

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 540 994**

51 Int. Cl.:

A61K 31/70 (2006.01)

A23L 1/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **11.03.2011** **E 11754146 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **29.04.2015** **EP 2544539**

54 Título: **Suplementación con ácido siálico materno**

30 Prioridad:

12.03.2010 US 313630 P

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

15.07.2015

73 Titular/es:

DSM IP ASSETS B.V. (100.0%)

Het Overloon 1

6411 TE Heerlen, NL

72 Inventor/es:

ZIMMER, JOHN PAUL y

BUTT, CHRISTOPHER MICHAEL

74 Agente/Representante:

LEHMANN NOVO, María Isabel

ES 2 540 994 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

Suplementación con ácido siálico materno

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

Campo de la invención

- 5 La invención se refiere a suplementos que contienen ácido siálico y al uso de tales suplementos para una mujer que puede resultar en beneficios para el desarrollo de un feto y/o niño.

Antecedentes de la técnica

- 10 El rápido crecimiento y desarrollo de un feto o un niño exige una demanda significativa en el suministro materno de nutrientes. Véase, p. ej., Crawford *et al.*, *Eur. J. Pediatr.* 1998; 157: 23-27. Los déficits de nutrientes tienen profundos efectos sobre el crecimiento y el desarrollo estructural/funcional del feto o niño, en particular en el crecimiento y desarrollo del cerebro. El crecimiento del cerebro, incluyendo el número de células y la conectividad estructural y sináptica, alcanza su pico a las 26 semanas de gestación y continúa a un ritmo elevado durante todo el primer año de vida. Este período de crecimiento del cerebro es crítico, porque una vez que haya pasado el período, no puede ser reiniciado. Además, este período de crecimiento es particularmente importante en los bebés prematuros. Véase, p. ej., Crawford *et al.*, *Eur. J. Pediatr.* 1998; 157: 23-27.

- 20 Numerosos estudios indican que los bebés alimentados con leche materna logran un mejor desarrollo cognitivo y alcanzan una puntuación más alta en pruebas de inteligencia que los bebés alimentados con biberón. Véase, p. ej., Mortensen *et al.*, *JAMA* 2002; 287:2365-2371. Por ejemplo, se ha demostrado que el cociente intelectual (IQ) aumenta en los niños que recibieron una mayor duración de la lactancia materna, especialmente en recién nacidos de bajo peso al nacer. Véase, p. ej., Anderson *et al.*, *Am. J. Clin. Nutr.* 1999; 70:525-535.

- 25 Lípidos complejos de gangliósidos, así como ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga (LCPUFAs) tales como el ácido docosahexaenoico (DHA) están presentes en la leche humana y han sido implicados en la mejora de la agudeza visual y la capacidad cognitiva en niños. Véase, p. ej., la Publicación Internacional N° WO 2009/051502 A1 y Gibson, *Lancet* 1999; 354:1919-1920. Sin embargo, otros componentes de la leche materna pueden ser importantes para el crecimiento del cerebro y el desarrollo de un feto o niño. Estos factores tales como enzimas, hormonas, factores de crecimiento y ácido siálico, se encuentran en la leche humana y están típicamente poco representados en fórmulas infantiles. Véase, p. ej., McVeagh y Miller, *J Paediatr. Child Health* 1997; 33:281-286.

- 30 De los factores descritos anteriormente, el ácido siálico ha demostrado tener una presencia simultánea en cantidades significativas tanto en la leche humana como en el cerebro humano. Véase, p. ej., McVeagh y Miller, *J. Paediatr. Child Health* 1997; 33: 281-286. Ácido siálico es una expresión genérica para los derivados N- u O-sustituidos de ácido neuramínico, un monosacárido con una cadena principal de nueve carbonos, que son un componente estructural y funcional de los gangliósidos. Véase, p. ej., Varki y Schauer (2009) en *Essentials of Glycobiology*. 2ª ed., Cold Spring Harbor Press. Cap. 14; y la Fig. 1. El ácido siálico más predominante que se encuentra en los mamíferos es el ácido N-acetilneuramínico (NANA).

- 35 Se han descrito ciertos roles para el ácido siálico en el desarrollo y la patología de la enfermedad. Por ejemplo, la inactivación del gen que codifica una enzima de la biosíntesis del ácido siálico, uridina difosfo-N-acetilglucosamina (UDP-GlcNAc) 2-epimerasa/N-acetilmanosamina (MacNAc) quinasa (GNE/MNK), se ha correlacionado con niveles reducidos de ácido siálico y el desarrollo de miopatía hereditaria de cuerpos de inclusión (HIBM), un trastorno neuromuscular progresiva del adulto. Véase, p. ej., Galeano *et al.*, *J Clin. Invest.* 2007; 117:1585-1594; Malicdan *et al.*, *Nature Med.* 2009; 15:690-695; y Huizing y Krasnewich, *Biochim. Biophys. Acta* 2009; 1792:881-887. Además, se ha descrito que la inactivación del gen UDP-GlcNAc/MacNAc da lugar a una letalidad embrionaria temprana en ratones, lo que sugiere un rol para el gen UDP-GlcNAc/MacNAc en el desarrollo. Véase, p. ej., Schwarzkopf *et al.*, *PNAS* 2002; 99:5267-5270. También se ha descrito el uso de ácido siálico para apoyar el sistema inmune y restablecer la salud del sistema nervioso central y periférico en los ancianos. Véanse, p. ej., las Solicitudes de Patente Europea N°s. 2116140 A1 y 2116139 A1. El documento US 20040265462 proporciona un suplemento nutricional que comprende una fórmula de leche para bebés con ácidos siálicos.

- 50 Una ingesta incrementada de una madre de algunos nutrientes (p. ej., ácido docosahexaenoico) puede beneficiar el desarrollo del cerebro del niño. Sin embargo, no ha habido evidencia de que sea inadecuada la cantidad de ácido siálico que produce una madre de forma natural. Tal como se muestra en los Ejemplos, la suplementación materna con ácido siálico resultó claramente en beneficios para el desarrollo de un feto o de un niño, lo que sugiere que es

necesaria la suplementación materna con ácido siálico. La presente invención aborda esta necesidad proporcionando ácido siálico que se puede administrar a una mujer durante la preconcepción, embarazo/gestación y/o lactancia/posparto según se describe en esta memoria.

Mientras que la suplementación materna con NANA no se ha descrito previamente, Hedlund *et al.* (*Mol. Cell. Biol.* 2007; 27:4340-4346) informaron de la alimentación de otro ácido siálico, ácido N-glicolilneuramínico (Neu5Gc), a ratones que carecen del gen para producir Neu5Gc. Los investigadores informaron que la alimentación de Neu5Gc a madres que carecen de este gen no transfiere Neu5Gc a cachorros que también carecen del gen. Además, se sabe que los mamíferos adultos sintetizan fácilmente niveles suficientes de ácido siálico y no existe una evidencia clara sobre si la madre suministra o no ácido siálico al feto a través de la unidad maternoplacentar. Véase, p. ej., Briesse *et al.*, *Z. Geburtsh. Neonatol.* 1999; 203:63-68.

La tasa de desarrollo más rápido del cerebro ("el crecimiento rápido del cerebro") se produce durante la gestación y se prolonga hasta al menos el final del primer año de vida. Como tal, la presente invención optimiza los beneficios para el desarrollo de suplementos maternos tales como el ácido siálico de un feto o un niño, proporcionando la suplementación durante este período crítico del desarrollo del cerebro.

15 BREVE COMPENDIO DE LA INVENCION

La presente invención está dirigida a composiciones y métodos para proporcionar ácido siálico a una mujer, que comprende la administración de ácido siálico a la mujer durante al menos una de las etapas de pre-concepción, embarazo y lactancia. En algunas realizaciones, el ácido siálico proporciona un beneficio de desarrollo a un feto o niño de la mujer. En algunas realizaciones, el ácido siálico es un ácido siálico libre. En algunas realizaciones, el ácido siálico se selecciona del grupo que consiste en: conjugados de oligosacáridos, conjugados de lípidos, conjugados de proteínas y combinaciones de los mismos. En algunas realizaciones, el ácido siálico se selecciona del grupo que consiste en: 3'-sialil-lactosa, gangliósidos y glicomacropéptido de caseína. En algunas realizaciones, el ácido siálico está en forma de ácido n-acetilneuramínico.

En algunas realizaciones, el ácido siálico es un precursor de ácido siálico que se metaboliza en ácido siálico. En algunas realizaciones, el precursor de ácido siálico se selecciona de N-acetilmanosamina.

En algunas realizaciones, el ácido siálico se administra durante el embarazo y la lactancia. En algunas realizaciones, el ácido siálico se administra durante la pre-concepción, el embarazo y la lactancia. En algunas realizaciones, el ácido siálico se administra durante aproximadamente los dos primeros años siguientes al nacimiento.

En algunas realizaciones, el beneficio del desarrollo es un crecimiento mejorado del sistema nervioso y/o el desarrollo o el crecimiento del cerebro del feto o del niño. En algunas realizaciones, el beneficio del desarrollo es una mejora neurológica del cerebro. En algunas realizaciones, el beneficio de desarrollo se selecciona del grupo que consiste en: expresión y/o desarrollo incrementado de mielina madura, extensión potenciada de neuritas, niveles incrementados de proteína básica de mielina y desarrollo mejorado de la materia gris del cerebro. En algunas realizaciones, el beneficio del desarrollo es en la materia gris del cerebro.

En algunas realizaciones, el ácido siálico se administra a la mujer en una forma de dosificación. En algunas realizaciones, la forma de dosificación se selecciona del grupo que consiste en: suplementos nutricionales, alimentos, bebidas, formulaciones farmacéuticas y combinaciones de los mismos. En algunas realizaciones, la forma de dosificación contiene ácido siálico en una cantidad de 0,01% a 10% en peso de la forma de dosificación. En algunas realizaciones, la forma de dosificación contiene ácido siálico en una cantidad de 10% a 90% en peso de la forma de dosificación.

En algunas realizaciones, el ácido siálico se administra a la mujer en una cantidad de 5 mg/kg/día a 200 mg/kg/día de peso corporal de la mujer. En algunas realizaciones, el ácido siálico se administra en una cantidad de 25 mg/kg/día a 100 mg/kg/día de peso corporal de la mujer. En algunas realizaciones, el ácido siálico se administra en una cantidad de 20 mg/día a 4000 mg/día. En algunas realizaciones, el ácido siálico se administra en una cantidad de 200 mg/día a 2000 mg/día.

En algunas realizaciones, los métodos comprenden, además, administrar el ácido siálico a la mujer en una forma de dosificación que comprende ácido siálico y un excipiente. Un excipiente puede ser, por ejemplo, uno o más ácidos grasos poliinsaturados, calcio, ácido fólico, vitamina E, tocotrienoles, vitamina D, magnesio, fósforo, vitamina K, hierro, vitamina B12, niacina, tiamina, riboflavina, biotina, vitamina B6, y las isoflavonas, zinc, ácido pantoténico, triglicéridos de cadena media, cobre, manganeso, magnesio, vitamina A, colina, vitamina C, yodo, selenio, prebióticos, probióticos, beta-caroteno, luteína, licopeno, alfa-caroteno, zeaxantina, beta-criptoxantina, caroteno gamma, jengibre y triptófano.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS/FIGURAS

La presente invención será más plenamente comprendida y apreciada por la siguiente Descripción Detallada en unión con los dibujos adjuntos.

La FIG. 1 es un esquema que representa miembros de la familia del ácido siálico.

- 5 Las FIGS. 2 y 3A-3B muestran los regímenes dietéticos de ratas que recibieron dietas suplementadas con ácido siálico, cuyos efectos se describen en los Ejemplos.

Las FIGS. 4A-4B muestran los efectos de la suplementación con ácido siálico materno sobre la expresión de la proteína básica de la mielina (MBP), normalizada a la expresión de β -actina, en los cerebros de las crías en desarrollo (rata).

- 10 Las FIGS. 5A-5C y 6A-6B muestran los efectos de la suplementación con ácido siálico materno sobre la extensión de neuritas en cultivos de células del hipocampo derivados de la descendencia.

Las FIGS. 7A-7C, 8A-8D, 9A-9B, 10A-10D, 11A-11B y 12A-12B muestran los efectos de la suplementación con ácido siálico en el espesor (FIGS. 7-11) o los niveles (FIG. 12) de la expresión de MBP en regiones específicas del cerebro de rata en desarrollo.

- 15 Las FIGS. 13A-13B muestran concentraciones de NANA y Neu5Gc en el líquido cefalorraquídeo (CSF) después de la administración de NANA.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

- 20 La presente invención proporciona métodos y composiciones para mejorar la salud de la mujer, del feto y/o niño y el desarrollo a través de la suplementación nutricional, por ejemplo, con ácido siálico. En algunas realizaciones, el ácido siálico se puede administrar a una mujer antes, durante y/o después del embarazo para mejorar la salud y el desarrollo de un feto y/o niño, incluyendo los beneficios para el desarrollo descritos adicionalmente en esta memoria. El ácido siálico puede estar en una diversidad de formas en los suplementos, incluyendo las formas de dosificación descritas adicionalmente en esta memoria.

Definiciones

- 25 Tal como se utiliza en esta memoria, un "niño" de la presente invención incluye, pero no se limita a un individuo o sujeto de cualquier sexo que sea de una edad entre el momento del parto y aproximadamente dos años después del parto o en el momento en el que la lactancia materna se ha detenido, el que sea mayor. Este término incluye a bebés y niños pequeños.

- 30 Tal como se utiliza en esta memoria, una "mujer" de la presente invención incluye, pero no se limita a, un individuo o sujeto que es la madre biológica de un feto o un niño, un portador sustituto de un feto y un individuo o sujeto que amamanta a un niño. Este término también incluye un individuo o sujeto que está intentando quedarse embarazada.

Tal como se utiliza en esta memoria, un "suplemento materno" de la presente invención se puede administrar a y útil para cualquier mujer descrita en esta memoria.

- 35 Tal como se utiliza en esta memoria, la "lactancia materna" incluye, pero no se limita a la alimentación del pecho de una mujer (por ejemplo, lactante) y la alimentación de un niño con leche materna de una botella (p. ej., un biberón). Incluye una mujer que amamanta y alimenta tanto la fórmula infantil a su hijo (p. ej., lactancia materna parcial).

- 40 Tal como se utiliza en esta memoria, la expresión "ácido siálico" se refiere a cualquier miembro solo, o en combinación con uno o más de otros miembros, de la conocida familia de derivados del ácido neuramínico azúcar de nueve carbonos. Esta expresión incluye cualesquiera sustituciones o variantes de ácido siálico y cualesquiera precursores de ácido siálico conocidos en la técnica y descritos en esta memoria. Esta expresión incluye formas conjugadas y no conjugadas de ácido siálico y ácido siálico libre. En algunas realizaciones, el ácido siálico es el ácido N-acetilneuramínico.

Tal como se utiliza en esta memoria, "suplementación con ácido siálico" se refiere a la administración de ácido siálico a una mujer que resulta en un beneficio de desarrollo para un feto y/o niño.

- 45 Tal como se utiliza en esta memoria, un "precursor de ácido siálico" o "precursor ácido siálico" se refiere a un com-

puesto que se metaboliza para formar ácido siálico. Un precursor de ácido siálico puede incluir, pero no se limita a N-acetilmanosamina, N-propanoilmanosamina, ácido 2-ceto-3-desoxinonónico (KDN), ácido N-glicolilneuramínico (Neu5Gc), la molécula de ácido neuramínico de ácido siálico del núcleo (Neu), y combinaciones de los mismos.

5 Tal como se utiliza en esta memoria, un "beneficio del desarrollo" se refiere a una mejora en un factor relacionado con el desarrollo o crecimiento de un feto o niño. Beneficios para el desarrollo de un feto o un niño pueden incluir uno o más de, pero no se limitan a, un crecimiento y/o desarrollo potenciado del sistema nervioso, mejoras neurológicas, expresión y/o desarrollo incrementado de mielina madura, extensión incrementada de neuritas (p. ej., en el hipocampo), niveles incrementados de proteína básica de mielina (p. ej., en el cerebro completo, el cerebelo, cuerpo calloso, cuerpo calloso frontal y/o rostral, cuerpo calloso medio, decusación de la línea media del cuerpo calloso, tracto olfatorio lateral, vías de salida motrices, vías de entrada sensoriales, pirámides motrices y/o lemnisco medial), desarrollo incrementado de la materia blanca (p. ej., en el cuerpo calloso, tracto olfatorio lateral u otros tractos de materia blanca según se describe más arriba, pero no limitados a la anterior) y desarrollo incrementado del hipocampo según se describe adicionalmente en esta memoria.

