

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 586 757**

51 Int. Cl.:

**A61K 31/54** (2006.01)  
**A61K 31/202** (2006.01)  
**A61K 31/201** (2006.01)  
**A61K 31/198** (2006.01)  
**A61P 25/28** (2006.01)  
**A61P 9/10** (2006.01)  
**A61K 45/06** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **19.12.2008 E 08869735 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **15.06.2016 EP 2224930**

54 Título: **Composiciones que contienen ácidos grasos insaturados y compuestos que liberan óxido nítrico y usos de las mismas para intensificar las funciones cognitivas y afines**

30 Prioridad:

**04.01.2008 US 10097 P**  
**30.07.2008 US 137382 P**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**18.10.2016**

73 Titular/es:

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

72 Inventor/es:

**PAN, YUANLONG**

74 Agente/Representante:

**ISERN JARA, Jorge**

ES 2 586 757 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

Composiciones que contienen ácidos grasos insaturados y compuestos que liberan óxido nítrico y usos de las mismas para intensificar las funciones cognitivas y afines

5 Referencia cruzada a solicitudes afines

Esta solicitud reivindica la prioridad se la solicitud provisional U.S. que lleva el número de serie 61/010,097, depositada con fecha 04 de enero de 2008 y la solicitud provisional U.S. que lleva el número de serie 61/137,382, depositada con fecha 30 de julio de 2008, cuyas publicaciones se incorporan a la presente como referencias.

10 Antecedentes de la invención

15 Ámbito de la invención

La invención se refiere en general a composiciones y métodos para intensificar la función cognitiva y en especial a composiciones que contienen ácidos grasos insaturados y compuestos que liberan óxido nítrico y a su uso para intensificar la función cognitiva de los animales.

20 Descripción de la técnica anterior

Los animales viejos o en curso de envejecer sufren a menudo algún grado de deterioro cognitivo. Se observan habitualmente cambios, incluida la disminución de la función cognitiva, que progresa con la edad y cambios de la morfología cerebral y de la función cerebrovascular asociados con la edad, p. ej. el envejecimiento del cerebro. El deterioro cognitivo inherente a la edad o asociado con la edad puede manifestarse de muchas maneras, p. ej. la pérdida de la memoria de hechos recientes, la disminución de la capacidad de aprender, la disminución del grado o velocidad de aprender, la disminución de la atención, la disminución de la facultad motora y/o la demencia, entre otros indicios. En algunos casos se desconoce la etiología específica que provoca esta disminución cognitiva. En otros casos, el deterioro cognitivo es el resultado del inicio o del progreso de enfermedades reconocidas, de trastornos o de síndromes, por ejemplo, la enfermedad de Alzheimer (AD). Se sabe que la disminución de la capacidad cognitiva asociada con la edad es distinta y puede surgir con independencia de la AD.

Los modelos animales de deterioro cognitivo facilitan en gran manera el estudio de tales estados patológicos, incluidas su fisiología, neurología, anatomía y patología. Los perros son animales modelo útiles, que ponen de manifiesto la disminución cognitiva de aprendizaje y de memoria asociada con la edad, que varía según sea la función de la tarea cognitiva (Adams, B. y col., 2000a; Chan, A.D.F. y col., 2002; Su, M.-Y. y col., 1998; y Tapp, P.D. y col., 2003). El estudio de tal disminución en perros es útil de por sí, debido a su rol de animales de compañía, mientras que el hecho de la disminución observada refleja las disminuciones cognitivas asociadas a la edad que se detectan en las personas humanas (Adams, B. y col., 2000b) y convierte los estudios en más valiosos si cabe. Los perros viejos desarrollan neuropatologías afines a las observadas tanto en las personas humanas que envejecen de modo adecuado como en los pacientes de AD, por ejemplo la proteína beta-amiloide (Cotman, C.W. y Berchtold, 2002; y Cummings, B.J. y col., 1996). No obstante, los perros no manifiestan marca alguna de AD, en particular, no se han observado ovillos neurofibrilares que contienen tau (Dimakopoulos, A.C. y col., 2002). Por lo tanto, el estado patológico de los perros es distinto y se denomina síndrome de disfunción cognitiva canina (Canine Cognitive Dysfunction Syndrome = CCDS).

