Uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-7, en el

que las levaduras pertenecen al género *Saccharomyces*, preferiblemente a las especies *Saccharomyces cerevisiae* y / o *Saccharomyces boulardii*.

5 **9.** Uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-8, en el que los microorganismos están vivos y / o muertos y / o tinalizados y / o lisados y / o extractos.

10. Uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-9, que comprende además los productos metabólicos producidos por los microorganismos y / o cualquier otro producto derivado de los microorganismos.

10 **11.** Uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-10, en el que los microorganismos, preferiblemente las bacterias, se toman en una cantidad que varía de 1 billón a 100 billones, preferiblemente 10-75 billones, más preferiblemente 15-50 billones, aún más preferiblemente 20 30 mil millones de células por dosis, preferiblemente dicha dosis se proporciona 1-2
15 veces al día.

12. Uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-11, en el que dicha dosis, preferiblemente basada en bacterias, es para administración oral, preferiblemente en forma de píldoras, cápsulas, tabletas, polvo granular, cápsulas de cubierta dura, gránulos que se disuelven oralmente, sobres,
20 pastillas o bebidas frascos

13. Uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-11, en el que los probióticos, preferiblemente basados en bacterias, se formulan como un líquido, preferiblemente como un jarabe o como una bebida, o se agregan a los alimentos, preferiblemente a un yogur, queso o fruta. jugo; o dichos
25 probióticos, preferiblemente basados en bacterias, están formulados para actuar tópicamente, preferiblemente como un enema.

RESUMEN

La presente invención se refiere al uso de probióticos para controlar el proceso inflamatorio del colon en sujetos con modificaciones estructurales de la pared del colon, preferiblemente en sujetos con diverticulosis y afectados por enfermedad diverticular.
[FIG. 1].