15 Tal como se utiliza en esta memoria, "pre-concepción" se refiere al período durante el cual una mujer está tratando de quedar embarazada. En algunas realizaciones, la administración de ácido siálico durante la pre-concepción es útil para el período de tiempo desde la concepción hasta cuando una mujer se da cuenta de que está embarazada, o cuando se confirma un embarazo.

20 Tal como se utiliza en esta memoria, los términos y expresiones "embarazo/gestación", "embarazo" y "gestación" se refieren al período de tiempo desde la concepción hasta el parto de un feto. Las etapas del embarazo/gestación incluyen la fase I (el primer trimestre), la fase II (segundo trimestre) y la fase III (tercer trimestre).

Tal como se utiliza en esta memoria, los términos y expresiones "lactancia/post-parto", "lactancia" y "post-parto" se refieren al período de tiempo desde el parto de un feto hasta aproximadamente dos años después del parto o al tiempo en que se detiene la lactancia materna.

Ácido siálico

25 El ácido siálico incluye una familia de más de 50 derivados conocidos del ácido neuramínico azúcar de nueve carbonos (ácido 5-amino-3,5-didesoxi-D-glicero-D-galacto-nonulosónico). Véase, p. ej., Schauer, *Glycoconj. J.* 2000; 17:485-499 y la Fig. 1. Como un compuesto o resto individual, el ácido siálico es un aminoazúcar de 9 carbonos, cuya estructura se describe fácilmente en la bibliografía química. Véase, p. ej., Kontou *et al.*, *Biol. Chem.* 2009; 390:575-579. Una rama de la familia del ácido siálico está N-acetilada para formar ácido N-acetilneuramínico, que es la forma más extendida del ácido siálico en los seres humanos. Véase, p. ej., Kontou *et al.*, *Biol. Chem.* 2009; 390:575-579. Otros nombres generalmente aceptados para el ácido N-acetilneuramínico incluyen ácido siálico; ácido O-siálico; ácido 5-acetamido-3,5-didesoxi-D-glicero-D-galacto-2-nonulosónico; ácido 5-acetamido-3,5-didesoxi-D-glicero-D-galactonulosónico; ácido aceneurámico; N-acetil-neuraminato; ácido N-acetilneuramínico; NANA; y Neu5Ac.

35 Moléculas de ácido siálico pueden estar sustituidas en más de una posición, produciéndose una O-sustitución en C4, -7, -8 y -9 (O-acetilo, O-metilo, O-sulfato, y grupos fosfato) y la introducción de un doble enlace entre C-2 y C-3 puede dar lugar a una amplia diversidad de posibles isómeros. Véase, p. ej., Kontou *et al.*, *Biol. Chem.* 2009; 390: 575-579 y la Fig. 1. Otra modificación es la presencia de un grupo hidroxilo en lugar de un grupo amino en la posición 5 del azúcar, lo que conduce a ácido 2-ceto-3-desoxi-nonulosónico (KDN), que se ha encontrado en los huevos de peces y glóbulos rojos. Véase, p. ej., Kontou *et al.*, *Biol. Chem.* 2009; 390:575-579 e Inoue *et al.*, *J. Biol. Chem.* 1998; 273:27199-27204.

Fuentes de Ácido Siálico

45 En las composiciones y métodos de la presente invención se puede utilizar cualquier fuente de ácido siálico, incluyendo, pero no limitado a fuentes animales, vegetales y microbianas. Fuentes ilustrativas incluyen, pero no se limitan a ácido siálico en formas monoméricas o enlazadas tales como ácido N-acetil-neuramínico monomérico o ácido polisíálico; ácido siálico unido a una proteína tal como glicomacropéptido de caseína o mucina; ácido siálico unido a un hidrato de carbono tal como sialil-lactosa o polisacáridos capsulares bacterianos sialilados; y ácido siálico unido a un lípido tal como un gangliósido. En algunas realizaciones, el ácido siálico no está unido a una proteína, hidrato de carbono o lípido. En algunas realizaciones, el ácido siálico no está unido a una proteína. En algunas realizaciones, el ácido siálico no es un hidrato de carbono. En algunas realizaciones, el ácido siálico no está unido a un lípido. En algunas realizaciones, el ácido siálico no es parte de un gangliósido u otro glicolípido.

En algunas realizaciones, el ácido siálico puede ser proporcionado al proporcionar un precursor de ácido siálico que se metaboliza a ácido siálico. En algunas realizaciones, un precursor de ácido siálico puede ser N-

acetilmanosamina. Véase, p. ej., Kontou *et al.*, *Biol. Chem.* 2009; 390:575-579; y Gagiannis *et al.*, *Biochim Biophys Acta* 2007;1770: 297-306.

5 En algunas realizaciones, fuentes de ácido siálico adecuadas pueden ser naturales o sintéticas, y pueden incluir cualquiera de los derivados de ácido siálico que se producen de forma natural y actualmente identificados, que pueden incluir ácido siálico libre, conjugados de oligosacáridos (p. ej., sialiloligosacáridos), conjugados de lípidos (p. ej., glicolípidos), conjugados de proteínas (p. ej., glicoproteínas), y combinaciones de los mismos.

10 En algunas realizaciones, fuentes de ácido siálico adecuadas pueden incluir sialiloligosacáridos que se encuentran comúnmente en la leche humana, ya sea natural o sintética. En algunas realizaciones, los sialiloligosacáridos pueden ser 3'-sialil-lactosa (3'SL) y/o 6'-sialil-lactosa (6'SL). Otros sialiloligosacáridos adecuados incluyen, pero no se limitan a los que contienen una o más moléculas de ácido siálico conjugadas a oligosacáridos.

15 Otros ácidos siálicos adecuados incluyen, pero no se limitan a cualquier glicolípido correspondiente que es adecuado para su uso en una fórmula infantil, incluyendo, pero no limitado a esfingosina, glucosa, galactosa, N-acetilgalactosamina, N-acetilglucosamina y molécula de ácido N-acetilneuramínico. Compuestos de ácido siálico de este tipo también pueden incluir, pero no se limitan a uno cualquiera o más de las varias glicoproteínas que se encuentran comúnmente en la leche humana que se sabe que están sialiladas (p. ej., kappa-caseína, alfa-lactoalbúmina y lactoferrina).

20 En algunas realizaciones fuentes adecuadas de ácido siálico pueden incluir aislados, concentrados y/o extractos de leche o productos lácteos de mamíferos, incluyendo, pero no limitados a la leche humana y bovina. En algunas realizaciones, la leche bovina puede ser una fuente para el uso en esta memoria, incluyendo, pero no limitada a proteína de suero de leche enriquecida se concentra como se describe en esta memoria. En algunas realizaciones, fuentes individuales de ácido siálico adecuados para su uso en esta memoria pueden incluir, pero no se limitan a, Lacprodan CGMP-10 (glicomacropéptido de caseína con ácido siálico al 4,2%), disponible de Aria Food Ingredients, Dinamarca; y Biopure glicomacropéptido (con ácido siálico al 7-8%), disponible de Daisco Foods International, Eden Prairie, Minn., EE.UU.

25 Formas de dosificación

En algunas realizaciones, el ácido siálico se puede administrar a una mujer en una composición o forma de dosificación tal como un suplemento nutricional, alimentos, formulación farmacéutica, bebida o combinaciones de los mismos. En algunas realizaciones, una forma de dosificación es un alimento, bebida y/o suplemento nutricional. En algunas realizaciones, la forma de dosificación es un alimento y/o bebida. En algunas realizaciones, la forma de dosificación es un alimento. En algunas realizaciones, la forma de dosificación es un suplemento nutricional, incluyendo, pero no limitado a una vitamina prenatal materna de prescripción o de venta libre. Los preparados de formas de dosificación de este tipo son bien conocidos para las personas de experiencia ordinaria en la técnica.

35 En algunas realizaciones, un ácido siálico se puede administrar en una formulación farmacéutica. Ejemplos de tales formulaciones farmacéuticas incluyen, pero no se limitan a la forma de dosificación de un comprimido masticable, comprimido de disolución rápida, comprimido efervescente, polvo reconstituible, elixir, líquido, disolución, suspensión, emulsión, comprimido, comprimido multi-capas, comprimido bi-capas, cápsula, cápsula de gelatina blanda, cápsula de gelatina dura, comprimido oblongo, pastilla, pastilla masticable, perla, polvo, gránulo, partícula, micropartícula, gránulo dispersable, píldora, irrigación, supositorio, crema, tópico, inhalante, inhalante aerosol, parche, inhalante de partículas, implante, implante de depósito, ingerible, inyectable, infusión, barrita energética, golosina, cereal, revestimiento de cereales, comida nutritiva, alimentos funcionales y/o combinaciones de los mismos. Los preparados de tales formulaciones farmacéuticas son bien conocidos para las personas de experiencia ordinaria en la técnica.

40 En algunas realizaciones, la forma de dosificación es un producto horneado y/o una mezcla; goma de mascar; cereales para el desayuno; producto de queso; frutos secos y/o productos de frutos secos; gelatina, pudín, y/o relleno; producto lácteo congelado; productos lácteos; producto lácteo; caramelos blandos; sopa y/o mezcla de sopas; alimentos de aperitivos; zumo de frutas; jugo de vegetales; grasa y/o aceite; productos pesqueros; producto de proteína vegetal; productos de aves de corral; y/o producto cárnico. En algunas realizaciones, la forma de dosificación es una golosina (por ejemplo, chocolate) y/o barrita energética. Los preparados de tales formas de dosificación son bien conocidos para las personas de experiencia ordinaria en la técnica.

Administración y Dosis de Ácido Siálico

50 La cantidad de ácido siálico en una forma de dosificación puede variar de acuerdo con factores tales como el estado patológico, edad, sexo y peso del individuo o mujer. Los regímenes de dosificación pueden ajustarse para proporcionar una suplementación óptima de ácido siálico y/o beneficio del desarrollo. Los regímenes de dosificación también se pueden ajustar para que contengan diferentes niveles de uno o más ácidos siálicos. En algunas realizaciones

nes, los diferentes niveles de ácido siálico se pueden adaptar para cada etapa de la pre-concepción, el embarazo o post-parto. La especificación para las formas de dosificación de la presente invención puede venir dictada o depender directamente de, por ejemplo, las características únicas de un ácido siálico en particular y del beneficio del desarrollo particular a conseguir.

5 En algunas realizaciones, una forma de dosificación útil en los métodos de la invención puede contener ácido siálico en una cantidad de al menos 0,01%, al menos 0,1%, al menos 0,2%, al menos 0,3%, al menos 0,4%, al menos 0,5%, al menos 0,6%, al menos 0,7%, al menos 0,8%, al menos 0,9%, al menos 1,0%, al menos 1,5%, al menos 2%, al menos 2,5%, al menos 3%, al menos 3,5 %, al menos 4%, al menos 4,5%, al menos 5%, al menos 5,5%, al menos 6%, al menos 6,5%, al menos 7%, al menos 7,5%, al menos 8%, al menos 8,5 %, al menos 9%, al menos 9,5%, al menos 10%, al menos 15%, al menos 20%, al menos 25%, al menos 30%, al menos 35%, al menos 40%, al menos 45 %, al menos 50%, al menos 55%, al menos 60%, al menos 65%, al menos 70%, al menos 75%, al menos 80%, al menos 85%, al menos 90%, al menos 95 %, al menos 99% o al menos 99,5% en peso de la forma de dosificación, e intervalos útiles se puede seleccionar entre cualquiera de estos valores, p. ej., de 0,01% a 99%, 0,01% a 1%, 0,1% a 10%, 0,5% a 10%, 1% a 5%, 5% a 25%, 5% a 95%, 5% a 80%, 10% a 95%, 15% a 95%, 20% a 95%, 25% a 95%, 30% a 95%, 35% a 95%, 40% a 95%, 45% a 95%, 50% a 95%, 1% a 99%, 5% a 99%, 10% a 99%, 15% a 99%, 20% a 99%, 25% a 99%, 30% a 99%, 35% a 99%, 40% a 99%, 45% a 99%, 50% a 99%, 5% a 70%, 10% a 70%, 15% a 70%, 20% a 70%, 25% a 70%, 30% a 70%, 35% a 70%, 40% a 70%, 45 % a 70%, y 50% a 70% en peso de la forma de dosificación.

20 En algunas realizaciones, una forma de dosificación útil en los métodos de la invención puede contener ácido siálico en una cantidad de 0,01% a 20% en peso de la forma de dosificación y, por ejemplo, puede ser un alimento y/o bebida. En algunas realizaciones, una forma de dosificación puede contener ácido siálico en una cantidad de 0,1% a 10% en peso de la forma de dosificación y, por ejemplo, puede ser un alimento y/o bebida. En algunas realizaciones, una forma de dosificación puede contener ácido siálico en una cantidad de 1% a 5% en peso de la forma de dosificación y, por ejemplo, se puede administrar en un alimento y/o bebida. En algunas realizaciones, una forma de dosificación puede contener ácido siálico en una cantidad de 0,01% a 1% en peso de la forma de dosificación y, por ejemplo, se pueden administrar en un alimento y/o bebida. En algunas realizaciones, una forma de dosificación puede contener ácido siálico en una cantidad de 0,01% a 99% en peso de la forma de dosificación y, por ejemplo, se pueden administrar en un alimento y/o bebida.

30 En algunas realizaciones, una forma de dosificación útil en los métodos de la invención puede contener ácido siálico en una cantidad de 10% a 90% en peso de la forma de dosificación y, por ejemplo, puede ser un suplemento nutricional. En algunas realizaciones, una forma de dosificación puede contener ácido siálico en una cantidad de 20% a 80% en peso de la forma de dosificación y, por ejemplo, puede ser un suplemento nutricional. En algunas realizaciones, una forma de dosificación puede contener ácido siálico en una cantidad de 30% a 70% en peso de la forma de dosificación y, por ejemplo, puede ser un suplemento nutricional. En algunas realizaciones, una forma de dosificación puede contener ácido siálico en una cantidad de 40% a 60% en peso de la forma de dosificación y, por ejemplo, puede ser un suplemento nutricional. En algunas realizaciones, una forma de dosificación puede contener ácido siálico en una cantidad de 70% a 90% en peso de la forma de dosificación y, por ejemplo, puede ser un suplemento nutricional. En algunas realizaciones, una forma de dosificación puede contener ácido siálico en una cantidad de 0,1% a 99% en peso de la forma de dosificación y, por ejemplo, puede ser un suplemento nutricional.

40 En algunas realizaciones, la cantidad de ácido siálico útil en los métodos de la invención puede ser al menos 2 mg/kg/día, al menos 3 mg/kg/día, al menos 5 mg/kg/día, al menos 10 mg/kg/día, al menos 15 mg/kg/día, al menos 20 mg/kg/día, al menos 25 mg/kg/día, al menos 30 mg/kg/día, al menos 35 mg/kg/día, al menos 40 mg/kg/día, al menos 45 mg/kg/día, al menos 50 mg/kg/día, al menos 55 mg/kg/día, al menos 60 mg/kg/día, al menos 65 mg/kg/día, al menos 70 mg/kg/día, al menos 75 mg/kg/día, al menos 80 mg/kg/día, al menos 85 mg/kg/día, al menos 90 mg/kg/día, al menos 95 mg/kg/día, al menos 100 mg/kg/día, al menos 105 mg/kg/día, al menos 110 mg/kg/día, al menos 115 mg/kg/día, al menos 120 mg/kg/día, al menos 125 mg/kg/día, al menos 130 mg/kg/día, al menos 135 mg/kg/día, al menos 140 mg/kg/día, al menos 145 mg/kg/día, al menos 150 mg/kg/día, al menos 155 mg/kg/día, al menos 160 mg/kg/día, al menos 165 mg/kg/día, al menos 170 mg/kg/día, al menos 175 mg/kg/día, al menos 180 mg/kg/día, al menos 185 mg/kg/día, al menos 190 mg/kg/día, al menos 195 mg/kg/día o al menos 200 mg/kg/día del peso corporal de la mujer, e intervalos útiles se pueden seleccionar entre cualquiera de estos valores, p. ej., de 2 mg/kg/día a 200 mg/kg/día, 3 mg/kg/día a 200 mg/kg/día, 5 mg/kg/día a 200 mg/kg/día, 10 mg/kg/día a 175 mg/kg/día, 25 mg/kg/día a 150 mg/kg/día, 50 mg/kg/día a 100 mg/kg/día, 5 mg/kg/día a 75 mg/kg/día, 10 mg/kg/día a 75 mg/kg/día, 3 mg/kg/día a 50 mg/kg/día y 25 mg/kg/día a 50 mg/kg/día.

