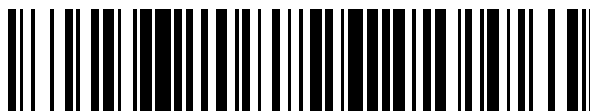


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 508 165**

51 Int. Cl.:

A61K 38/40 (2006.01)

A61P 25/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **21.11.2011** **E 11189879 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **23.07.2014** **EP 2594282**

54 Título: **Lactoferrina y sustancia blanca**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la
traducción de la patente:
16.10.2014

73 Titular/es:

NESTEC S.A. (100.0%)
Avenue Nestlé 55
1800 Vevey, CH

72 Inventor/es:

WANG, BING y
FAURE, MAGALI

74 Agente/Representante:

ISERN JARA, Jorge

ES 2 508 165 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

Lactoferrina y sustancia blanca

La presente invención se refiere de modo general a la sustancia blanca cerebral. En particular la presente invención se refiere a una composición que puede emplearse para promover el desarrollo y/o evitar la pérdida de sustancia blanca. Una forma de ejecución de la presente invención se refiere a una composición que lleva lactoferrina para promover el desarrollo de la sustancia blanca en el tratamiento o la prevención de un desarrollo retrasado o de una pérdida de sustancia blanca.

Los nutrientes son el requisito previo para el crecimiento y desarrollo de un organismo. Los "elementos básicos" de los tejidos recién constituidos pueden proceder de la dieta, como unidades preformadas, o se pueden obtener por biosíntesis o bioconversión endógena. Este proceso transcurre a máxima velocidad cuando el crecimiento de los tejidos es mayor, es decir durante el periodo intrauterino.

Una vez formados, todos los tejidos experimentan un grado variable de remodelación (o renovación), que es un proceso bastante lento, sobre todo para el sistema nervioso central. Regular las proporciones de las dos fuentes principales de elementos básicos - no indispensables o semi-indispensables para el crecimiento tisular - no es tarea fácil pues (a) en general los tejidos crecen con bastante lentitud y (b) es difícil distinguir entre los elementos básicos procedentes de una fuente dietética y los que proceden de la biosíntesis endógena.

Sin embargo este asunto es de suma importancia para la nutrición humana en general y para la nutrición infantil en particular. Durante las fases de crecimiento rápido la disponibilidad de nutrientes no indispensables o semi-indispensables puede influir en la biosíntesis endógena y limitar el potencial de crecimiento del feto o del recién nacido.

Las mujeres embarazadas y lactantes y los niños menores de tres años constituyen el grupo más vulnerable a la malnutrición. Las pruebas científicas han demostrado que la malnutrición crónica en la infancia tiene consecuencias neurológicas adversas tales como mala navegación espacial y mala formación y consolidación de la memoria.

Los individuos mejor alimentados durante los tres primeros años de edad tienen unas vidas radicalmente mejores. Los nutrientes que atraviesan la barrera placentaria durante el desarrollo intrauterino y los nutrientes presentes en la leche humana pueden constituir los medios más apropiados para mejorar el desarrollo inicial del cerebro, sobre todo después de unas condiciones prenatales adversas.

El correcto desarrollo del cerebro es una cuestión fundamental que concierne a todos los padres.

El cerebro humano consta de sustancia gris, sustancia blanca y sustancia negra. La sustancia gris está formada por cuerpos celulares neuronales e incluye regiones del cerebro implicadas en la memoria, la vista, el oído, el habla y también en las emociones y en el control muscular. La sustancia negra juega un papel en el aprendizaje, en el afán de recompensas y en la adicción.

Según Reiss y otros, Brain, 1995, volumen 119, tema 5, págs. 1763-1774, el CI tiene en los niños una relación directa con el volumen total del cerebro y en concreto con el volumen de la sustancia gris cortical en la región prefrontal del cerebro. Además se ha encontrado que la sustancia gris subcortical también contribuye a la diferencia de CI, aunque en menor medida que el volumen gris cortical. Por consiguiente en el estado técnico hay un esfuerzo por promover el desarrollo de sustancia gris.

La sustancia blanca es el tejido a través del cual pasan los mensajes entre distintas áreas de sustancia gris dentro del sistema nervioso. La mielina envuelve las fibras nerviosas largas y proporciona aislamiento eléctrico, facilitando una transferencia rápida y eficiente de los mensajes. La mielinización acelera la transmisión neuronal mediante la elaboración de una capa fosfolípida concéntrica de aislamiento producida por oligodendrocitos alrededor de los axones. La maduración de las vías cerebrales de sustancia blanca es un factor importante del desarrollo cognitivo, conductual, emocional y motor en la infancia.