Tanto los perro sanos como los que no lo están, por ejemplo aquellos a los que se ha diagnosticado un CCDS, pueden presentar desde el punto de vista clínico un deterioro cognitivo progresivo y cambios neuropatológicos (London, E.D. y col., 1983). Además, los perros en fase de envejecimiento y aquellos a los que se ha diagnostica un CCDS presentan varios trastornos de conducta. Por ejemplo, es posible que no respondan cuando se les llama por su nombre o no obedezcan las órdenes familiares, pueden perderse o estar desorientados incluso en el entorno familiar, pueden dejar de manifestar alborozo o no responder cuando se hallan de nuevo en presencia de sus dueños o de visitantes, pueden desplegar una menor actividad durante el día, pueden deambular en círculos, pueden rehuir las muestras de afecto y pueden perder el control de la vejiga de la orina o del intestino.

En el documento US 2006/0166935 A1 se describe el uso de una composición de ácidos grasos específicos para el tratamiento y/o prevención de enfermedades asociadas con amiloides, por ejemplo la enfermedad de Alzheimer (véase US 2006/0166935 A1, párrafo [0012]). En US 2006/0166935 A1 se describe a este respecto que la composición de ácidos grasos requiere por lo menos una combinación de ácido (omega-3)-4,7,10,13,16,19-docosahexaenoico (todos Z) (DHA) y de ácido (omega-3)-5,8,11,14,17-eicosapentaenoico (todos Z) (EPA) o derivados de los mismos (véase por ejemplo US 2006/0166935 A1, párrafo [0019]). Las composiciones descritas en US 2006/0166935 A1 requieren de forma obligada la presencia de DHA y EPA. En el documento US 2006/0166935 A1 se hace un hincapié especial en la combinación de EPA y DHA, entre otras en una proporción de EPA:DHA comprendida entre 1:1 y 1:8 o con mayor preferencia entre 1:1 y 1:6 (véase por ejemplo la reivindicación 38). El documento US 2006/0166935 A1 guarda silencio sobre la adición de los NORC, vitaminas B y antioxidantes, incluida la astaxantina.

El documento US 7,135,498 se refiere a la administración de los NORC para aumentar la función cognitiva (véase por ejemplo el resumen). En este aspecto, tal como se subraya sobre todo mediante los ejemplos 1 y 2 del mismo, el US 7,135,498 se centra en administrar esencialmente los NORC solos (DETANONO; DETA/NO). El único compuesto diferente, la BrdU (un análogo de la timidina), que se emplea en dichos ejemplos, sirve meramente para identificar la formación de nuevas células.

A pesar de los avances realizados, continúa habiendo demanda de desarrollo de composiciones y métodos que mejoren los estados patológicos, en especial los que afectan a personas humanas y a otros animales en fase de envejecimiento. Se requieren además composiciones y métodos para el tratamiento y/o prevención del deterioro cognitivo, los estados patológicos de neurodegeneración, la apoplejía y la demencia. Tales terapias podrían ser útiles para mejorar la calidad de vida general de todos los afectados. En cuanto a los animales de compañía, estas terapias podrían proporcionar una mayor satisfacción a los dueños y podrían mejorar el nexo que une al dueño con su animal de compañía.

### 15 Resumen de la invención

Es, pues, objeto de la presente invención proporcionar composiciones útiles para intensificar la función cognitiva de un animal.

Uno o más de estos objetos se consiguen empleando las nuevas composiciones según las reivindicaciones adjuntas para el uso de intensificar la función cognitiva. En general, las composiciones contienen uno o más ácidos grasos insaturados y compuestos que liberan óxido nítrico. En esta publicación se describe la administración de las composiciones en una cantidad eficaz para intensificar la función cognitiva, en especial para prevenir, reducir y/o retardar la disminución cognitiva asociada con la edad, el deterioro cognitivo, las enfermedades patológicas de neurodegeneración, la apoplejía y la demencia de un animal.

Los expertos podrán encontrar fácilmente otros objetos, propiedades y ventajas adicionales de la presente invención.