55 En algunas realizaciones, la cantidad de ácido siálico útil en los métodos de la invención puede ser de al menos 20 mg/día, al menos 25 mg/día, al menos 30 mg/día, al menos 35 mg/día, al menos 40 mg/día, al menos 45 mg/día, al menos 50 mg/día, al menos 55 mg/día, al menos 60 mg/día, al menos 70 mg/día, al menos 75 mg/día, al menos 80 mg/día, al menos 85 mg/día, al menos 90 mg/día, al menos 100 mg/día, al menos 110 mg/día, al menos 120 mg/día, al menos 125 mg/día, al menos 130 mg/día, al menos 140 mg/día, al menos 150 mg/día, al menos 160 mg/día, al menos 170 mg/día, al menos 175 mg/día, al menos 180 mg/día, al menos 190 mg/día, al menos 200 mg/día, al me-

nos 225 mg/día, al menos 250 mg/día, al menos 275 mg/día, al menos 300 mg/día, al menos 325 mg/día, al menos 350 mg/día, al menos 375 mg/día, al menos 400 mg/día, al menos 425 mg/día, al menos 450 mg/día, al menos 475 mg/día, al menos 500 mg/día, al menos 525 mg/día, al menos 550 mg/día, al menos 575 mg/día, al menos 600 mg/día, al menos 625 mg/día, al menos 650 mg/día, al menos 675 mg/día, al menos 700 mg/día, al menos 725 mg/día, al menos 750 mg/día, al menos 775 mg/día, al menos 800 mg/día, al menos 825 mg/día, al menos 850 mg/día, al menos 875 mg/día, al menos 900 mg/día, al menos 925 mg/día, al menos 950 mg/día, al menos 975 mg/día, al menos 1000 mg/día, al menos 1100 mg/día, al menos 1200 mg/día, al menos 1300 mg/día, al menos 1400 mg/día, al menos 1500 mg/día, al menos 1600 mg/día, al menos 1700 mg/día, al menos 1800 mg/día, al menos 1900 mg/día, al menos 2000 mg/día, al menos 2100 mg/día, al menos 2200 mg/día, al menos 2300 mg/día, al menos 2400 mg/día, al menos 2500 mg/día, al menos 2600 mg/día, al menos 2700 mg/día, al menos 2800 mg/día, al menos 2900 mg/día, al menos 3000 mg/día, al menos 3100 mg/día, al menos 3200 mg/día, al menos 3300 mg/día, al menos 3400 mg/día, al menos 3500 mg/día, al menos 3600 mg/día, al menos 3700 mg/día, al menos 3800 mg/día, al menos 3900 mg/día o al menos 4000 mg/día, e intervalos útiles pueden seleccionarse entre cualquier de estos valores, p. ej., de 20 mg/día a 4000 mg/día, 50 mg/día a 3000 mg/día, 75 mg/día a 2000 mg/día, 100 mg/día a 1000 mg/día, 200 mg/día a 2000 mg/día, 250 mg/día a 1500 mg/día, 100 mg/día a 500 mg/día, 250 mg/día a 2000 mg/día, 200 mg/día a 1000 mg/día, o una cantidad que no es menor que 200 mg/día.

En algunas realizaciones, el ácido siálico se puede administrar durante una o más de las fases de la pre-concepción, el embarazo/gestación y durante la lactancia/post-parto. En algunas realizaciones, el ácido siálico se puede administrar durante una fase del embarazo/gestación. En algunas realizaciones, el ácido siálico se puede administrar durante la fase I del embarazo/gestación (primer trimestre), la fase II del embarazo/gestación (segundo trimestre) y/o de la fase III del embarazo/gestación (tercer trimestre). En algunas realizaciones, el ácido siálico se puede administrar durante la preconcepción, la fase I del embarazo/gestación (primer trimestre), la fase II del embarazo/gestación (segundo trimestre), la fase III del embarazo/gestación y/o durante la lactancia/post-parto. En otras realizaciones, el ácido siálico se puede administrar durante el primer, segundo y/o tercer trimestre y/o durante la lactancia/post-parto. En otras realizaciones, el ácido siálico se puede administrar durante el primer, segundo y/o tercer trimestre. En algunas realizaciones, el ácido siálico se administra se puede administrar durante cada una de las fases del embarazo. En algunas realizaciones, el ácido siálico se administra continuamente a través de cada una de las fases del embarazo.

En algunas realizaciones, el ácido siálico se puede administrar durante la pre-concepción durante y/o el primer trimestre. En algunas realizaciones, el ácido siálico se puede administrar durante el segundo trimestre. En algunas realizaciones, el ácido siálico se puede administrar durante el tercer trimestre. En algunas realizaciones, el ácido siálico se puede administrar durante la lactancia/post-parto. En algunas realizaciones, el ácido siálico se puede administrar post-parto a la mujer durante los dos primeros años después del nacimiento.

En algunas realizaciones, un feto se expone a ácido siálico mediante la administración de ácido siálico a una mujer embarazada con el feto. En algunas realizaciones, la suplementación de ácido siálico puede tener beneficios para la mujer, incluso si ésta no está amamantando a un niño. En algunas realizaciones, un ácido siálico se puede administrar a la mujer y a un feto o un niño. En algunas realizaciones, un feto se expone a ácido siálico mediante la administración de ácido siálico a la madre biológica del feto. En algunas realizaciones, un feto se expone a ácido siálico mediante la administración de ácido siálico a un portador sustituto del feto. En algunas realizaciones, el feto se expone a ácido siálico en los primer, segundo y tercer trimestres del embarazo. En algunas realizaciones, el feto se expone a ácido siálico durante los primer y segundo trimestres del embarazo. En algunas realizaciones, el feto se expone a ácido siálico durante los segundo y tercer trimestres del embarazo. En algunas realizaciones, el feto se expone a ácido siálico durante los primer y tercer trimestres del embarazo. En algunas realizaciones, el feto se expone a ácido siálico durante el primer trimestre del embarazo. En algunas realizaciones, el feto se expone a ácido siálico durante el segundo trimestre del embarazo. En algunas realizaciones, el feto se expone a ácido siálico durante el tercer trimestre del embarazo.

En algunas realizaciones, un niño se expone a ácido siálico proporcionando al niño una fórmula infantil que contiene ácido siálico. En algunas realizaciones, un niño se expone a ácido siálico alimentando al niño con leche materna que contiene ácido siálico, en donde la leche materna es de una mujer que recibió una suplementación de ácido siálico, según se describe en esta memoria. En algunas realizaciones, un niño se expone a ácido siálico alimentando al niño con leche materna, en donde la leche materna es de la madre biológica del niño que recibe la suplementación de ácido siálico según se describe en esta memoria. En algunas realizaciones, un niño se expone a ácido siálico alimentando al niño con leche materna que contiene ácido siálico, en donde la leche materna es del portador sustituto del niño que recibe una suplementación de ácido siálico según se describe en esta memoria. En algunas realizaciones, el niño se expone a ácido siálico desde el nacimiento hasta los 5 años de edad. En algunas realizaciones, el niño se expone a ácido siálico desde el nacimiento hasta los 4 años de edad. En algunas realizaciones, el niño se expone a ácido siálico desde el nacimiento hasta los 3 años de edad. En algunas realizaciones, el niño se expone a ácido siálico desde el nacimiento hasta los 2 años de edad. En algunas realizaciones, el niño se expone a ácido siálico desde el nacimiento hasta 1 año de edad. En algunas realizaciones, el niño se expone a ácido siálico de 1 a 3 años de edad. En algunas realizaciones, el niño se expone a ácido siálico de 1 a 2 años de edad.

En algunas realizaciones, el ácido siálico se puede proporcionar sobre una base diaria durante todo o la mayor parte del período de tiempo desde el nacimiento hasta aproximadamente 24 meses de edad. En algunas realizaciones, el ácido siálico se puede proporcionar con menos de una base diaria durante un período de tiempo de menos de dos años, siempre que se obtengan resultados deseables. En algunas realizaciones, el ácido siálico se puede administrar a la mujer comenzando en el primer trimestre, continuando durante toda la gestación y durante aproximadamente los primeros dos años de lactancia/lactancia materna después del nacimiento.

En algunas realizaciones, una forma de dosificación comprende ácido siálico y uno o más excipientes. En algunas realizaciones, un excipiente puede ser, por ejemplo, uno o más suplementos nutricionales y/o vitaminas prenatales maternas, incluyendo, pero no limitado a uno o más ácidos grasos poliinsaturados, calcio, ácido fólico, vitamina E, tocotrienoles, vitamina D, magnesio, fósforo, vitamina K, hierro, vitamina B12, niacina, tiamina, riboflavina, biotina, vitamina B6, e isoflavonas, zinc, ácido pantoténico, triglicéridos de cadena media, cobre, manganeso, magnesio, vitamina A, colina, vitamina C, yodo, selenio, prebióticos, probióticos, beta-caroteno, luteína, licopeno, alfa-caroteno, zeaxantina, beta-criptoxantina, gamma caroteno, jengibre y triptófano.

En algunas realizaciones, una composición o forma de dosificación de la invención comprende ácido siálico. En algunas realizaciones, una composición o forma de dosificación de la invención comprende ácido siálico y fórmula infantil. En algunas realizaciones, una forma de dosificación puede comprender al menos 0,1 mg, al menos 1 mg, al menos 5 mg, al menos 10 mg, al menos 15 mg, al menos 20 mg, al menos 25 mg, al menos 30 mg, al menos 35 mg, al menos 40 mg, al menos 45 mg, al menos 50 mg, al menos 55 mg, al menos 60 mg, al menos 65 mg, al menos 70 mg, al menos 75 mg, al menos 80 mg, al menos 85 mg, al menos 90 mg, al menos 95 mg, al menos 100 mg, al menos 105 mg, al menos 110 mg, al menos 115 mg, al menos 120 mg, al menos 125 mg, al menos 130 mg, al menos 135 mg, al menos 140 mg, al menos 145 mg, al menos 150 mg, al menos 200 mg, al menos 250 mg, al menos 300 mg, al menos 350 mg, al menos 400 mg, al menos 450 mg, al menos 500 mg, al menos 550 mg, al menos 600 mg, al menos 650 mg, al menos 700 mg, al menos 750 mg, al menos 800 mg, al menos 850 mg, al menos 900 mg, al menos 950 mg, al menos 1.000 mg, al menos 1.100 mg, al menos 1.200 mg, al menos 1.300 mg, al menos 1.400 mg, al menos 1.500 mg, al menos 1.600 mg, al menos 1.700 mg, al menos 1.800 mg, al menos 1.900 mg o al menos 2.000 mg de ácido siálico, e intervalos útiles se pueden seleccionar entre cualquiera de estos valores, por ejemplo de 0,1 mg a 2.000 mg de ácido siálico, de 1 mg a 1.000 mg, de 1 mg a 500 mg, de 1 mg a 100 mg de ácido siálico, de 5 mg a 50 mg de ácido siálico, de 10 mg a 40 mg, o de 25 mg a 1.000 mg de ácido siálico.

En algunas realizaciones, una forma de dosificación se administra a la mujer al menos una vez al día, al menos dos veces al día, al menos tres veces al día, al menos cuatro veces al día, al menos cinco veces al día, al menos seis veces al día, al menos siete veces al día, al menos ocho veces al día, al menos nueve veces al día o al menos diez veces al día. En algunas realizaciones, una forma de dosificación se administra a la mujer de una a diez veces al día. En algunas realizaciones, una forma de dosificación se administra a la mujer de una a cinco veces al día. En algunas realizaciones, una forma de dosificación se administra a la mujer de una a tres veces al día.

Beneficios de la Suplementación con Ácido Siálico

En algunas realizaciones, una mujer en la pre-concepción, embarazo/gestación o lactancia/post-parto que recibe una suplementación con ácido siálico puede darse cuenta de los beneficios del desarrollo de un feto y/o niño. En algunas realizaciones, el beneficio del desarrollo puede ser un crecimiento mejorado del sistema nervioso y/o el desarrollo o el crecimiento del cerebro. En algunas realizaciones, el beneficio del desarrollo puede ser un rendimiento cognitivo mejorado, un logro más temprano de las habilidades cognitivas normales, habilidades motoras mejoradas o el logro más temprano de habilidades motoras normales. En algunas realizaciones, el beneficio de desarrollo puede ser una mejora estructural en el cerebro que puede incluir, pero no se limita a uno o más de los siguientes: expresión incrementada y/o desarrollo de la mielina madura, extensión mejorada de neuritas, niveles incrementados de la proteína básica mielina en momentos más tempranos del desarrollo y el desarrollo mejorado de la materia blanca del cerebro. En algunas realizaciones, se pueden producir un espesor incrementado de la vaina de mielina y velocidades de conducción eléctrica incrementadas. En algunas realizaciones, la materia blanca puede ser el cuerpo calloso, el tracto olfatorio lateral, las pirámides motrices, las pirámides medulares y/o las pirámides, pero pueden estar involucradas cualquiera o todas las regiones de la materia blanca del cerebro. En algunas realizaciones, el beneficio del desarrollo puede ser un desarrollo mejorado del hipocampo del cerebro, que puede incluir una conectividad incrementada entre las células del cerebro, un mayor número de sinapsis, un mayor número de células, o tiempos de supervivencia de células más largos, pero la mejora de estas medidas puede estar en cualquier región de la materia gris del cerebro (p. ej., corteza cerebral, cerebelo y todos los núcleos conocidos del cerebro). Métodos para determinar los beneficios de desarrollo son bien conocidos para las personas de experiencia ordinaria en la técnica (p. ej., Calderón y Kim, *J. Neurochem.* 2004; 90:979-988; Donarum *et al*, *J Inherit. Metab. Dis.* 2006; 29:143-156; Moriguchi y Salem, *J. Neurochem.* 2003; 87:297-309) y se describen, por ejemplo, en los Ejemplos.

En algunas realizaciones, un beneficio de desarrollo es la extensión incrementada de neuritas (p. ej., el hipocampo) en el cerebro del niño o feto. En algunas realizaciones, la extensión de neuritas con la suplementación con ácido