La integridad de la sustancia blanca - que consiste en una mayor conectividad funcional - puede contribuir al establecimiento de actividades cerebrales ampliamente distribuidas en las cuales se cree que está basado el control voluntario complejo de la conducta (Luna B. en: Aboitiz F, y otros, editores. From attention to goal-directed behavior: neurodynamical, methodological and clinical trends [*De la atención a la conducta dirigida a objetivos: tendencias neurodinámicas, metodológicas y clínicas*]. Heidelberg (Alemania): editorial Springer; 2009. p. 249-274). Para un buen funcionamiento del cerebro también es muy importante la transferencia rápida y eficiente de los mensajes. Por tanto en el estado técnico hay una gran necesidad de apoyar también el desarrollo de la sustancia blanca.

Los presentes inventores han abordado esta necesidad.

Por tanto la presente invención tenía por objeto dotar el estado técnico de una composición específicamente capaz

de promover el desarrollo de sustancia blanca y/o recuperarlo tras una fase de desarrollo más lento de la misma. Además era deseable que esta composición también se pudiera usar para favorecer el desarrollo del feto a través de la nutrición materna.

- 5 Los presentes inventores se sorprendieron al ver que podían alcanzar estos objetivos conforme al contenido de las reivindicaciones independientes. Las reivindicaciones dependientes amplían la idea de la presente invención.

Mediante el uso de la potente técnica de IRM de alto campo los presentes inventores han podido demostrar que el suplemento maternal de lactoferrina produce un aumento significativo de la sustancia blanca en el cerebro.

- 10 Esto ha sido demostrado, por ejemplo, para el volumen de sustancia blanca contenido en el cuerpo caloso.

- 15 Se han visto efectos, por ejemplo, en mamíferos con restricción del crecimiento intrauterino (RCIU). La restricción del crecimiento intrauterino (RCIU), antes conocida como retraso del crecimiento intrauterino, se observa con mayor frecuencia al final del embarazo y puede tener consecuencias negativas para el desarrollo del niño. La probabilidad de RCIU puede aumentar por varios factores, tales como abuso del alcohol, trastornos de coagulación, drogadicción, presión sanguínea alta o enfermedad cardíaca, enfermedades renales, mala nutrición, hábito de fumar, infecciones y enfermedades maternas.

- 20 Los factores de riesgo fetal que pueden contribuir a la RCIU incluyen problemas genéticos o un embarazo múltiple, por ejemplo.

- 25 Los factores de riesgo en la placenta y las anomalías del cordón umbilical que pueden contribuir a la RCIU incluyen: placenta previa, placenta accreta o abrupción placentaria, junto con otras anomalías de la placenta. Otro factor de riesgo es la localización del cordón umbilical alrededor del cuello o de una parte del cuerpo que disminuya el flujo de sangre a través del cordón umbilical.

- 30 La lactoferrina, una glicoproteína sérica sialilizada, es secretada por los humanos desde el estado embrionario hasta la edad adulta y abunda especialmente en el calostro y en la leche. Esta glicoproteína sialilizada tiene diversos efectos fisiológicos, incluyendo la regulación de la homeostasis del hierro, el crecimiento y diferenciación celular, acciones prebióticas y antiinflamatorias y la estimulación de la respuesta inmune.

- 35 Los presentes inventores han demostrado que, en animales con una estructura y un desarrollo cerebral alterado negativamente, la suplementación con lactoferrina materna durante la gestación y la lactancia podía corregir la alteración de la estructura cerebral y/o restablecer su desarrollo.

- 40 Hay pruebas científicas de que la suplementación con lactoferrina aumenta el volumen de sustancia blanca en el cerebro, p.ej. su contenido en el cuerpo caloso de mamíferos con restricción del crecimiento intrauterino (RCIU), y favorece la recuperación del desarrollo normal durante los primeros años de vida.

- 45 Por consiguiente la presente invención se refiere en parte a una composición que lleva lactoferrina para promover el desarrollo de la sustancia blanca y/o para tratar o prevenir el retraso de su desarrollo.

- La presente invención también se refiere al uso de lactoferrina para preparar una composición destinada a promover el desarrollo de la sustancia blanca y/o a tratar o prevenir un retraso de su desarrollo.

La lactoferrina (LF), también llamada lactotransferrina (LTF), es una proteína globular multifuncional que es conocida por su actividad antimicrobiana y que forma parte de la defensa innata, principalmente en las mucosas.

- 50 La lactoferrina se puede encontrar por ejemplo en la leche y en el suero de la leche y en muchas secreciones de las mucosas, como las lágrimas y la saliva. Como tal, la lactoferrina se puede purificar p.ej. a partir de la leche o bien puede obtenerse de forma recombinante.

- 55 La presente invención se refiere a lactoferrina obtenible a partir de cualquier fuente.

La lactoferrina de la leche y del suero, por ejemplo, tiene la ventaja de que es un ingrediente natural obtenido de una composición de calidad alimentaria y por lo tanto se puede utilizar como fracción enriquecida de la composición alimentaria, sin necesidad de posterior purificación.