### 30 Descripción detallada de la invención

#### Definiciones

En esta descripción es posible que se empleen las abreviaturas siguientes: AA, ácido araquidónico; ALA, ácido alfa-linolénico; ANOVA, análisis de varianza; DHA, ácido docosahexaenoico; DPA, ácido docosapentaenoico; EPA, ácido eicosapentaenoico; LA, ácido linoleico; UFA, ácidos grasos insaturados (tal como se emplea aquí, UFA indica uno o varios de dichos ácidos grasos); NO, óxido nítrico; NORC, compuesto o compuestos que liberan óxido nítrico; y L-Arg, L-arginina.

El término "animal" indica cualquier animal que pueda beneficiarse de uno o más de los métodos de la presente invención, incluida la intensificación de la función cognitiva; la alteración de la función cognitiva, motora o de conducta; la reducción o prevención de la disminución de la interacción social; la reducción o prevención de los cambios de conducta asociados con la edad; el aumento de la capacidad de entreno; el mantenimiento de una función cerebral óptima; la facilidad de aprender y de memoria; la reducción de la pérdida de memoria; el retraso del envejecimiento cerebral; la prevención o tratamiento de la apoplejía; la prevención o tratamiento de la demencia; y/o el mantenimiento de la claridad mental y la alerta. En general, el animal puede ser del género humano, aviar, bovino, canino, equino, felino, hircino, lupino, murino, ovino y porcino. El término "animal" indica con preferencia un animal para el que se desea una mejora de la función cognitiva o que pueda beneficiarse de una intensificación de dicha función cognitiva. Un "animal de compañía" es cualquier animal domesticado e incluye sin limitación a gatos, perros, conejos, cobayas, hurones, hámsters, ratones, jerbos, caballos, vacas, cabras, ovejas, asnos, cerdos y similares. El animal es con preferencia un ser humano o un animal de compañía, por ejemplo un perro o un gato.

El término "intensificar la función cognitiva" indica uno o más de los siguientes: el aumento de la función cognitiva, motora o de conducta de un animal o la prevención, la reducción o el retraso de la disminución de la función cognitiva, motora o de conducta de un animal.

El término "ácidos grasos insaturados" o "UFA" indica poliácidos grasos insaturados o monoácidos grasos insaturados, incluidos los ácidos monocarboxílicos que tienen por lo menos un doble enlace. Los UFA incluyen a los ácidos grasos (n-6), por ejemplo el ácido linoleico (LA) y ácido araquidónico (AA) y los ácidos grasos (n-3), por ejemplo el ácido eicosapentaenoico (EPA), ácido alfa-linolénico (ALA), ácido docosapentaenoico (DPA) y ácido docosahexaenoico (DHA). Los UFA incluyen además al ácido miristoleico, ácido palmitoleico, ácido oleico, ácido linoleico, ácido cis-vaccénico (= ácido cis-11-octadecenoico) y ácido erúxico.

El término "aceite de pescado" indica un extracto graso o aceitoso, relativamente rico en UFA, ya sea en estado bruto o purificado, obtenido a partir de un animal marino, con preferencia de peces de agua fría, por ejemplo, pero sin limitarse a ellos: el salmón, el atún, la caballa, el arenque, la lubina, la lubina rayada, el mero, el barbo (catfish) y

las sardinas, así como el tiburón, el camarón (gamba) y las almejas o cualquier combinación de los mismos. El aceite de pescado es en general un término técnico empleado por los proveedores de ingredientes y abarca un abanico de productos de contenidos de UFA y de pureza variables.