- siálico se incrementa en al menos 0,01%, en al menos 0,02%, en al menos 0,03%, en al menos 0,04%, en al menos 0,05%, en al menos 0,06%, en al menos 0,07%, en al menos 0,08%, en al menos 0,09%, en al menos 0,1%, en al menos 0,2%, en al menos 0,3%, en al menos 0,4%, en al menos 0,5%, en al menos 0,6%, en al menos 0,7%, en al menos 0,8%, en al menos 0,9%, en al menos 1%, en al menos 2%, en al menos 3%, en al menos 4%, en al menos 5%, en al menos 6%, en al menos 7%, en al menos 8%, en al menos 9%, en al menos 10%, en al menos 11%, en al menos 12%, en al menos 13%, en al menos 14%, en al menos 15%, en al menos 16%, en al menos 17%, en al menos 18%, en al menos 19%, en al menos 20%, en al menos 21%, en al menos 22%, en al menos 23%, en al menos 24%, en al menos 25%, en al menos 26%, en al menos 27%, en al menos 28%, en al menos 29%, en al menos 30%, en al menos 31%, en al menos 32%, en al menos 33%, en al menos 34%, en al menos 35%, en al menos 36%, en al menos 37%, en al menos 38%, en al menos 39%, en al menos 40%, en al menos 45%, en al menos 50%, en al menos 55%, en al menos 60%, en al menos 65%, en al menos 70%, en al menos 75%, en al menos 80%, en al menos 85%, en al menos 90% o en al menos 100% en comparación con la extensión de neuritas sin la suplementación con ácido siálico. Intervalos útiles se pueden seleccionar entre cualquiera de estos valores, p. ej., la extensión de neuritas con la suplementación con ácido siálico se puede incrementar de 0,01% a 100%, de 0,01% a 75%, de 0,01% a 50%, de 1% a 50%, de 5% a 50%, de 10% a 50%, de 0,01% a 10%, de 0,01% a 5%, de 0,01% a 1%, de 0,01% a 0,5%, de 0,01% a 0,2% o de 0,1% a 0,2%, en comparación con la extensión de neuritas sin suplementación con ácido siálico. En algunas realizaciones, la extensión incrementada de neuritas se mide por inmunocitoquímica para el marcador específico de neuronas, Map2a. En algunas realizaciones, la extensión incrementada de neuritas resulta de la administración de ácido siálico a la mujer durante la preconcepción y/o el embarazo.
- En algunas realizaciones, la extensión incrementada de neuritas resulta de la administración de ácido siálico a la mujer durante la lactancia. En algunas realizaciones, la extensión incrementada de neuritas resulta de la administración de ácido siálico a la mujer durante el embarazo y no durante la lactancia. En algunas realizaciones, la extensión incrementada de neuritas resulta de la administración de ácido siálico a la mujer durante la lactancia y no durante el embarazo.
- En algunas realizaciones, un beneficio de desarrollo son niveles incrementados de proteína básica mielina (MBP) en el cerebro del niño o feto. En algunas realizaciones, la expresión de MBP en el cerebro (p. ej., el cerebro entero, cerebelo, cuerpo calloso, cuerpo calloso frontal y/o rostral, cuerpo calloso medio, decusación de la línea media del cuerpo calloso, tracto olfatorio lateral, vías de salida motrices, vías de entrada sensoriales, pirámides motrices y/o lemnisco medial), con la suplementación con ácido siálico aumenta en al menos 0,01%, al menos 0,02%, al menos 0,03%, al menos 0,04%, al menos 0,05%, al menos 0,06%, al menos 0,07%, al menos 0,08%, al menos 0,09%, al menos 0,1%, al menos 0,2%, al menos 0,3%, al menos 0,4%, al menos 0,5%, al menos 0,6%, al menos 0,7%, al menos 0,8%, al menos 0,9%, al menos 1%, al menos 2%, al menos 3%, al menos 4%, al menos 5%, al menos 6%, al menos 7%, al menos 8%, al menos 9%, al menos 10%, al menos 11%, al menos 12%, al menos 13%, al menos 14%, al menos 15%, al menos 16%, al menos 17%, al menos 18%, al menos 19%, al menos 20%, al menos 21%, al menos 22%, al menos 23%, al menos 24%, al menos 25%, al menos 26%, al menos 27%, al menos 28%, al menos 29%, al menos 30%, al menos 31%, al menos 32%, al menos 33%, al menos 34%, al menos 35%, al menos 36%, al menos 37%, al menos 38%, al menos 39%, al menos 40%, al menos 45%, al menos 50%, al menos 55%, al menos 60%, al menos 65%, al menos 70%, al menos 75%, al menos 80%, al menos 85%, al menos 90%, al menos 100% en comparación con la expresión de MBP sin suplementación con ácido siálico. Intervalos útiles se pueden seleccionar entre cualquiera de estos valores, p. ej., la expresión de MBP con la suplementación con ácido siálico se puede aumentar en 0,01% a 100%, 0,01% a 25%, 0,1% a 25%, 1% a 25%, 1% a 20%, 1% a 10%, 1% a 5% o 5% a 20%, en comparación con la expresión de MBP sin suplementación con ácido siálico. En algunas realizaciones, la expresión de MBP se mide mediante inmunocitoquímica.
- En algunas realizaciones, la expresión incrementada de MBP resulta de la administración de ácido siálico a la mujer durante la pre-concepción y/o el embarazo. En algunas realizaciones, la expresión incrementada de MBP resulta de la administración de ácido siálico a la mujer durante la lactancia. En algunas realizaciones, la expresión incrementada de MBP resulta de la administración de ácido siálico a la mujer durante el embarazo y no durante la lactancia. En algunas realizaciones, la expresión incrementada de MBP resulta de la administración de ácido siálico a la mujer durante la lactancia y no durante el embarazo.
- En algunas realizaciones, la expresión de MBP con suplementación con ácido siálico se incrementa en el cuerpo calloso, cuerpo calloso rostral, la línea media del cuerpo calloso, el tracto olfatorio lateral y/o la decusación de la línea media del cuerpo calloso en comparación con la expresión de MBP sin suplementación con ácido siálico. En algunas realizaciones, la expresión de MBP con suplementación con ácido siálico se incrementa en el cuerpo calloso, cuerpo calloso rostral, en la línea media del cuerpo calloso, el tracto olfatorio lateral y/o la decusación de la línea media del cuerpo calloso, y no se incrementa en las vías de salida motrices, vías de entrada sensoriales, pirámides motrices y/o lemnisco medial en comparación con la expresión de MBP sin suplementación con ácido siálico. En algunas realizaciones, la expresión de MBP con suplementación con ácido siálico se incrementa en el cuerpo calloso, cuerpo calloso rostral, en la línea media del cuerpo calloso, el tracto olfatorio lateral y/o la decusación de la línea media del cuerpo calloso, y no se incrementa en las vías de salida motrices, vías de entrada sensoriales, pirámides motrices y/o lemnisco medial en comparación con la expresión de MBP sin suplementación con ácido siálico, y el ácido siálico se administra a la mujer durante el embarazo. En algunas realizaciones, la expresión de MBP con su-

plementación con ácido siálico se incrementa en el cuerpo calloso, cuerpo calloso rostral, en la línea media del cuerpo calloso, el tracto olfatorio lateral y/o la decusación de la línea media del cuerpo calloso, y no se incrementa en las vías de salida motrices, vías de entrada sensoriales, pirámides motrices y/o lemnisco medial en comparación con la expresión de MBP sin suplementación con ácido siálico, y el ácido siálico se administra a la mujer durante el embarazo y no durante la lactancia.

En algunas realizaciones, la expresión de MBP con la suplementación con ácido siálico se incrementa en el cerebelo en comparación con la expresión de MBP y sin suplementación con ácido siálico. En algunas realizaciones, la expresión de MBP con la suplementación con ácido siálico se incrementa en el cerebelo en comparación con la expresión de MBP sin suplementación con ácido siálico, y el ácido siálico se administra durante la lactancia. En algunas realizaciones, la expresión de MBP con la suplementación con ácido siálico se incrementa en el cerebelo en comparación con la expresión de MBP sin suplementación con ácido siálico, y el ácido siálico se administra durante la lactancia y no durante el embarazo.

En algunas realizaciones, el ácido siálico administrado a una mujer atraviesa, al menos en parte, la barrera hematoencefálica. En algunas realizaciones, el ácido siálico administrado a una mujer es ácido N-acetilneuramínico (NANA), que al menos en parte atraviesa la barrera hematoencefálica. En algunas realizaciones, el ácido siálico administrado a una mujer es NANA, que al menos en parte se convierte en Neu5Gc en animales no humanos. En algunas realizaciones, el ácido siálico administrado a una mujer es NANA, que al menos en parte atraviesa la barrera hematoencefálica y al menos en parte se convierte en Neu5Gc en animales no humanos.

En algunas realizaciones, el ácido siálico administrado a una mujer está presente en el líquido cefalorraquídeo (CSF). En algunas realizaciones, el ácido siálico administrado a una mujer es NANA, y el NANA está presente al menos en parte en el CSF. En algunas realizaciones, el ácido siálico se administra a una hembra es NANA, y el NANA se convierte, al menos en parte, en Neu5Gc en animales no humanos. En algunas realizaciones, el ácido siálico administrado a una mujer es NANA, y el NANA está presente, al menos en parte, en el CSF y se convierte, al menos en parte, en Neu5Gc en animales no humanos.

En algunas realizaciones, la invención se refiere al uso de cualquiera de las composiciones de ácido siálico descritas en esta memoria en la preparación de una forma de dosificación para cualquiera de los usos descritos en esta memoria.

Objetos adicionales, ventajas y nuevas características de esta invención resultarán evidentes para los expertos en la técnica tras el examen de los siguientes ejemplos de los mismos, que no pretenden ser limitativos.

EJEMPLOS

Ejemplo 1

Protocolo de suplementación con NANA materno:

Para determinar los efectos de la suplementación de dietas maternas con ácido siálico (ácido n-acetilneuramínico; NANA) en el desarrollo del cerebro de las crías, cuarenta (40) ratas Long-Evans preñadas fueron colocadas en cuatro (4) dietas (10 hembras por la dieta) que diferían en su administración de ácido siálico (Nacalai, San Diego, CA). Todos los animales iniciaron las dietas el 4º día después de haber sido apareados (día de gestación 4).

Tal como se muestra en la Fig. 2, los animales de control fueron colocados en una dieta base ("Base" o "Ninguna"), que contenía cantidades no detectables de NANA a lo largo de la gestación y la lactancia. Hembras colocadas en la dieta de gestación ("Gest") recibieron NANA (200 miligramos (mg) por kilogramo (kg) de peso corporal por día (d)) solamente durante la gestación. Estos animales se colocaron después en una dieta base después de nacer las crías. Por el contrario, las hembras en la dieta de lactancia ("Lact") fueron colocadas en la dieta base durante la gestación, pero recibieron NANA (200 mg/kg/d) a través de la dieta durante la lactancia. Las hembras que recibieron NANA (200 mg/kg/d) a través de la dieta durante la gestación y la lactancia eran conocidas como el grupo "G + L".

La Fig. 2 muestra también cómo y cuando se utiliza la descendencia para determinar los efectos de las dietas maternas sobre el desarrollo de la descendencia. Después del nacimiento, las crías nacidas de cada grupo de la dieta fueron criados de forma cruzada dentro de su grupo respectivo para controlar cualquier diferencia en el cuidado materno. Las camadas fueron sacrificadas a 10 crías por hembra para evitar diferencias nutricionales causadas por la falta de acceso a la hembra. El estudio también fue diseñado para permitir el uso de 5 crías en cada punto final (N = 5) mientras se mantenía el tamaño de la camada igual en todos los grupos. Las crías fueron tomadas el día postnatal 1 (p1) para determinar las diferencias potenciales entre la suplementación gestacional y la suplementación de la lactancia de la dieta materna. Las crías fueron tomadas el día postnatal 16 (p16), ya que comienzan a tener acceso a alimentos de la madre directamente en ~ p18, lo cual impediría cualquier evaluación de la transferencia materna

de NANA a las crías. Las crías también se tomaron a p8, ya que esto sirvió como un momento a mitad de camino y porque el biomarcador primario utilizado no se puede detectar hasta ese día en el desarrollo de ratas.

Las Figs. 3A y 3B muestran el protocolo de suplementación de NANA materna para experimentos que someten a ensayo dosis adicionales de NANA administradas durante la gestación (Fig. 3A) y la lactancia (Fig. 3B).

- 5 Tal como se describe en los siguientes ejemplos, se utilizaron tres puntos finales principales en este estudio: la expresión de la proteína básica mielina (MBP) en el cerebro entero en desarrollo, la extensión *ex vivo* de neuritas de neuronas cultivadas del hipocampo, y la evaluación del espesor de la expresión de MBP en el cerebro en desarrollo.

Ejemplo 2

10 **Lactancia materna con NANA durante la gestación y la lactancia potencia la expresión de MBP en la descendencia:**

La expresión de MBP es una medida del desarrollo del cerebro, dado que es una medida específica del grado de mielinización madura de los circuitos del cerebro. La mielina es el aislamiento entre los "cables" del cerebro y disminuye la resistencia eléctrica en los circuitos del cerebro mucho de la misma manera que el aislamiento disminuye la resistencia eléctrica en el cableado de cobre. Una resistencia disminuida permite una mejor señalización y una sub-
15 siguiente diferenciación del desarrollo. Por lo tanto, los niveles de expresión de la mielina madura se asocian con cerebros que están más adelantados en el desarrollo.

Para determinar los efectos de la suplementación con NANA materna en el desarrollo del cerebro de la descendencia, la expresión de MBP se midió por análisis de transferencia Western de lisados de cerebro completo que se recogieron de las crías en los días post-natales 0, 8 y 16 descritos en la Fig. 2. Tal como se muestra en la Fig. 4A, los
20 borrones de transferencia se sondearon con un anticuerpo para MBP (paneles inferiores; Millipore, Billerica, MA o Covance, Princeton, NJ) que reconoce dos isoformas distintas (de 18 y 21 kilodalton [kDa] en el peso molecular). Los borrones de transferencia también se sondearon con un anticuerpo para β -actina (paneles superiores; Cell Signaling Technologies, Beverly, MA o Millipore, Billerica, MA) que sirvieron como controles de carga de proteína.

La cuantificación de la expresión de MBP, tal como se muestra en la Fig. 4B, se realizó con densitometría de las
25 bandas en cada una de las pistas, y cada una de las pistas representaba un animal individual. Las gráficas representan la intensidad media de la expresión de MBP normalizada por la señal de actina correspondiente en unidades de fluorescencia relativa (R.F.U. normalizadas). El análisis de la varianza de una vía (ANOVA) detectó un aumento significativo de la expresión tanto de MBP de 18 kDa ($F[3,32] = 3,187$; $p = 0,037$; Potencia = 0,681) como de MBP de 21 kDa ($F[3,32] = 4,270$; $p = 0,012$; Potencia = 0,816) con la suplementación de NANA. Además, el test *post hoc* de
30 Tukey detectó que la dieta de lactancia aumentó significativamente la expresión de las dos isoformas de MBP (*, $p < 0,05$) en comparación con la dieta deficiente en NANA en el análisis general, así como en el día post-natal 8.

Ejemplo 3

Lactancia materna con NANA durante la gestación y la lactancia aumenta la extensión de neuritas en cultivos de hipocampo en la descendencia:

35 El hipocampo es una región específica del cerebro que es esencial para el aprendizaje espacial y para convertir recuerdos a corto plazo en memoria a largo plazo. La extensión de neuritas en cultivos del hipocampo sirve como una medida del crecimiento de las células del cerebro, la diferenciación y la creación de redes. Aumentos en estas medidas *ex vivo* se consideran beneficiosos porque se cree que procesos beneficiosos similares se producen *in vivo*.

40 Para determinar los efectos de la suplementación con NANA materna en el desarrollo del cerebro de la descendencia, la extensión de neuritas se midió en cultivos de hipocampo elaborados a partir de crías de p0 descritos en la Fig. 2. La Fig. 5A muestra las mediciones de la descendencia de las hembras expuestas a una dieta deficiente en NANA durante la gestación. La Fig. 5B muestra las mediciones de la descendencia de las hembras que fueron alimentadas con una dieta suplementada con NANA (200 mg/kg/d) durante la gestación. Después de 6 días de incubación, los
45 cultivos fueron sometidos a inmunocitoquímica para el marcador específico de neuronas, Map2a (Sigma, Ronkonkoma, NY; o Millipore, Billerica, MA). El número de células en cada uno de los cultivos se evaluó por tinción con 4',6-diamidino-2-fenilindol (DAPI).

Tal como se muestra en la Fig. 5C, la cuantificación de la zona porcentual de tinción con Map2a por neurona fue significativamente mayor en cultivos derivados de las crías cuyas madres habían recibido NANA en sus dietas. El
50 porcentaje de área de la tinción con Map2a se determinó por recuento automatizado de todos los píxeles positivos

de Map2a en cada una de las imágenes (5 campos aleatorios para cada uno de 9-10 cultivos por grupo; 1 cultivo por animal). El número de píxeles Map2a positivos en una imagen se dividió luego por el número total de píxeles en esa misma imagen. A continuación, el cociente resultante se multiplicó por 100 para proporcionar el porcentaje de área (%). A continuación, el porcentaje de área se dividió por el número total de células en la imagen con el fin de normalizar el número de células. Se utilizó un test-t de Student no pareado de dos colas para comparar los dos grupos, y el test detectó una diferencia significativa entre el grupo suplementado y el grupo control (**, $p < 0,01$). De este modo, la exposición materna a NANA aumentó significativamente la extensión de neuritas en cultivos de hipocampo de la descendencia.

Ejemplo 4

10 La lactancia materna de dosis variables de NANA durante la gestación potencia la extensión de neuritas en la descendencia:

Con el fin de evaluar adicionalmente los efectos de dosis-respuesta de la suplementación con NANA materna durante la gestación en el desarrollo del cerebro de la descendencia, la extensión de neuritas se midió en cultivos de hipocampo elaborados a partir de crías descritos en la Fig. 3A. La Fig. 6A muestra cultivos de hipocampo representativos derivados de crías de las hembras que tienen una dieta deficiente en NANA durante la gestación ("sin NANA") o una dieta suplementada con NANA (25 mg/kg/d de NANA, 50 mg/kg/d de NANA, 100 mg/kg/d de NANA y 200 mg/kg/d de NANA) durante la gestación. Después de 6 días de incubación, los cultivos fueron sometidos a inmunocitoquímica en cuanto al marcador específico de neuronas, Map2a (Sigma, Ronkonkoma, NY; o Millipore, Billerica, MA). El número de células en cada uno de los cultivos se evaluó por tinción con 4',6-diamidino-2-fenilindol (DAPI).

20 El porcentaje de área de la tinción con Map2a por neurona se cuantificó como se describe en el Ejemplo 3. Tal como se muestra en la Fig. 6B, el porcentaje de área de tinción con Map2a por neurona era significativamente mayor en los cultivos derivados de crías cuyas madres habían recibido NANA en sus dietas (**, $p < 0,01$; ***, $p < 0,001$). Por lo tanto, la exposición materna a NANA aumentó significativamente la extensión de neuritas en cultivos de hipocampo de la descendencia.