- 60 Por consiguiente la composición de la presente invención puede contener lactoferrina suministrada como fracción de leche o suero de leche enriquecida en lactoferrina.

- 65 Enriquecida significa que se ha añadido lactoferrina a la fracción de manera que su contenido en lactoferrina sea superior al de la fracción sin lactoferrina añadida, o bien que la leche o el suero de la leche han sido tratados para concentrar el contenido de lactoferrina natural en una fracción.

La lactoferrina obtenida por recombinación tiene la ventaja de que puede producirse con facilidad a concentraciones elevadas.

El calostro humano tiene una concentración bastante alta de lactoferrina, seguido por la leche humana y luego por la vacuna.

En las aplicaciones terapéuticas las composiciones se administran en cantidad suficiente para curar, al menos parcialmente, o detener los síntomas del trastorno y/o sus complicaciones. La cantidad adecuada para lograrlo se define como "dosis terapéutica efectiva". Las cantidades efectivas para este fin dependerán de una serie de factores conocidos del especialista, tales como la gravedad del trastorno y el peso y estado general del paciente. En las aplicaciones profilácticas las composiciones de la presente invención se administran a un paciente susceptible o en riesgo de un trastorno concreto, en cantidad suficiente para reducir, al menos parcialmente, el peligro de desarrollar el trastorno. Dicha se define como "dosis profiláctica efectiva". Las cantidades precisas dependen asimismo de una serie de factores específicos del paciente, tales como su estado de salud y su peso.

En el marco de la presente invención la lactoferrina se puede administrar en una dosis terapéutica efectiva y/o en una dosis profiláctica efectiva.

Las composiciones típicas que llevan lactoferrina según la presente invención pueden contener al menos 1,6 g/l de la misma.

Por ejemplo, la composición de la presente invención puede contener lactoferrina a una concentración de al menos 0,75% (p/p), con preferencia de al menos 1% (p/p).

Según una forma de ejecución la composición debe administrarse en cantidad correspondiente a la ingestión de al menos 0,01 g de lactoferrina, de al menos 0,25 g de lactoferrina, con preferencia de al menos 0,5 g de lactoferrina y sobre todo de al menos 1 g de lactoferrina por día y kg de peso corporal.

Por ejemplo, la composición se puede consumir en cantidad correspondiente a la ingestión diaria de al menos 1 g de lactoferrina / kg de peso corporal en el caso de madres gestantes y/o lactantes.

La composición también se puede consumir al menos en cantidad correspondiente a la ingestión diaria de al menos 200 mg de lactoferrina / kg de peso corporal en el caso de los niños.

La composición puede contener lactoferrina a una concentración de al menos 0,01 g por 100 kcal, preferiblemente de al menos 0,1 g por 100 kcal. Por ejemplo, la composición puede contener lactoferrina en el intervalo aproximado de 0,01 g -100 g, preferiblemente 0,1 g - 50 g, con mayor preferencia 2 g - 25 g por 100 kcal.

La lactoferrina también se puede emplear en combinación con otros compuestos, como por ejemplo ácido siálico y/o hierro.

La composición de la presente invención puede contener por ejemplo al menos un 0,001% en peso de ácido siálico. En otras formas de ejecución de la presente invención la composición puede contener al menos un 0,005% en peso o al menos un 0,01% en peso de ácido siálico.

Alternativa o adicionalmente la composición que lleva lactoferrina puede contener hierro en cantidad comprendida dentro del intervalo aproximado de 1 mg / 100 g (p/p) hasta 50 mg / 100 g (p/p) de composición, por ejemplo 10 mg / 100 g (p/p) hasta 30 mg / 100 g (p/p) de composición.

La proteína sérica es una buena fuente de lactoferrina. Por consiguiente la composición de la presente invención puede incluir una fuente proteica que contenga al menos un 50% en peso de proteína sérica.

La sustancia blanca es un componente del sistema nervioso central y contiene grandes cantidades de axones mielinizados. La sustancia blanca forma la mayor parte de las zonas internas del cerebro y las partes superficiales de la médula espinal.

Por lo tanto la sustancia blanca tratada con la composición de la presente invención también puede ser sustancia blanca cerebral, por ejemplo la del cuerpo caloso. El cuerpo caloso es la mayor estructura de sustancia blanca que conecta los hemisferios cerebrales izquierdo y derecho, facilitando la comunicación entre ellos. El cuerpo caloso es un haz plano y ancho de fibras neuronales debajo del córtex del cerebro euteriano, en la fisura longitudinal, y se conoce también como comisura colosal.

Con la composición de la presente invención es posible, por ejemplo, incrementar el volumen de sustancia blanca.