5 El término “compuestos que liberan óxido nítrico” o “NORC” indica cualquier compuesto o compuestos que provoca o puede producir la liberación de óxido nítrico en un animal. Los ejemplos de tales compuestos incluyen a la L-arginina, los péptidos y proteínas que contienen L-arginina y los análogos o derivados de los mismos, de los que se sabe o se determina que liberan óxido nítrico, por ejemplo el alfa-cetoglutarato de arginina, el GEA 3175, el nitroprusiato sódico, el trinitrato de glicerilo, la S-nitroso-N-acetil-penicilamina, la nitroglicerina, la S-NO-glutationa,  
 10 los fármacos antiinflamatorios no esteroideos conjugados con NO (p. ej. NO-naproxeno, NO-aspirina, NO-ibuprofeno, NO-diclofenac, NO-flurbiprofeno y NO-ketoprofeno), el compuesto-7 que libera NO, compuesto-5 que libera NO, compuesto-12 que libera NO, compuesto-18 que libera NO, diolatos de diazenio y derivados de los mismos, NONOato de dietilamina y cualquier compuesto orgánico o inorgánico, cualquier biomolécula, análogo, homólogo, conjugado o derivado de los mismos que produzca la liberación de óxido nítrico, en especial de NO  
 15 “libre”, en un animal. El NORC se define también en el sentido de incluir suplementos que pueden convertirse en compuestos que liberan óxido nítrico cuando se metabolizan en el organismo, p. ej. la citrulina y la ornitina.

El término “cantidad eficaz” indica una cantidad de un compuesto, material, composición, medicamento u otro material que es eficaz para producir un resultado biológico concreto. Tales resultados incluyen, pero no se limitan a uno o más de los siguientes: intensificar la función cognitiva, aumentar la actividad diurna, mejorar el aprendizaje (ya sea la velocidad, ya sea la facilidad de aprender), mejorar la atención, mejorar la conducta social, mejorar la capacidad motora y/o mejorar la función cerebrovascular, en especial en animales en fase de envejecimiento. En varias formas de ejecución, la “cantidad eficaz” indica una cantidad apropiada para prevenir la disminución de una o más de las propiedades recién citadas, o, en ciertas formas de ejecución, para mejorar cualquiera de las propiedades anteriores, por ejemplo, la función cognitiva o el rendimiento, la velocidad o capacidad de aprender, la capacidad para solucionar problemas, el alcance de la atención y la capacidad para centrarse en una tarea o problema, la función motora o la capacidad, la conducta social y similares. En otras formas de ejecución, la cantidad eficaz es apropiada para reducir la extensión o la velocidad de disminución de la capacidad cognitiva o el funcionamiento cognitivo de un animal y/o la cantidad eficaz es apropiada para retrasar el inicio de tal disminución.  
 20 Tal eficacia puede lograrse, por ejemplo, administrando las composiciones de la presente invención a un animal o a una población de animales. La prevención, reducción o retraso de tal disminución o la mejora de un individuo o de una población se refieren a un grupo o colectivo, p. ej. un animal de control o el conjunto de la población que no ha recibido el tratamiento, o bien el conjunto al que se ha administrado la composición o medicamento.

El término “función cognitiva” indica la actividad fisiológica especial, normal o correcta del cerebro, incluidas una o más de las siguientes: estabilidad mental, capacidad de memoria/recuerdo, capacidad para resolver problemas, capacidad de razonamiento, capacidad de pensar, capacidad de juzgar, capacidad de discernir, discriminar o elegir entre opciones, capacidad de aprender, facilidad de aprender, percepción, intuición, atención y conciencia. La “función cognitiva intensificada” o la “función cognitiva mejorada” indica cualquier mejora de la actividad fisiológica especial, normal o correcta del cerebro, incluidas una o más de las siguientes: estabilidad mental, capacidad de memoria/recuerdo, capacidad para resolver problemas, capacidad de razonamiento, capacidad de pensar, capacidad de juzgar, capacidad de discernir, discriminar o elegir entre opciones, capacidad de aprender, facilidad de aprender, percepción, intuición, atención y conciencia, que pueden determinarse por cualquier medio adecuado de la técnica.  
 25 30 35 40 45

El término “conducta” indica cualquier cosa que un animal hace en respuesta o reacción a un estímulo determinado o a un conjunto de condiciones. La “conducta intensificada” o la “conducta mejorada” indica cualquier mejora observada en cualquier cosa que un animal hace en respuesta o reacción a un estímulo determinado o a un conjunto de condiciones. En la presente descripción, “conducta” se emplea como sinónimo de “función de conducta”.  
 50

El término “función motora” o “capacidad motora” indica la actividad biológica de los tejidos que efectúan o producen el movimiento de un animal. Tales tejidos incluyen, sin limitación, a los músculos y las neuronas motoras. La “intensificación de la capacidad (o función) motora” o la “mejora de la capacidad (o función) motora” indican cualquier mejora de la actividad biológica de los tejidos que efectúan o producen el movimiento de un animal.  
 55