25 Ejemplo 5

La alimentación materna con NANA durante la gestación y lactancia aumenta el grosor de la expresión de MBP en la materia blanca:

El aumento de espesor y la madurez de la vaina de mielina se asocian con velocidades de conducción más altas y el desarrollo más avanzado y la diferenciación de la materia blanca (áreas del cerebro mielinizadas). En particular, el cuerpo calloso (CC) es el tracto principal de comunicación entre los dos hemisferios cerebrales que controlan la función ejecutiva y el aprendizaje. Además, el tracto olfatorio lateral (LOT) es particularmente importante en los roedores, ya que éstos se basan en gran medida en su sistema olfativo para la orientación y el comportamiento guiado por la comida en sus entornos normales. El LOT porta la información desde los centros olfatorios primarios de los bulbos olfatorios a centros de procesamiento más altos en el cerebro y el hipocampo. El CC y el LOT se midieron en los siguientes experimentos, debido a su tamaño y por su importancia en el funcionamiento del cerebro y en las capacidades de los animales para percibir su entorno.

Para determinar los efectos de la suplementación con NANA materna sobre el desarrollo del cerebro de la descendencia, la evaluación del CC y del LOT se realizó tomando rebanadas finas del cerebro de la cría p16 descrito en la Fig. 2, tiñendo las rebanadas con inmunohistoquímica con MBP y midiendo las zonas de interés con microscopía láser confocal. Tal como se muestra en la Fig. 7A, se midió el espesor de la expresión de MBP en el CC en las zonas del cíngulo (línea discontinua), rostral (menos desarrollada) y de la línea media (más desarrollada) del cerebro (barra de escala = 1 milímetro). También se ilustran en la Fig. 7A la ubicación del LOT y las regiones asociadas con la comisura anterior (AC).

La Fig. 7B demuestra que la suplementación con NANA materna durante la gestación (Gest), la lactancia (Lact) o gestación más lactancia (G + L) (según se describe en la Fig. 2.) dio como resultado aumentos significativos [ANOVA multivariante; $F [3,86] = 8,455$; $p < 0,001$] para el espesor de la expresión de MBP en el CC en la descendencia ($p < 0,05$; **, $p < 0,01$; y ***, $p < 0,001$). La Fig. 7C demuestra que la suplementación con NANA materna también dio como resultado aumentos significativos en el grosor máximo de la expresión de MBP en el LOT que eran similares a los detectados en el CC. Por otra parte, estos resultados fueron consistentes con los hallazgos de la transferencia Western descritos en el Ejemplo 2.

Ejemplo 6

La alimentación materna de dosis variables de NANA durante la gestación aumenta el grosor de la expresión

de MBP en la materia blanca:

Para evaluar adicionalmente los efectos de la suplementación con NANA materna durante la gestación en el desarrollo del cerebro de la descendencia, la evaluación del cuerpo calloso (CC) y del tracto olfatorio lateral (LOT) se llevó a cabo tomando rebanadas finas del cerebro de las crías p16 (GestDR p16) descritas en la Fig. 3A, tiñendo las rebanadas con inmunohistoquímica con MBP y cuantificando las zonas de interés con microscopía láser confocal según se describe en el Ejemplo 2. Se sometió a ensayo la suplementación materna con NANA a dosis de 25 mg/kg/d, 50 mg/kg/d, 100 mg/kg/d y 200 mg/kg/d.

La Fig. 8A demuestra que la suplementación con NANA materna durante la gestación dio como resultado aumentos significativos en el espesor de la expresión de MBP en el CC frontal en la descendencia (***, $p < 0,001$). La Fig. 8B demuestra que la suplementación con NANA materna no pareció cambiar el grosor de la expresión de MBP en el CC medio. La Fig. 8C demuestra que la suplementación materna con NANA dio lugar a aumentos significativos en el espesor de la expresión de MBP en el LOT (*, $p < 0,05$; ***, $p < 0,001$). La Fig. 8D demuestra que la suplementación con NANA materna no pareció cambiar el grosor de la expresión de MBP en la decusación de la línea media del CC.

Ejemplo 7**La lactancia materna de dosis variables de NANA durante la gestación aumenta la expresión de MBP en las vías de salida motrices y vías de entrada sensoriales:**

La sustancia blanca de la médula espinal contiene tractos de fibras que son ascendentes (sensoriales) o descendentes (motrices). Los tractos ascendentes transmiten información sensorial de los receptores cutáneos, propioceptores (sentidos musculares y articulares) y los receptores viscerales. El lemnisco medial es una vía que porta dicha información sensorial desde los núcleos grácil y cuneiforme hacia el tálamo. Hay dos tractos descendentes principales: el corticoespinal o el tracto piramidal, y el tracto extrapiramidal. En general, estos tractos están implicados en el control de la musculatura del cuerpo.

Con el fin de evaluar los efectos de la suplementación con NANA materna durante la gestación en el desarrollo del cerebro de la descendencia, la evaluación de las pirámides motrices y el lemnisco medial se realizó tomando rebanadas finas del cerebro de las crías p16 descritas en la Fig. 3A, tiñendo las rebanadas con inmunohistoquímica con MBP y cuantificando las zonas de interés con microscopía láser confocal según se describe en el Ejemplo 2. Se sometió a ensayo la suplementación materna con NANA a dosis de 25 mg/kg/d, 50 mg/kg/d, 100 mg/kg/d y 200 mg/kg/d.

La Fig. 9A demuestra que la suplementación con NANA materna durante la gestación resultó en incrementos significativos en el espesor de la expresión de MBP en las pirámides motrices en la descendencia (*, $p < 0,05$; **, $p < 0,01$; ***, $p < 0,001$). La Fig. 9B demuestra que la suplementación con NANA materna dio como resultado aumentos significativos en el espesor de la expresión de MBP en el lemnisco medial (*, $p < 0,05$; **, $p < 0,01$).

Ejemplo 8**La alimentación materna de dosis variables de NANA durante la lactancia aumenta el grosor de la expresión de MBP en la materia blanca:**

Con el fin de evaluar adicionalmente los efectos de la suplementación con NANA materna durante la lactancia en el desarrollo del cerebro de la descendencia, la evaluación del cuerpo calloso (CC) y el tracto olfatorio lateral (LOT) se llevó a cabo tomando rebanadas finas del cerebro de las crías p16 (LacDR p16) descritas en la Fig. 3B, tiñendo las rebanadas con inmunohistoquímica con MBP y cuantificando las zonas de interés con microscopía láser confocal según se describe en el Ejemplo 2. Se sometió a ensayo la suplementación materna con NANA a dosis de 25 mg/kg/d, 50 mg/kg/d, 100 mg/kg/d y 200 mg/kg/d.

La Fig. 10A demuestra que la suplementación con NANA materna durante la lactancia dio como resultado aumentos significativos en el espesor de la expresión de MBP en el CC rostral en la descendencia (**, $p < 0,01$; ***, $p < 0,001$). La Fig. 10B demuestra que la suplementación con NANA materna durante la lactancia dio como resultado aumentos significativos en el espesor de la expresión de MBP en el CC de la línea media en la descendencia (**, $p < 0,01$; ***, $p < 0,001$). La Fig. 10C demuestra que la suplementación con NANA materna durante la lactancia dio como resultado incrementos significativos en el espesor de la expresión de MBP en el LOT en la descendencia (***, $p < 0,001$). La Fig. 10D demuestra que la suplementación con NANA materna durante la lactancia dio como resultado aumentos significativos en el espesor de la expresión de MBP en la decusación de la línea media del CC en la descendencia (*, $p < 0,05$; ***, $p < 0,001$).

Ejemplo 9

La alimentación materna de dosis variables de NANA durante la lactancia y la expresión de MBP en las vías de salida motrices y vías de entrada sensoriales

- Con el fin de evaluar adicionalmente los efectos de la suplementación con NANA materna durante la lactancia en el desarrollo del cerebro de la descendencia, la evaluación de las pirámides motrices y el lemnisco medio se llevó a cabo tomando rebanadas finas del cerebro de las crías p16 (LacDR p16) descritas en la Fig. 3B, tiñendo las rebanadas con inmunohistoquímica con MBP y cuantificando las zonas de interés con microscopía láser confocal según se describe en el Ejemplo 2. Se sometió a ensayo la suplementación materna con NANA a dosis de 25 mg/kg/d, 50 mg/kg/d, 100 mg/kg/d y 200 mg/kg/d.
- La Fig. 11A demuestra que la suplementación con NANA materna durante la lactancia resultó en un aumento significativo en el espesor de la expresión de MBP en las pirámides motrices después de la suplementación materna con NANA a una dosis de 50 mg/kg/d en la descendencia (*, $p = 0,022$) y no hay cambios significativos en el espesor de la expresión de MBP en las pirámides motrices después de la suplementación materna con NANA en las otras dosis ensayadas. La Fig. 11B demuestra que la suplementación con NANA materna durante la lactancia no dio lugar a cambios significativos en el espesor de la expresión de MBP en el lemnisco medial en la descendencia.

Ejemplo 10

La alimentación materna de dosis variables de NANA durante la lactancia aumenta la expresión de MBP en el cerebelo:

- Con el fin de evaluar los efectos de la suplementación con NANA materna durante la lactancia en el desarrollo del cerebro de la descendencia, la expresión de MBP se midió mediante transferencia Western del cerebelo que se recogió de crías en los días post-natales 0, 8 y 16 descritos en la Fig. 3B. Tal como se describe en el Ejemplo 2, los borrones de transferencia se sondaron con un anticuerpo para MBP según se describe en el Ejemplo 2 que reconoce la forma de 18 kilodalton (MBP de 18 kDa) y la forma de 21 kilodalton (MBP de 21 kDa) y un anticuerpo para β -actina como una proteína de control de la carga. La cuantificación de la expresión de MBP realizada con densitometría de las bandas en cada una de las pistas, y cada una de las pistas representaba un animal individual según se describe en el Ejemplo 2.

- Las gráficas en las Figs. 12A y 12B representan la intensidad media de la expresión de MBP normalizada por la señal de actina correspondiente en unidades de fluorescencia relativa (R.F.U. normalizadas). Un análisis de varianza de una vía (ANOVA) detectó un aumento significativo de la expresión tanto MBP de 18 kDa y como de MBP de 21 kDa con la suplementación con NANA durante la lactancia en ciertas dosis ensayadas ($p < 0,001$).

El análisis de las intensidades de expresión combinada de MBP de 18 kDa y MBP de 21 kDa mostró un aumento significativo en MBP total después de la suplementación con NANA durante la lactancia a dosis de NANA de 25 mg/kg/d ($p < 0,01$), 100 mg/kg/d ($p < 0,05$) y 200 mg/kg/d ($p < 0,01$).

Ejemplo 11

- NANA cruza la barrera hematoencefálica y se convierte parcialmente en Neu5Gc en animales no humanos:**

- Para evaluar si NANA está biodisponible para el cerebro en su forma nativa o si NANA se procesa en su camino a través de la barrera hematoencefálica, se midieron los niveles de NANA y uno de sus metabolitos potenciales en el líquido cefalorraquídeo de rata (CSF). Las dietas de los animales fueron primero desprovistas de NANA al colocarles en dietas exentas de NANA durante una semana. A los animales se les dio luego una dosis única, oral de NANA (200 mg/kg), y del CSF de cada animal se tomaron muestras a las 0, 0,25, 1, 2, 4 y 6 horas después de la dosificación. Las concentraciones de NANA y Neu5Gc en el CSF fueron evaluados por cromatografía líquida de alta presión junto con los métodos de detección de fluorescencia y patrones de cuantificación.

- La Figura 13 ilustra los cambios en las concentraciones de NANA y Neu5Gc en el CSF después de la dosificación oral con NANA. Tal como muestra la figura 13A, era detectable un pico de NANA nativa por encima de la línea de base 15 minutos después de la dosificación. Este pico de NANA luego decayó con relativa rapidez y volvió a los valores basales de 1 hora después de la dosificación oral de NANA. Estos datos sugieren que NANA nativa cruzaba la barrera hematoencefálica como resultado de la dosificación exógena. Después, NANA fue absorbido ya sea en el propio tejido cerebral, procesado en metabolitos tales como Neu5Gc o ManNAc, o ambos. De hecho, tal como muestra la figura 13B, era probable que al menos algo del NANA se convirtiera en Neu5Gc. Las concentraciones de Neu5Gc no aumentaron por encima de la línea de base hasta 1 hora después de la dosificación oral, y este aumento

5 era perceptible después del pico de NANA observado a los 15 minutos después de la dosificación. Las concentraciones de Neu5Gc se mantuvieron entonces durante el resto del período de muestreo en niveles que eran aproximadamente 4% de la concentración pico de NANA. Por lo tanto, NANA exógeno está biodisponible para el cerebro, pero también se procesa en cierta medida. Cabe señalar aquí que, a diferencia de todos los demás mamíferos, los seres humanos no poseen una enzima funcional para la conversión de NANA en Neu5Gc, por lo que los datos serían probablemente diferentes en el CSF humano.

La descripción anterior de la invención se ha presentado con fines de ilustración y descripción. Además, la descripción no pretende limitar la invención a la forma descrita en esta memoria.

10 Todos los diversos aspectos, realizaciones y opciones descritas en este documento pueden ser combinadas de cualquier y de todas las variaciones.

REIVINDICACIONES

1. Un método no terapéutico para proporcionar ácido siálico a una mujer, que comprende administrar a la mujer un ácido siálico en forma de ácido n-acetilneuramínico o su precursor N-acetil-manosamina durante al menos una de las fases de embarazo y lactancia, en el que el ácido siálico proporciona un beneficio en el desarrollo del sistema nervioso y/o del cerebro de un feto o niño de la mujer.
2. El método de la reivindicación 1, en el que el ácido siálico es un ácido siálico libre.
3. El método de la reivindicación 1 ó 2, en el que el ácido siálico está en forma de ácido n-acetilneuramínico.
4. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1-3, en el que el ácido siálico o precursor se administra durante el periodo de tiempo durante el cual la mujer pretende quedar embarazada, el embarazo y la lactancia.
5. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1-3, en el que el ácido siálico o precursor se administra a la mujer durante los primeros dos años después del nacimiento del niño por parte de la mujer.
6. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1-5, en el que el beneficio en el desarrollo es una mejora neurológica del cerebro.
7. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1-6, en el que el beneficio en el desarrollo se selecciona del grupo que consiste en una expresión incrementada y/o el desarrollo de mielina madura, una extensión potenciada de neuritas, niveles incrementados de proteína básica, un desarrollo potenciado de la materia gris del cerebro, y combinaciones de los mismos.
8. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1-6, en el que el beneficio en el desarrollo está en la materia gris del cerebro.
9. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1-8, en el que el ácido siálico se administra en una forma de dosificación.
10. El método de la reivindicación 9, en el que la forma de dosificación se selecciona del grupo que consiste en: suplemento nutricional, alimentos, formulación farmacéutica, bebida y combinaciones de los mismos.
11. El método de la reivindicación 9 ó 10, en el que la forma de dosificación contiene ácido siálico o precursor en una cantidad de 0,01% a 10% en peso de la forma de dosificación.
12. El método de la reivindicación 9 ó 10, en el que la forma de dosificación contiene ácido siálico o precursor en una cantidad de 10% a 90% en peso de la forma de dosificación.
13. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1-12, en el que el ácido siálico o precursor se administra en una cantidad de 5 mg/kg/día a 200 mg/kg/día del peso corporal de la mujer.
14. El método de la reivindicación 13, en el que el ácido siálico se administra en una cantidad de 25 mg/kg/día a 100 mg/kg/día del peso corporal de la mujer.
15. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1-10, en el que el ácido siálico o precursor se administra en una cantidad de 20 mg/kg/día a 4000 mg/kg/día.
16. El método de la reivindicación 15, en el que el ácido siálico o precursor se administra en una cantidad de 200 mg/kg/día a 2000 mg/kg/día.
17. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1-16, que comprende, además, administrar a la mujer uno o más ácidos grasos poliinsaturados, calcio, ácido fólico, vitamina E, tocotrienoles, vitamina D, magnesio, fósforo, vitamina K, hierro, vitamina B12, niacina, tiamina, riboflavina, biotina, vitamina B6, e isoflavonas, zinc, ácido pantoténico, triglicéridos de cadena media, cobre, manganeso, magnesio, vitamina A, colina, vitamina C, yodo, selenio, prebióticos, probióticos, beta-caroteno, luteína, licopeno, alfa-caroteno, zeaxantina, beta-criptoxantina, caroteno gamma, jengibre y triptófano.