El trabajo de Marner y otros, 2003, J. Comp. Neurol. 462(2):144-52, ha demostrado que los hombres tienen algo más de sustancia blanca que las mujeres, tanto en volumen como en longitud de axones mielinizados. A la edad de

20 años se encontró que la longitud total de fibras mielinizadas era de 176.000 km en los hombres y de 149.000 km en las mujeres. Los autores han observado un descenso de la longitud total aproximadamente igual a un 10% cada década, de modo que a la edad de 80 años un hombre tendría 97.200 km y una mujer 82.000 km.

5 Por tanto la composición de la presente invención se puede usar para tratar, prevenir o mejorar una disminución de la sustancia blanca con la edad.

10 Como el descenso de sustancia blanca con la edad empieza aproximadamente a los 20 años, la composición de la presente invención se puede administrar a sujetos de al menos 20 años, al menos 30 años, al menos 40 años, al menos 50 años, al menos 60 años, al menos 70 años o al menos 80 años.

La composición de la presente invención puede ser cualquier tipo de formulación adecuada para la administración oral, enteral o parenteral.

15 Por ejemplo, la composición se puede elegir del grupo formado por productos alimenticios, comida para animales, composiciones farmacéuticas, formulaciones nutricionales, productos nutracéuticos, bebidas, aditivos alimentarios, fórmulas de alimentación infantil y composiciones de alimentación materna.

20 La composición de la presente invención se puede administrar a cualquiera que la necesite, por ejemplo a bebés, niños y adolescentes para favorecer el desarrollo de la sustancia blanca y a adultos o ancianos para tratar o prevenir la pérdida de sustancia blanca relacionada con la edad.

Por ejemplo, la composición se puede administrar a madres durante el embarazo y la lactancia, a bebés prematuros o nacidos a término, a bebés hasta 1-2 años, a niños y/o a adolescentes.

25 En concreto la lactoferrina y/o la composición de la presente invención se puede administrar por ejemplo a

- bebés prematuros o nacidos a término que hayan sufrido un retraso del crecimiento intrauterino debido a cualquier incidencia durante el embarazo (madre fumadora, medicación de la madre, baja calidad de la placenta, posición anómala de la placenta, malnutrición de la madre y del feto, etc.)
- bebés prematuros sin retraso del crecimiento intrauterino
- recién nacidos de peso bajo / muy bajo
- bebés con RCIU
- neonatos y niños con retraso del crecimiento cerebral debido por ejemplo a hipoxemia-isquemia al nacer o a cualquier otra incidencia adversa
- neonatos y niños con disfunciones o retraso cognitivo.

40 Por lo tanto la lactoferrina o la composición de la presente invención se pueden administrar al niño o a la madre durante el periodo de gestación y/o lactancia.

Para los fines de la presente invención el término “niño” se refiere a la infancia y comprende sujetos de 0-14 años de edad.

45 Los “bebés” son niños de edad inferior a los 12 meses.

Un bebé humano menor de un mes es un recién nacido o neonato. El término “recién nacido” incluye bebés prematuros, bebés postmaduros, recién nacidos de bajo peso y bebés nacidos a término. Cuando llegan a la edad de un año o empiezan a andar también se les llama “niños pequeños” (en general 12-36 meses).

50 Según una forma de ejecución de la presente invención la composición debe administrarse a madres de niños con RCIU o a niños con RCIU.

55 En particular la composición de la presente invención puede ser efectiva en mamíferos con RCIU. La restricción del crecimiento intrauterino (RCIU) es un término empleado para describir un estado en que el feto o el niño es más pequeño de lo esperado por el número de semanas de gestación. Un feto o un niño con RCIU suele tener una disminución de peso de al menos un 10% en comparación con los fetos o niños normales del mismo tiempo de gestación. Por ejemplo, un feto humano afectado de RCIU puede nacer a término (tras 37 semanas de gestación) o prematuramente (antes de 37 semanas).

60 La composición descrita en la presente invención se puede usar para tratar, prevenir o mejorar los trastornos de la sustancia blanca.

La sustancia blanca está involucrada de manera predominante en muchos trastornos neurológicos de la infancia, lo que se conoce como “alteraciones de sustancia blanca”. Normalmente se diagnostican en base a resultados de IRM. El origen de las anomalías encontradas por IRM a nivel tisular puede ser muy diverso. Por ejemplo, se puede tratar

de una falta de mielina y/o de mielina degradada. Pueden haberse formado múltiples vacuolas en la vaina de mielina o tejido cicatricial en la sustancia blanca. Puede haber mayores cantidades de agua entre las fibras mielinizadas, etc., y/o haberse perdido fibras nerviosas.

- 5 Por consiguiente las “alteraciones de sustancia blanca” comprenden muchos trastornos diferentes que pueden tener consecuencias de distinta gravedad para la función cerebral.

Las alteraciones de la sustancia blanca pueden ser hereditarias o adquiridas.

- 10 Las causas de las formas de alteración de sustancia blanca adquiridas se pueden subdividir, según el tipo, en infeccioso-inflamatorias, no infeccioso-inflamatorias, tóxico-metabólicas, traumáticas e hipóxico-isquémicas.

Los siguientes trastornos pueden ser alteraciones de sustancia blanca adquiridas, por ejemplo:
trastornos no infeccioso-inflamatorios tales como

- 15 esclerosis múltiple y sus variantes
encefalomielitis aguda diseminada
trastornos infeccioso-inflamatorios tales como
CMV congénito
20 panencefalitis esclerosante subaguda
encefalitis subaguda por VIH
encefalitis subaguda por CMV
leucoencefalitis multifocal progresiva
trastornos tóxico-metabólicos tales como
25 mielinolisis central pontina y extrapontina
deficiencia de vitamina B12
deficiencia de folato
enfermedad de Marchiafava-Bignami
malnutrición
30 encefalopatías tóxicas (endógenas - exógenas)
trastornos hipóxico-isquémicos tales como
leucomalacia periventricular
leucoencefalopatía poliquística
desmielinización posthipóxico-isquémica retardada
35 encefalopatía arterioesclerótica subcortical (Binswanger)
vasculitis relacionada con la edad
radiación
trastornos traumáticos tales como
40 cizallamiento
edema

Debido a la gran cantidad de genes y proteínas que intervienen en los distintos trastornos, la clasificación de las alteraciones hereditarias de la sustancia blanca es compleja y a menudo está basada en su correspondiente vía bioquímica.

- 45 Los siguientes trastornos pueden ser alteraciones de sustancia blanca hereditarias, por ejemplo:
trastornos lisosomales
leucodistrofia metacromática
enfermedad de Krabbe (leucodistrofia de células globoides)

- 50 gangliosidosis GM1 (variante infantil)
gangliosidosis GM2 (variante infantil)
lipofuscinosis neuronal ceroida infantil
enfermedad de Fabry
depósito anómalo de ácido siálico, enfermedad de Salla
55 Fucosidosis
mucopolisacaridosis
trastornos peroxisomales
síndrome de Zellweger
adrenoleucodistrofia neonatal
60 enfermedad de Refsum infantil
síndrome similar a Zellweger
pseudosíndrome de Zellweger
pseudoadrenoleucodistrofia neonatal
deficiencia de proteína bifuncional
65 adrenoleucodistrofia vinculada al cromosoma X y adrenomieloneuropatía
enfermedad de Refsum

trastornos mitocondriales
defectos de la cadena respiratoria
xantomatosis cerebrotendinosa
trastornos de reparación del ADN
5 enfermedad de Cockayne
PIBD o síndrome de Tay
defectos en las proteínas de la mielina
enfermedad de Pelizaeus-Merzbacher
síndrome 18q
10 aminoacidopatías y acidopatías orgánicas
fenilcetonuria
aciduria glutárica tipo I
aciduria propiónica
hiperglicemia no cetónica
15 enfermedad urinaria de jarabe de arce
enfermedad de Canavan
aciduria L-2-hidroxiglutarica
hiperhomocisteinurias
defectos del ciclo de urea
20 deficiencia de 3-hidroxi-3-metilglutaril-coenzima A liasa
defecto de síntesis de serina
otros trastornos
galactosemia
síndrome de Sjögren-Larsson
25 síndrome de Lowe
enfermedad de Wilson
enfermedad de Alexander
distrofia miotónica
30 distrofias musculares congénitas
leucoencefalopatía megaencefálica con quistes subcorticales
desaparición de sustancia blanca / CACH
hipomielinización con atrofia de los ganglios basales y del cerebelo
síndrome de Aicardi-Goutières

35 Otros trastornos que pueden ser alteraciones de la sustancia blanca incluyen la enfermedad de desaparición de sustancia blanca, la leucoencefalopatía con afectación del bulbo raquídeo y de la médula espinal y lactato elevado, leucoencefalopatía megaencefálica con quistes subcorticales, hipomielinización, hipogonadismo hipogonadotrópico e hipodontia, hipomielinización con atrofia de los ganglios basales y del cerebelo, y defectos en el metabolismo de los polioles.

40 Los especialistas en la materia entenderán que todas las características de la presente invención aquí descritas se pueden combinar libremente sin apartarse del alcance de la misma, tal como está revelada. Concretamente, las características descritas para los usos de la presente invención se pueden aplicar a la composición de la presente invención y viceversa.

45 Otras ventajas y características de la presente invención se deducen de los siguientes ejemplos y figuras.

La figura 1 muestra la obtención de imágenes DT de cortes practicados a todo lo largo del cuerpo caloso (CC) en cerebros extirpados de crías de 21 días.

50 La figura 2 muestra los resultados cuantitativos de la valoración de la microestructura del tejido cerebral mediante el uso de escaneo avanzado RM de alto campo a 9.4T, llamado toma de imágenes con tensor de difusión (ITD), al día postnatal (DPN) 21.