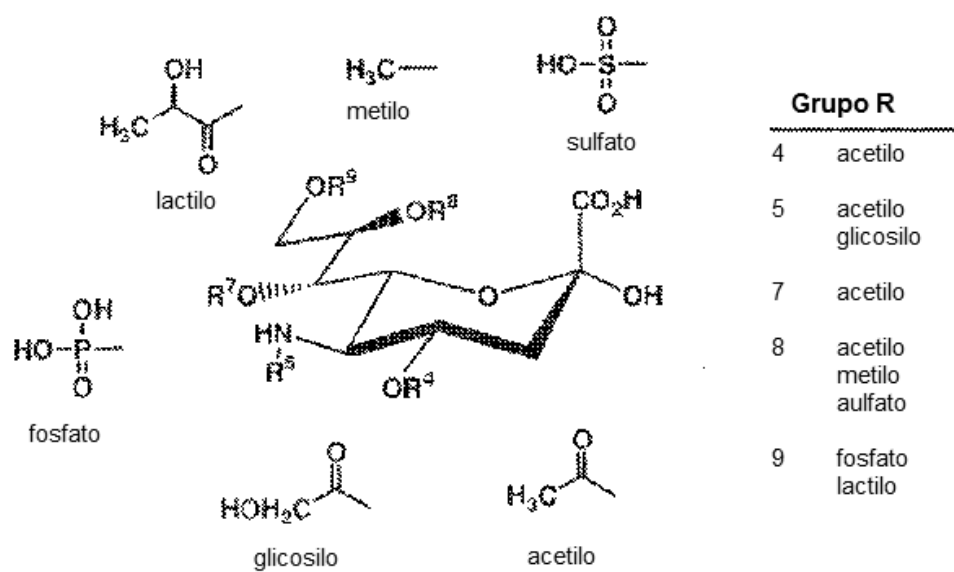


FIG. 1

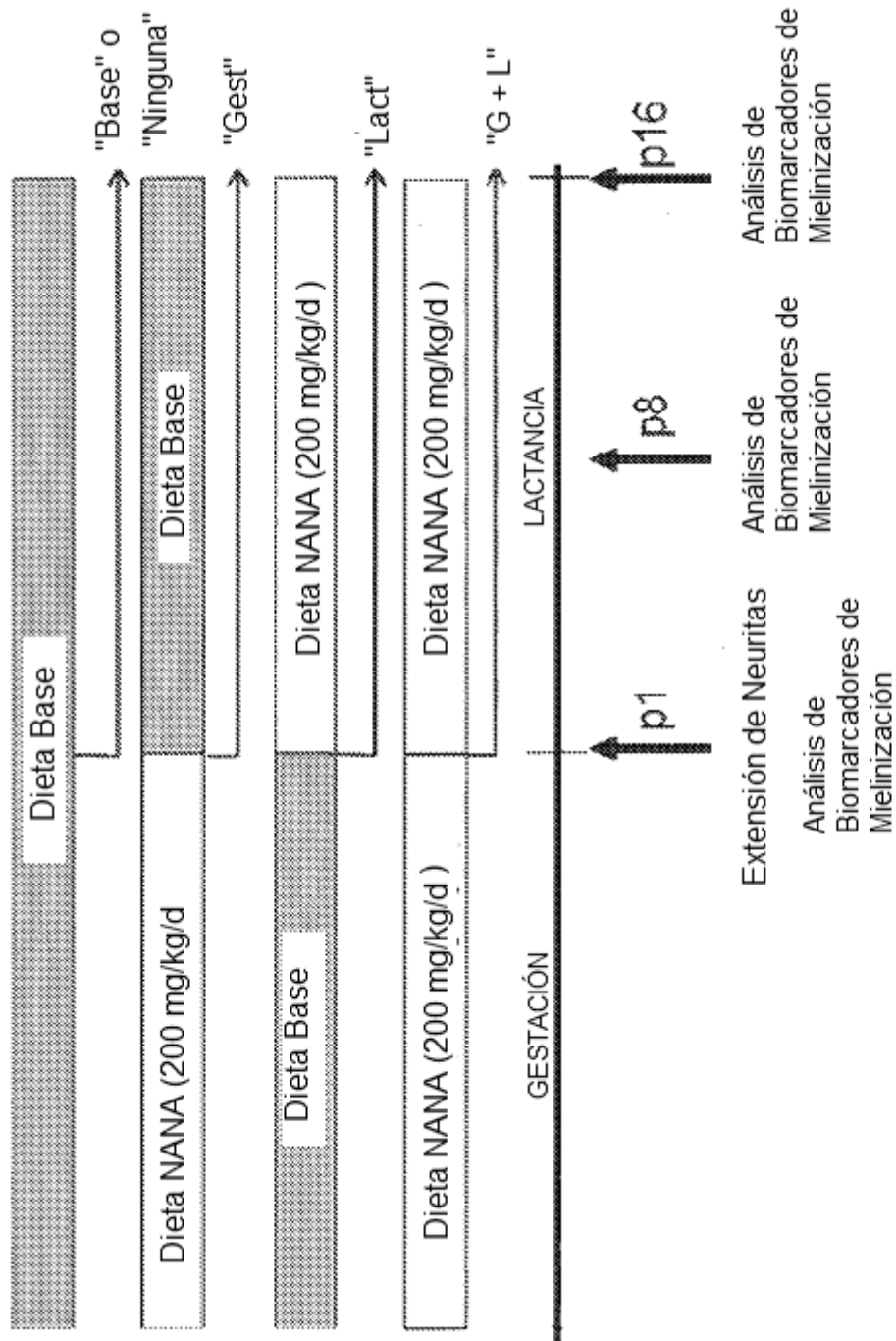
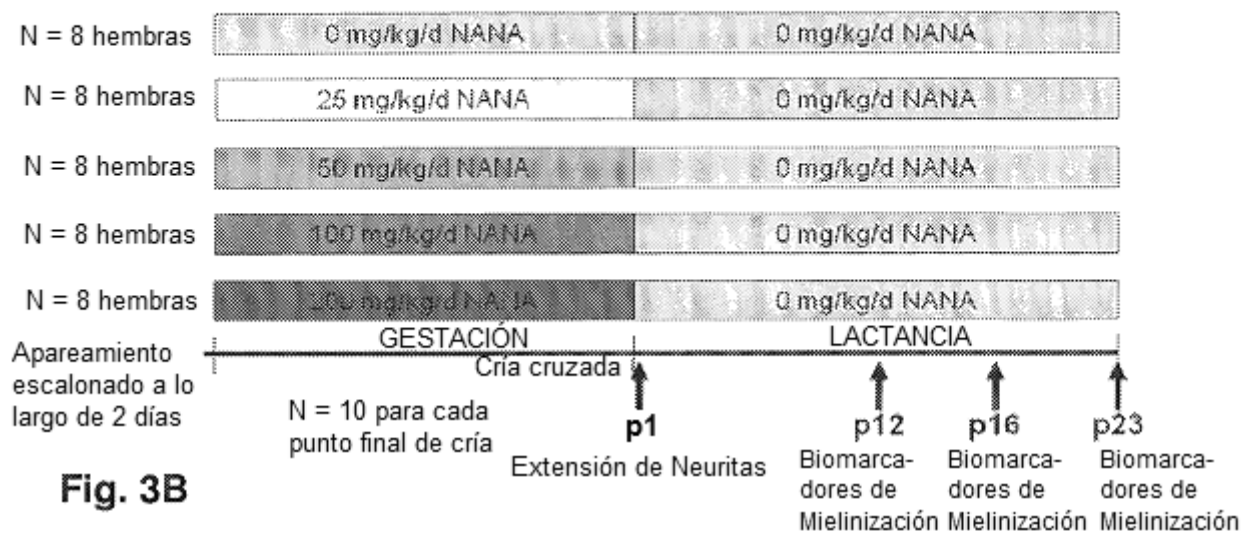
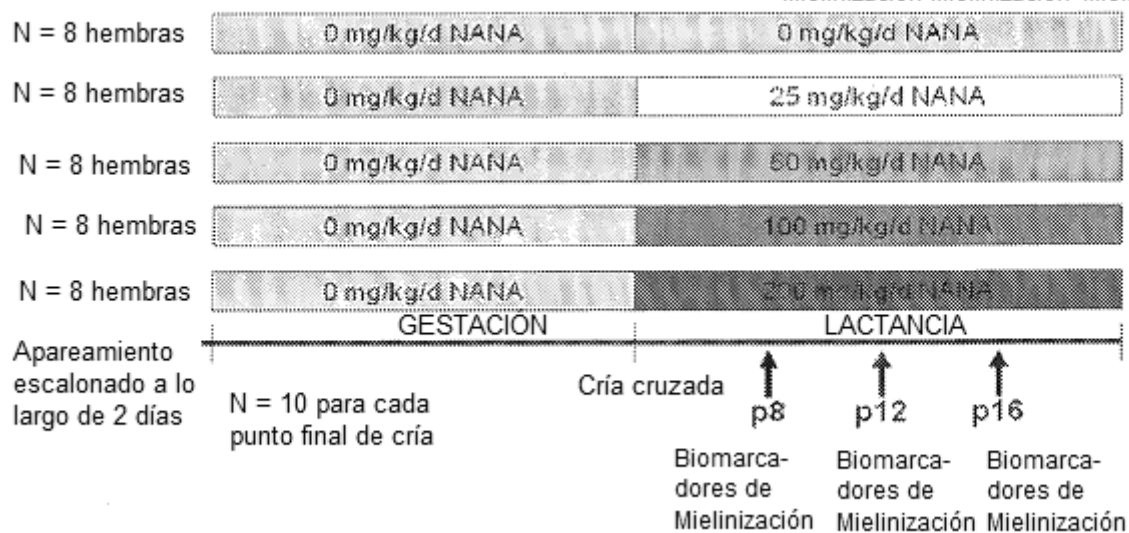
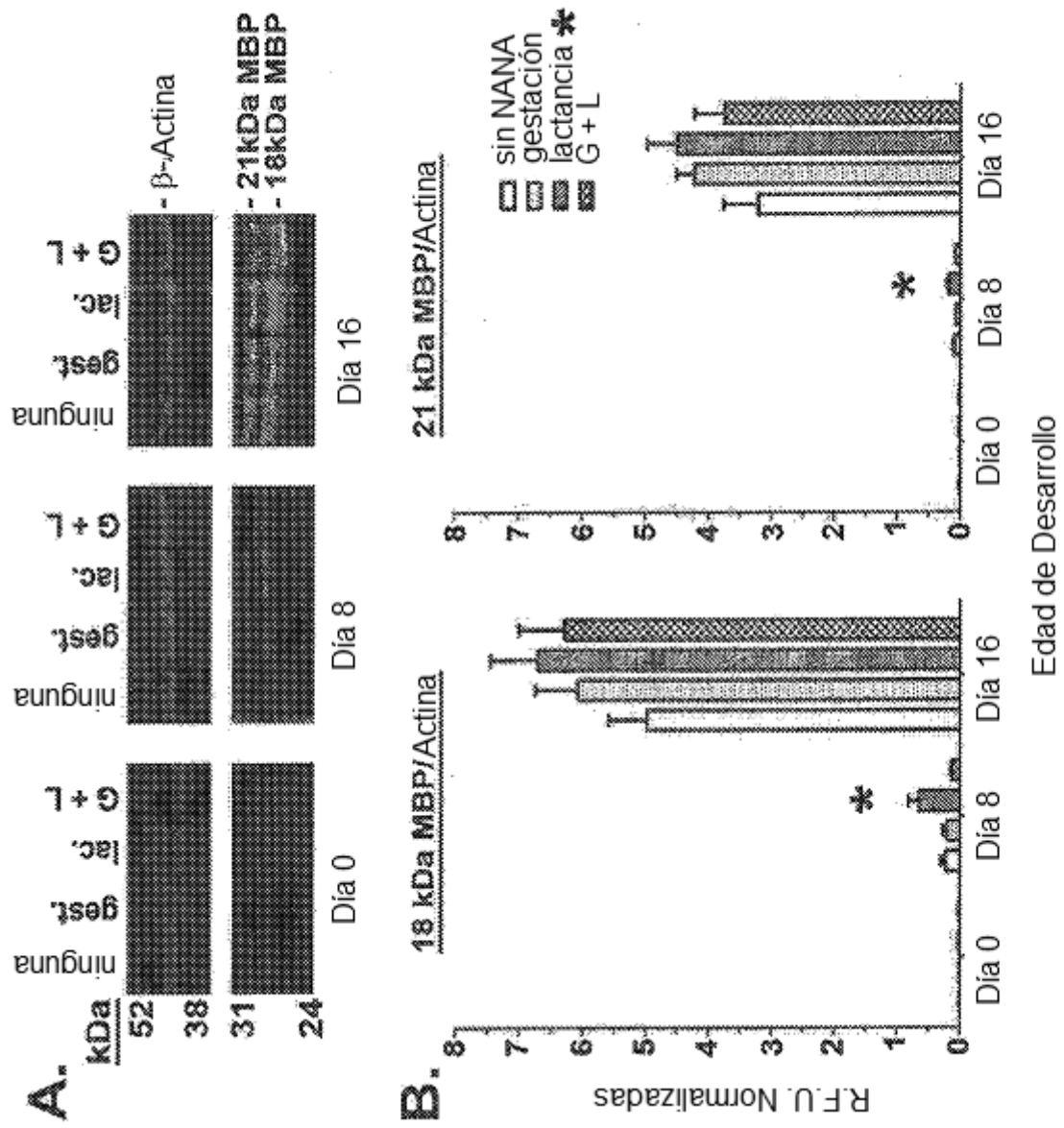