55 Ejemplos:

Para demostrar el efecto de la lactoferrina en la sustancia blanca los presentes inventores han elegido un modelo de suplementación materna bien aceptado y estimulante. Se encontró p.ej. que la suplementación con lactoferrina materna beneficiaba significativamente la protección y el desarrollo neuronal al aumentar el volumen de sustancia blanca contenida en el cuerpo caloso, por ejemplo en mamíferos con restricción del crecimiento intrauterino (RCIU).

60 Se obtuvo un modelo de retraso del crecimiento intrauterino (RCIU) tratando madres de animales con dexametasona (100 µg/kg/día) durante la tercera semana de gestación. La lactoferrina se administró a voluntad por vía oral a un nivel de dosis de 1 g/kg/día desde el inicio de la gestación hasta el final de la lactancia (6 semanas).

65 Se ensayaron los siguientes 3 grupos de animales:

Grupo 1: crías normales; sin administración de lactoferrina a las madres de control (simulación = bomba osmótica con tampón salino).

Grupo 2: crías con RCIU; sin administración de lactoferrina a las madres tratadas con DEX.

Grupo 3: crías con RCIU; suplementación con bLf (1 g/kg/día) de las madres tratadas con DEX desde el inicio de la gestación hasta el final de la lactancia.

La microestructura del tejido cerebral se valoró *ex vivo* mediante el uso de escaneo avanzado RM de alto campo a 9.4T, llamado toma de imágenes con tensor de difusión (ITD), al día postnatal (DPN) 21.

Dos grupos de crías con RCIU y un grupo normal se sometieron a la valoración *ex vivo* de la microestructura cerebral al día postnatal 21.

Al DPN 21 los animales se sometieron a una perfusión intracardíaca con NaCl al 0,9% y luego con paraformaldehído al 4%. Los cerebros se extrajeron, se pesaron y después se fijaron en paraformaldehído al 4% durante la noche; luego se conservaron a +4°C en solución salina tamponada con fosfato 1X. Los ensayos ITD *ex vivo* se realizaron con una bobina transceptora RF de jaula de pájaro de 25 mm. Los imanes de primer y segundo orden se ajustaron manualmente con un ancho de banda de agua de 20 hasta 40 Hz. Se usó una secuencia spin-eco con adición de los gradientes de difusión según Stejskal-Tanner. Los gradientes de difusión se aplicaron a lo largo de doce direcciones espaciales: (x, y, 0), (x, -y, 0), (x, 0, z), (x, 0, -z), (0, y, z), (0, y, -z) así como las seis direcciones opuestas para cancelar los términos cruzados del valor b. La intensidad, la duración y el tiempo de difusión se ajustaron a 22 G/cm, 3 ms y 20 ms, respectivamente, para un valor b de 1184 s·mm². Se muestreó un campo visual de 17 × 17 mm² sobre una cuadrícula cartesiana de 128 × 64 rellena con ceros hasta 256 × 256, para un tamaño de pixel de 66 µm en el plano. En el plano axial se obtuvieron 15 cortes de 0,5 mm de espesor. Los escaneos se promediaron 10 veces con TE/TR = 35/2000 ms. Análisis de los datos: con el programa propio Matlab (Mathworks, Natick, MA) se obtuvieron los valores de difusividad (D_{min}, D_{med} y D_{max}) del tensor. Se calculó la difusividad ortogonal (D_{ort} = (D_{min}, D_{med})/2), la difusividad paralela (D// = D_{max}), la difusividad media (D_{AV} = (D_{min} + D_{med} + D_{max})/3) y la anisotropía fraccional (AF = [(3/2) × ((D_{min} - MD)² + (D_{med} - MD)² + (D_{max} - MD)²) / (D_{min}² + D_{med}² + D_{max}²)]^{1/2}).

El programa permite delinear manualmente la región de interés (RDI) en los mapas de AF. Se analizaron dos regiones diferentes del cerebro: el cuerpo calloso (CC) y el córtex (CX) en 5 diferentes planos de imagen cerebral.

Resultados

IRM

Para este proyecto se ha desarrollado nuevo equipamiento de IRM (antena y soporte). En combinación con una secuencia optimizada para la toma de imágenes con tensor de difusión, la ganancia de resolución en comparación con el protocolo anterior es de unas 3,6 veces (aumento de resolución de 2·10⁻² mm³ hasta 5,5·10⁻³ mm³).

Las imágenes DT se obtuvieron de cortes practicados a todo lo largo del cuerpo calloso (CC) en cerebros extirpados de crías de 21 días. Empleando parámetros de anisotropía fraccional (AF) se comparó la integridad de la estructura cortical y de los tractos fibrosos (CC) entre los distintos grupos al DPN 21 (n = 6 para todos los grupos) (fig. 1).

Córtex: no se observó ninguna diferencia del valor AF.

En el cuerpo calloso se midió un descenso importante del valor AF del grupo de control-Dex en comparación con el grupo de control-vehículo (figura 2). Ello es debido al aumento significativo de D_{ort}, que podría relacionarse con un defecto de mielinización. Las crías expuestas a la suplementación de la madre con lactoferrina presentaron valores de recuperados AF en su cuerpo calloso (fig. 2). El cuerpo calloso es la mayor estructura de sustancia blanca en el cerebro y consta de 200-250 millones de proyecciones axonales contralaterales que conectan los hemisferios izquierdo y derecho del cerebro, facilitando la comunicación entre ellos.

En conclusión, la exposición prenatal a Dex indujo alteraciones en la estructura y en el desarrollo del cerebro. La suplementación de la madre con lactoferrina durante la gestación y lactancia pudo corregir (reparar) las alteraciones en la estructura de la sustancia blanca cerebral inducidas por la exposición prenatal a Dex y promover su desarrollo. Estos resultados son una prueba convincente de que la suplementación con lactoferrina tiene beneficios en la neuroprotección y en los procesos de maduración cerebral, p.ej. en los niños.

REIVINDICACIONES

- 5 1. Composición que comprende lactoferrina para promover el desarrollo de la sustancia blanca, para tratar o prevenir el desarrollo retrasado de la sustancia blanca y o una pérdida de la misma.
2. Composición para emplear según la reivindicación 1, que contiene una cantidad de lactoferrina de al menos 0,1 g / 100 kcal de composición.
- 10 3. Composición para emplear según una de las reivindicaciones anteriores, cuya concentración de lactoferrina está comprendida aproximadamente en el intervalo de 0,01 g – 100 g, con preferencia de 0,1 g – 50 g, sobre todo de 2 g – 25 g por 100 kcal.
- 15 4. Composición para emplear según una de las reivindicaciones anteriores, la cual debe administrarse en una cantidad correspondiente a la ingestión diaria de al menos 0,01 g de lactoferrina por kg de peso corporal.
5. Composición para emplear según una de las reivindicaciones anteriores, en la cual la lactoferrina se prepara como leche o fracción de suero de leche enriquecido con lactoferrina.
- 20 6. Composición para emplear según una de las reivindicaciones anteriores, que contiene una fuente proteica con al menos 50% en peso de proteína de suero de leche.
7. Composición para emplear según una de las reivindicaciones anteriores, en que la sustancia blanca es la del cerebro.
- 25 8. Composición para emplear según una de las reivindicaciones anteriores, en que la sustancia blanca es la del cuerpo calloso.
9. Composición para emplear según una de las reivindicaciones anteriores, en que se incrementa el volumen de sustancia blanca.
- 30 10. Composición para emplear según una de las reivindicaciones anteriores, que se elige del grupo formado por productos alimenticios, comida para animales, composiciones farmacéuticas, formulaciones nutricionales, productos nutracéuticos, bebidas, aditivos alimentarios, fórmulas de alimentación infantil y composiciones de alimentación materna.
- 35 11. Composición para emplear según una de las reivindicaciones anteriores, la cual debe administrarse a las madres durante el embarazo y la lactancia, a los bebés prematuros o nacidos a término, a bebés hasta 1-2 años, a niños y/o a adolescentes.
- 40 12. Composición para emplear según una de las reivindicaciones anteriores, la cual debe administrarse a las madres de niños con RCIU o a niños con RCIU.
13. Composición para emplear según una de las reivindicaciones anteriores, destinada al tratamiento o a la prevención de alteraciones de la sustancia blanca.
- 45 14. Composición para emplear según la reivindicación 13, en que la alteración de la sustancia blanca es de tipo hereditario o adquirido.

Figura 1:

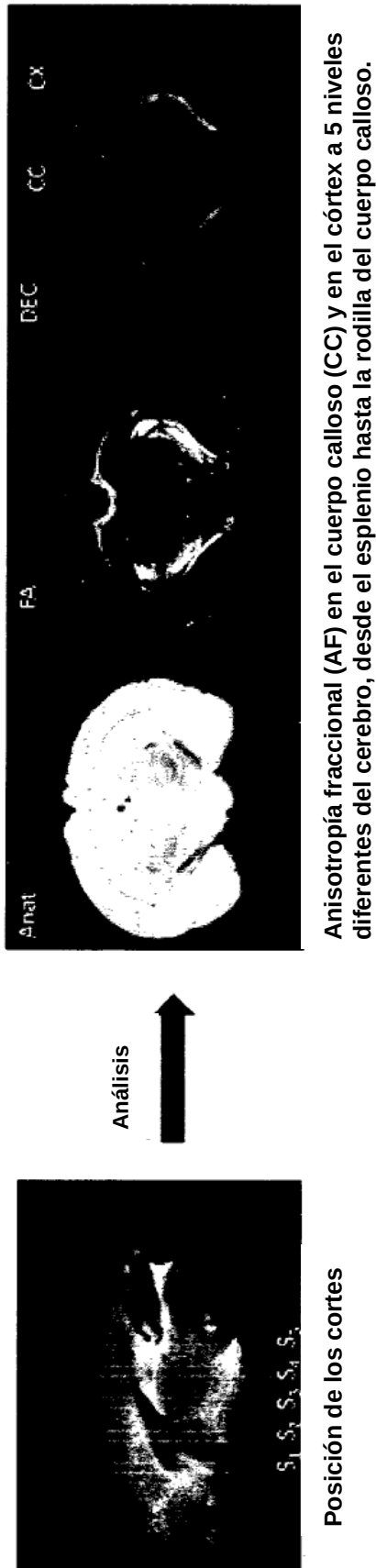
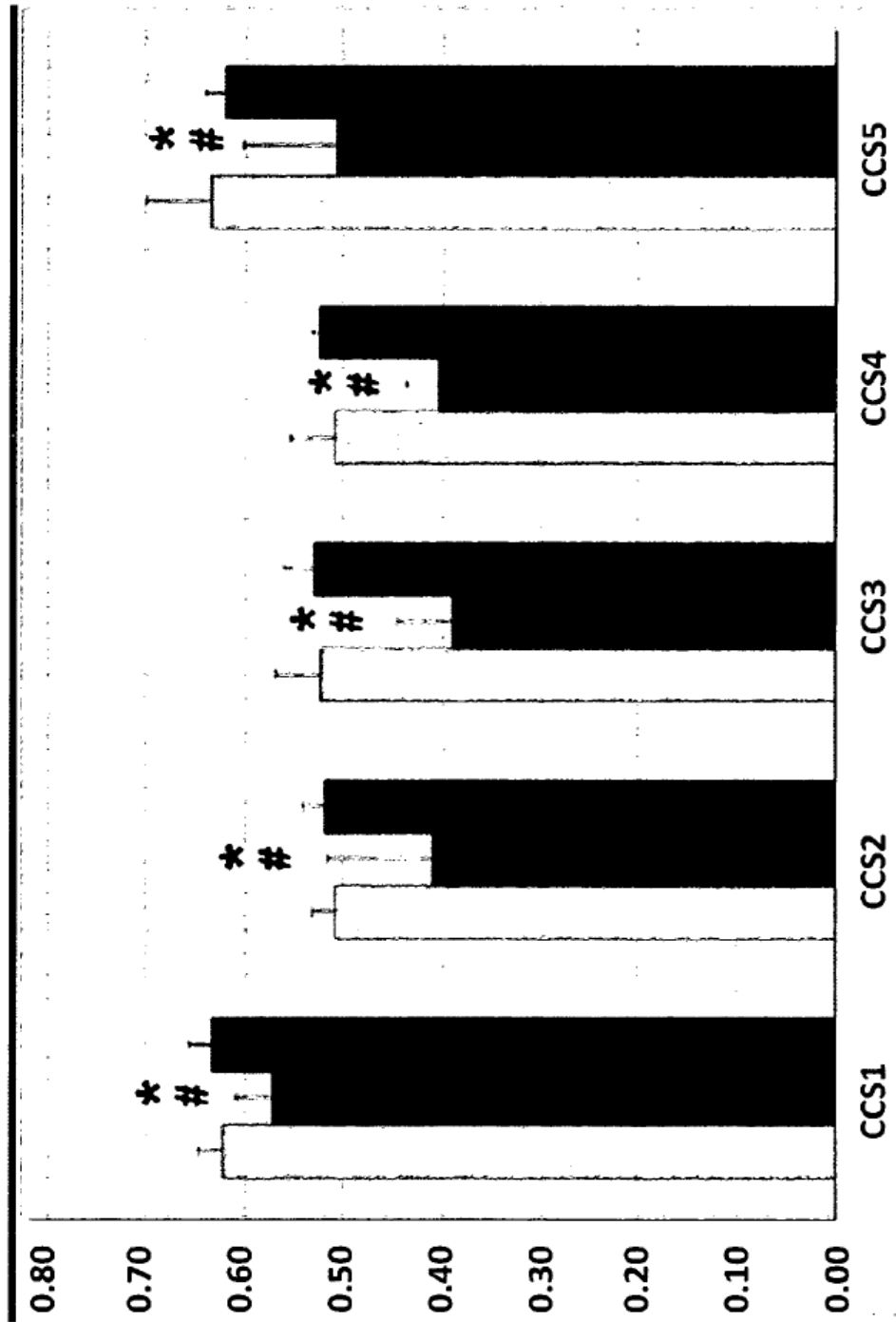


Figura 2:



Valores AF en 5 posiciones distintas del cuerpo caloso: * y # significan diferencias importantes entre el grupo control-Dex y el grupo control-vehículo y el grupo bLf-Dex respectivamente