Fig. 2

Fig. 3A**Fig. 3B**

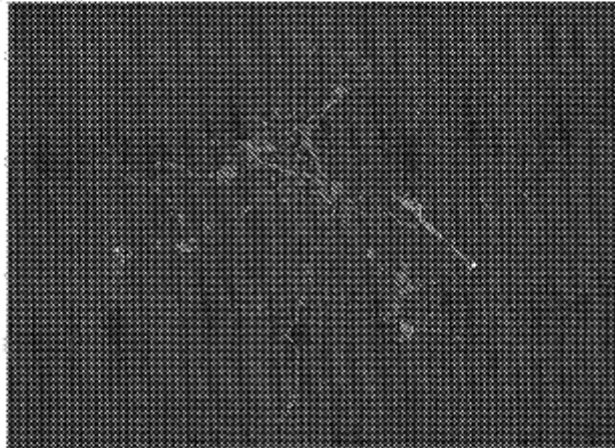


Figs. 4A-4B

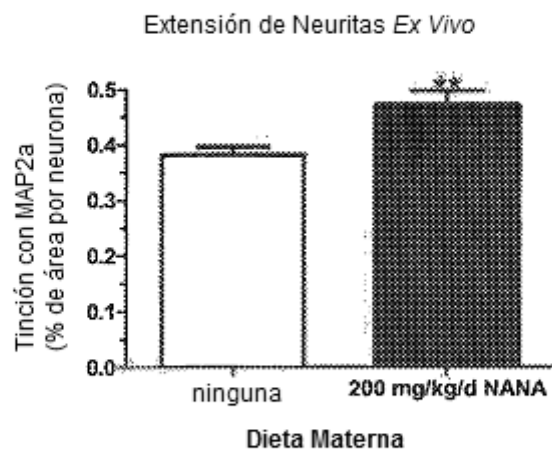
A



B

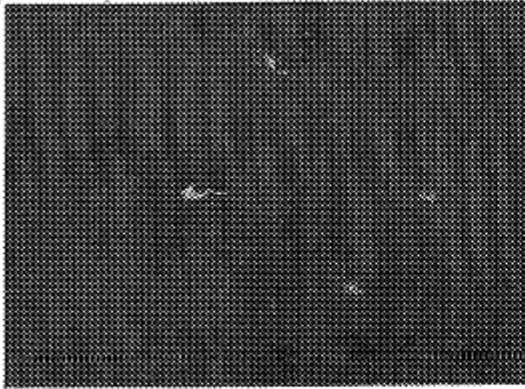


C

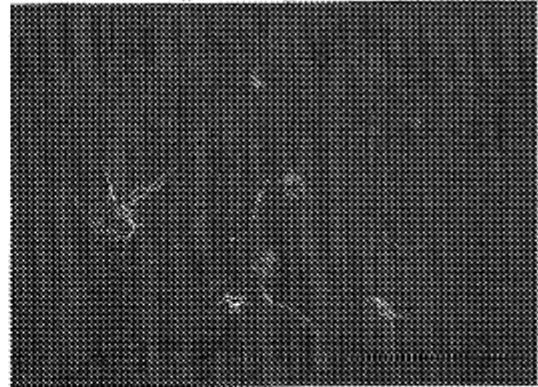


Figs. 5A-5C

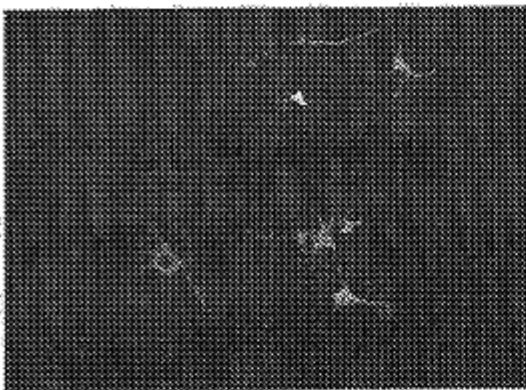
Fig. 6A



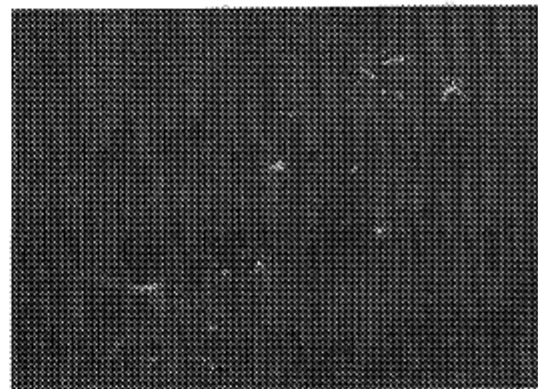
sin NANA



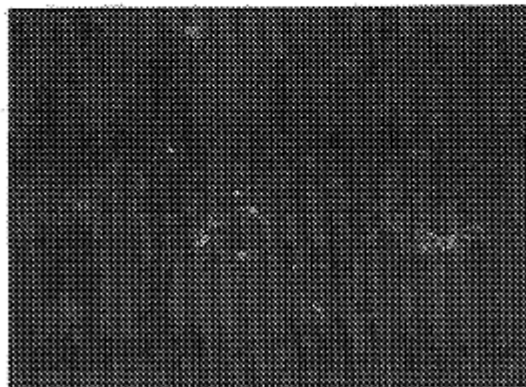
25 mg/kg/d NANA



50 mg/kg/d NANA

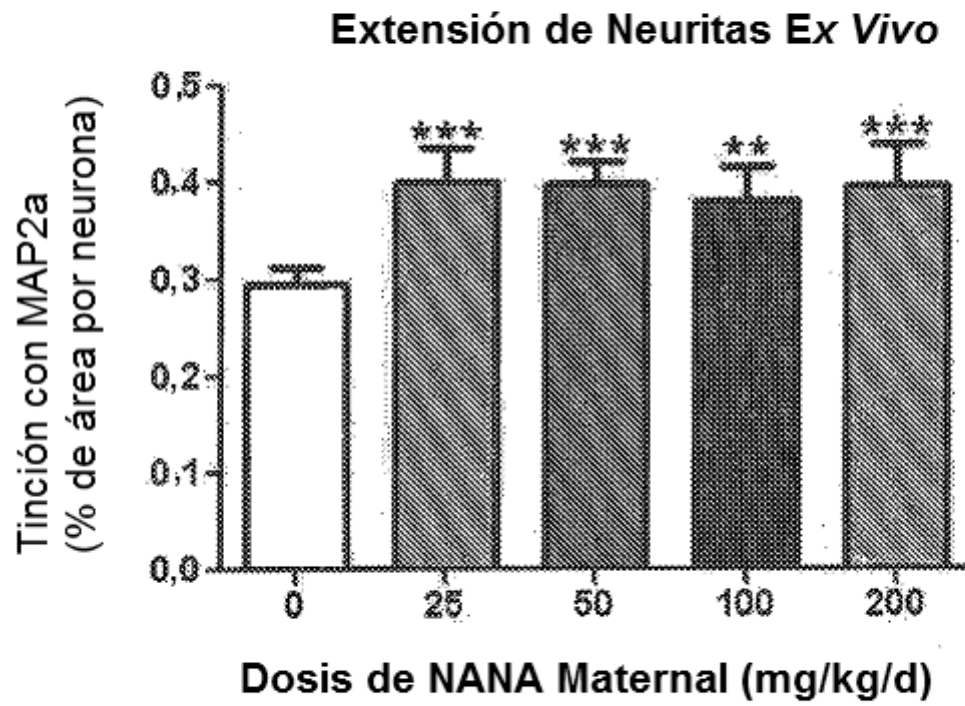


100 mg/kg/d NANA



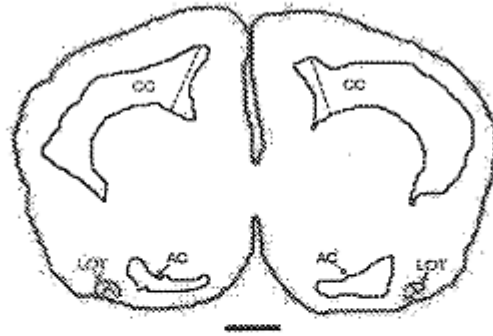
200 mg/kg/d NANA

Fig. 6B



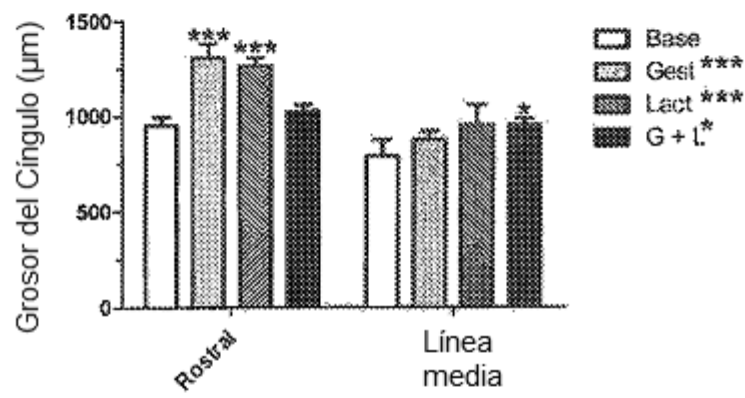
$$F_{(4.325)} = 8,961, p < 0,001, \beta = 0,999$$

A



Cuerpo Calloso

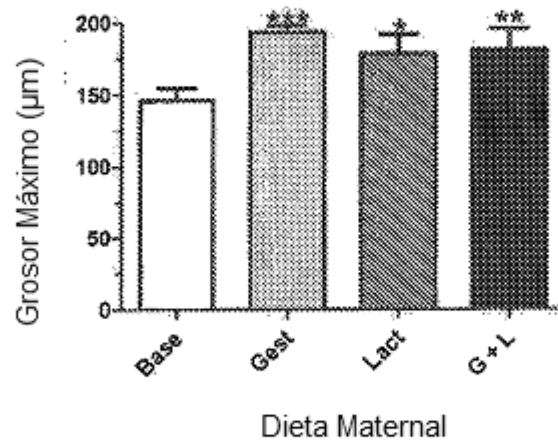
B



Área del Cerebro

Tracto Olfatorio Lateral

C



Figs. 7A-7C

Fig. 8A

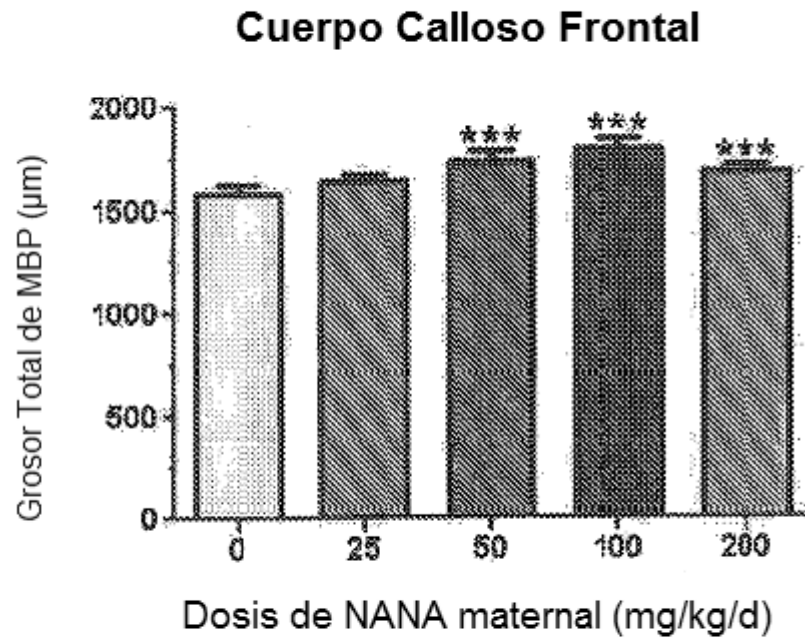


Fig. 8B

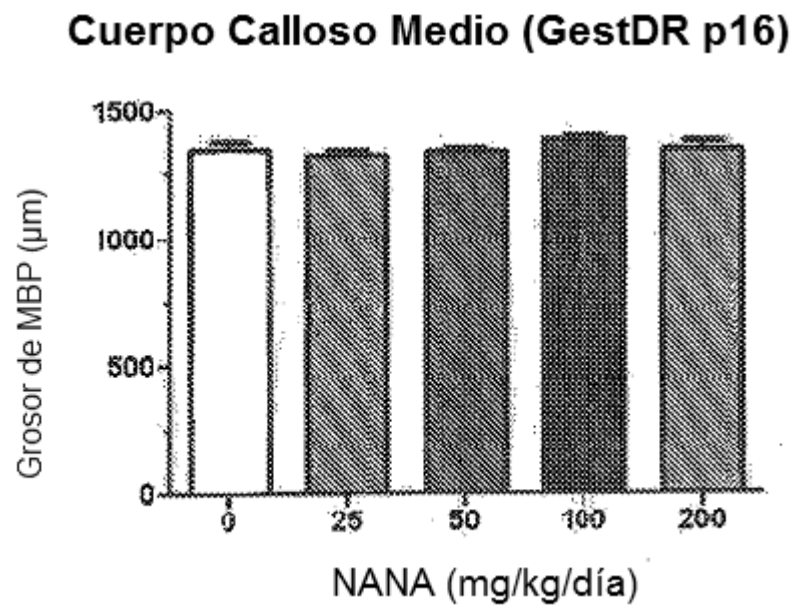


Fig. 8C

Tracto Olfatorio Lateral en Descendencia

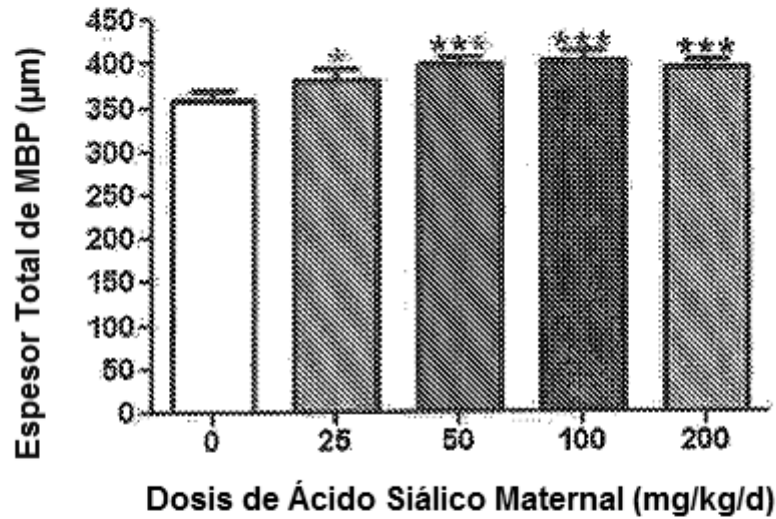


Fig. 8D

Decusación de la Linea Media del Cuerpo Calloso (GestDRp16)

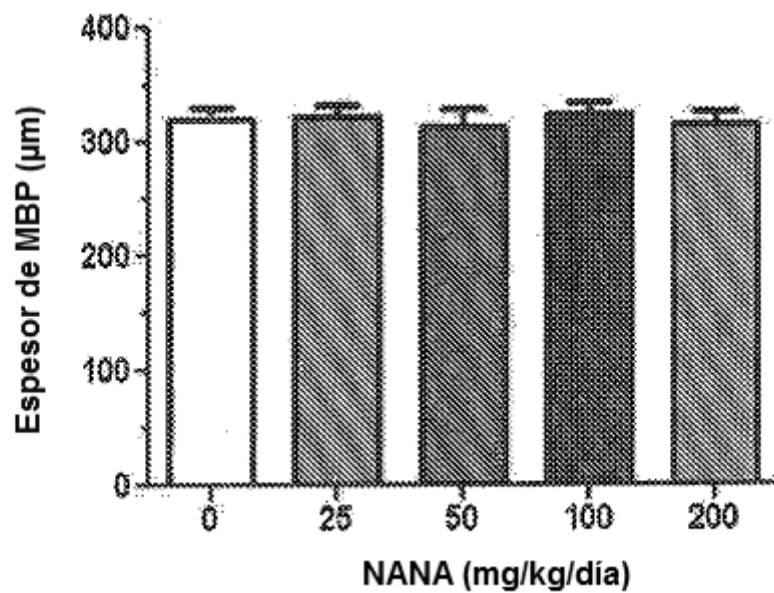


Fig. 9A

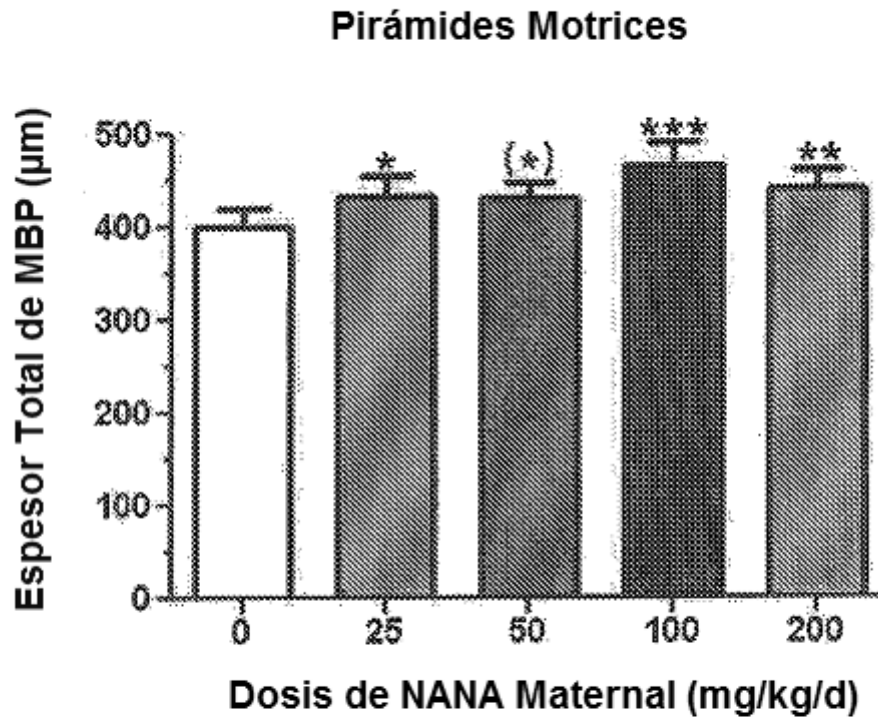


Fig. 9B

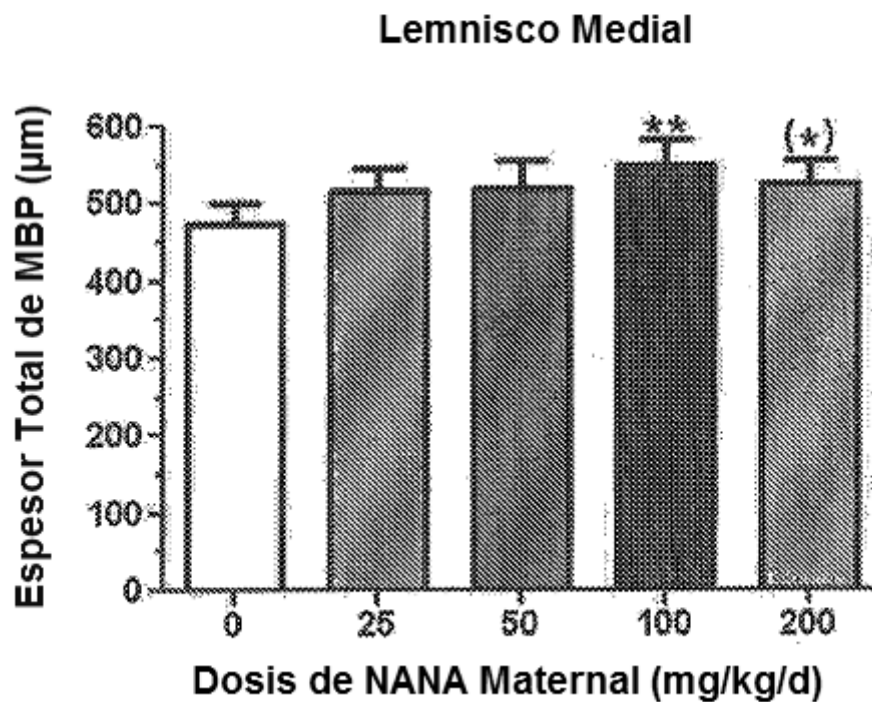


Fig. 10A

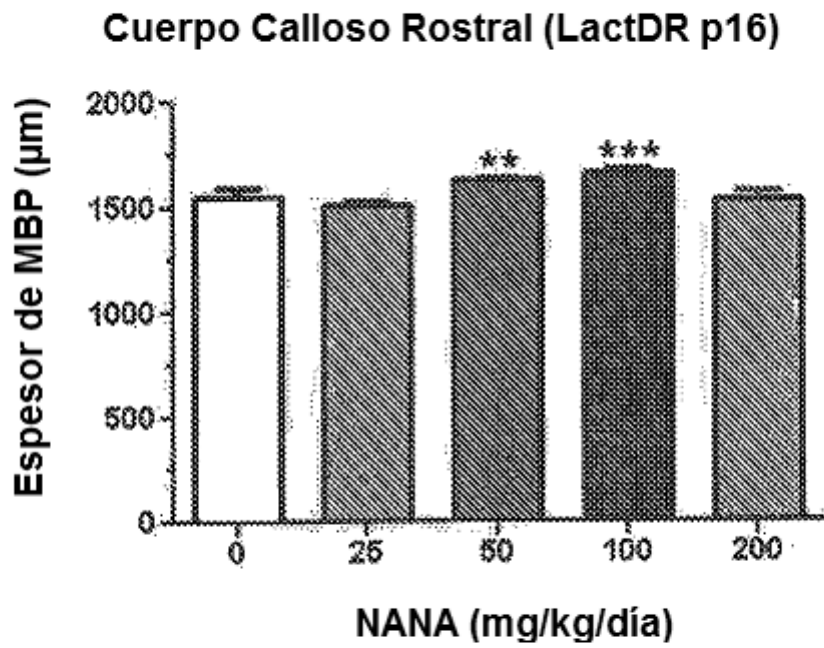


Fig. 10B

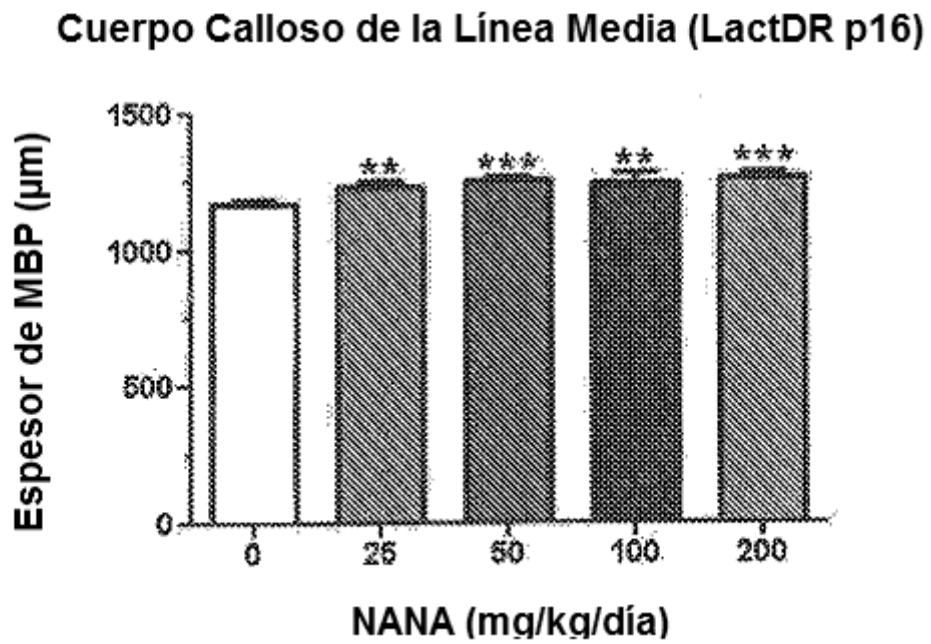


Fig. 10C

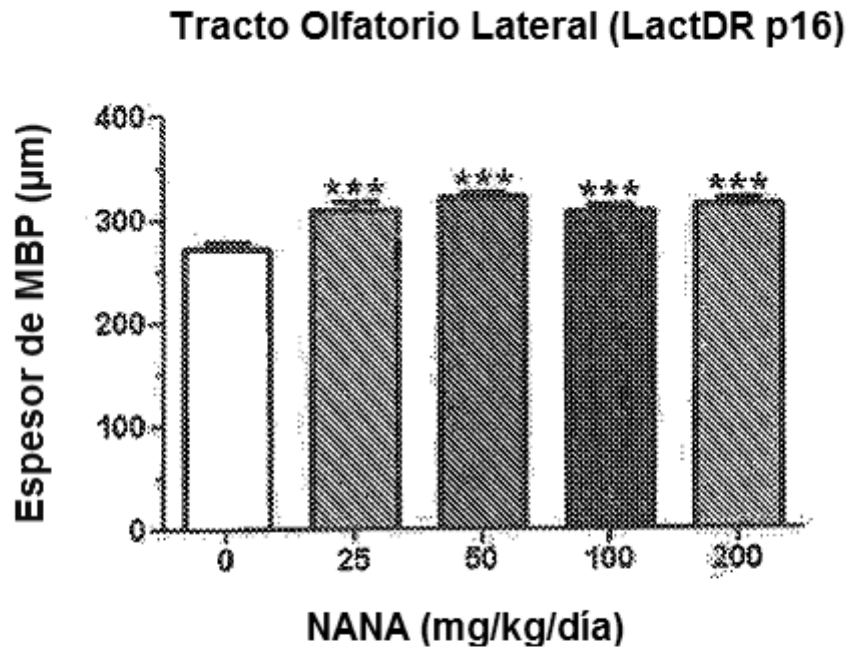


Fig. 10D

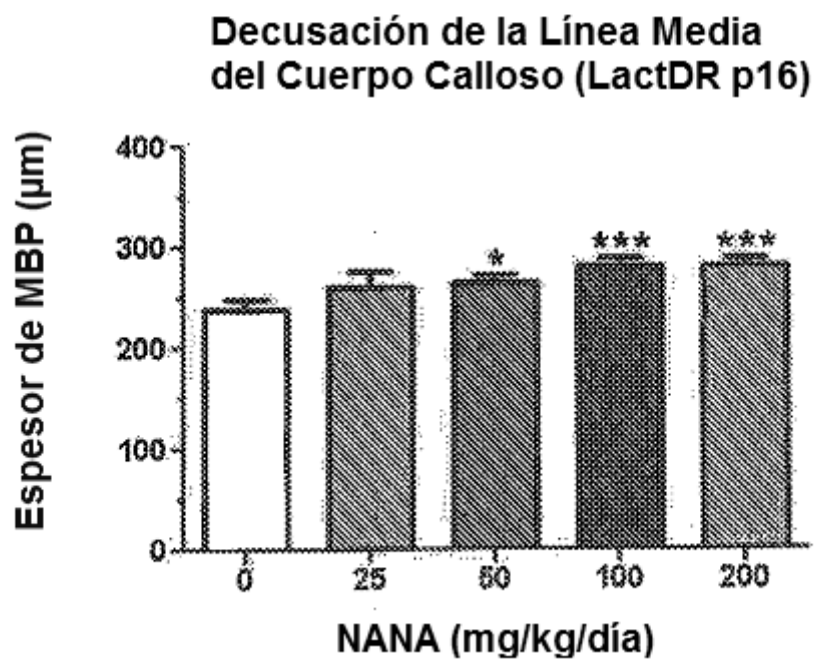


Fig. 11A

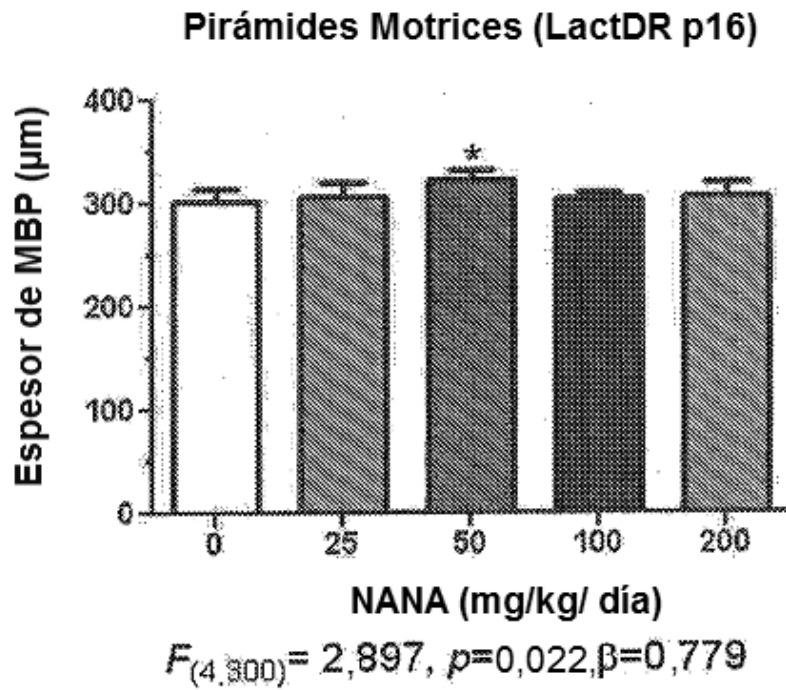


Fig. 11B

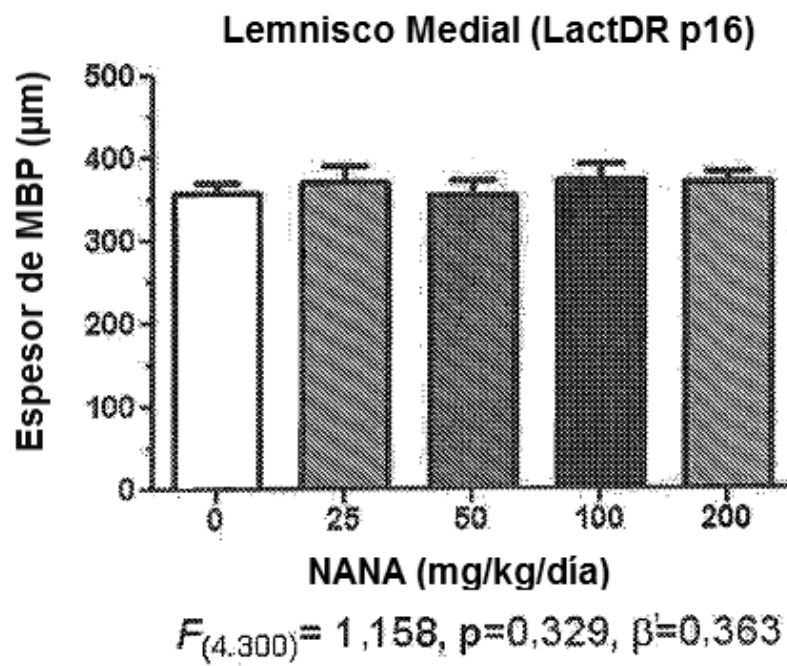


Fig. 12A

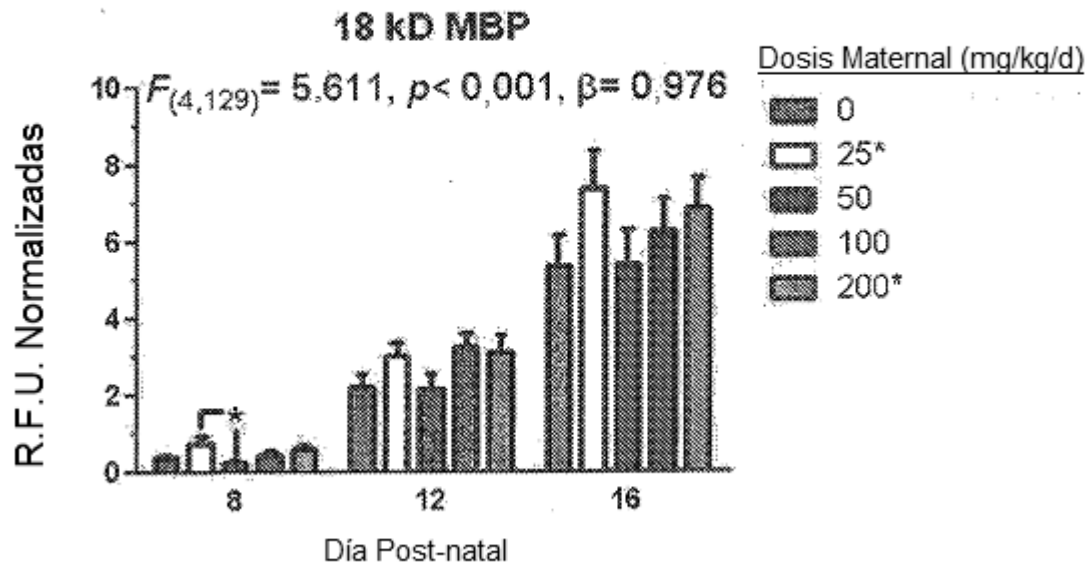


Fig. 12B

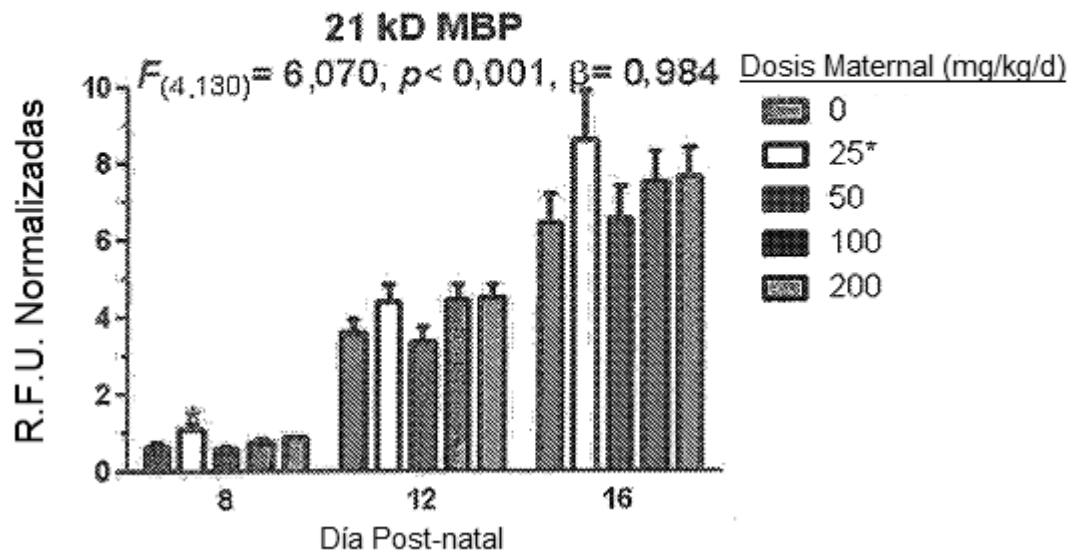


Fig. 13A

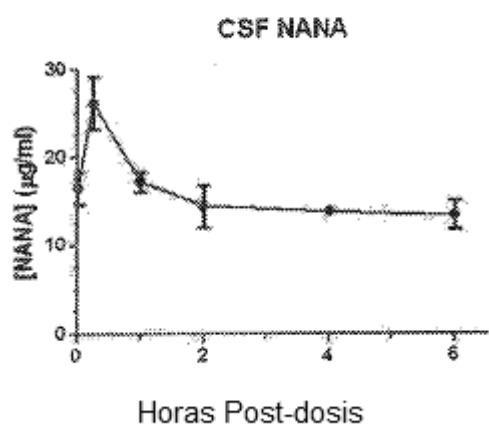


Fig. 13B