El término “disminución” de una cualquiera de las categorías precedentes o de los tipos específicos de cualidades o funciones de un individuo (fenotipos) indica por lo general lo opuesto a una mejora o intensificación de dichas cualidades o funciones. Una “cantidad eficaz” de una composición puede ser la cantidad requerida para prevenir la disminución o el empeoramiento en conjunto o para prevenir sustancialmente la disminución (“prevenir” la disminución), para reducir el grado o la velocidad de la disminución (“reducir” la disminución) durante cualquier período de tiempo o en cualquier momento temporal o para retrasar el inicio, la extensión o el progreso de una disminución (“retrasar” la disminución). La prevención, la reducción o el retraso de la “disminución” tienen a menudo una base comparativa más útil cuando se trabaja con animales en fase de envejecimiento pero no enfermos (p. ej. “animales sanos en fase de envejecimiento”). La prevención, la reducción o el retraso pueden considerarse con respecto a un animal de control o a un grupo que no recibe el tratamiento, por ejemplo la dieta o el suplemento de interés. La prevención, la reducción o el retraso del inicio de una cualidad o condición mermada o de la velocidad de  
 60 65

disminución de una función concreta pueden medirse y considerarse tomando una base individual o, en algunas formas de ejecución, tomando una base colectiva. El efecto neto de la prevención, la reducción o el retraso de la disminución consiste en tener menos empeoramiento del funcionamiento cognitivo, motor o de conducta por unidad de tiempo o en un punto final determinado. En otras palabras, de un modo ideal y para un individuo o una población, el funcionamiento cognitivo, motor y de conducta se mantiene en el máximo nivel posible durante el mayor tiempo posible. Por lo tanto no es necesario que haya un aumento neto de las funciones cognitiva, motora o de conducta para cada forma de ejecución. Para los fines presentes, un individuo puede compararse con un individuo, grupo o población de control. De igual manera, una población puede compararse con un individuo concreto realizando mediciones normalizadas en un individuo, puede compararse con un grupo o con una población, si se considera útil.

El término “en fase de envejecimiento” indica que está en una edad avanzada, por ejemplo un animal que haya superado el 50 % de la esperanza de vida promedio de su especie concreta y/o de su raza dentro de una especie. Por ejemplo, si la vida media de una raza determinada de perro es de 10 años, entonces un perro de esta raza que tenga más de 5 años podrá considerarse que está “en fase de envejecimiento” para los fines de esta invención. Los “animales sanos en fase de envejecimiento” son aquellos que no presentan enfermedades conocidas, en especial enfermedades relacionadas con la pérdida o el deterioro cognitivo que pudieran confundir los resultados. En los estudios, en los que se emplean animales sanos en fase de envejecimiento, los animales del colectivo son también con preferencia animales sanos en fase de envejecimiento, pero también pueden ser adecuados para el uso de muestras comparativas otros animales sanos que tengan un funcionamiento cognitivo, motor o de conducta apropiados. Si se emplean animales con diagnóstico de enfermedades específicas o con limitaciones cognitivas, motoras o de conducta, entonces los animales del colectivo deberían incluir también a animales que tengan diagnósticos similares o que presenten indicios similares de enfermedad o de limitación cognitiva, motora o de conducta.

El término “alimento”, “producto alimentario” o “composición alimentaria” indica un producto o composición destinado a la ingestión de un animal, incluidos los seres humanos y que proporciona nutrición a dicho animal.

Tal como se emplea aquí, un “producto alimentario formulado para el consumo humano” es cualquier composición destinada específicamente a ser ingerida por un ser humano. El término “pienso para animales de compañía” o “composición alimentaria para animales de compañía” indica una composición destinada al consumo de animales, con preferencia de animales de compañía. Un “pienso completo y nutritivamente equilibrado para animales de compañía” es aquel que contiene todos los nutrientes conocidos requeridos para el receptor o consumidor de pienso al que se destinan, en cantidades y proporciones apropiadas, basadas por ejemplo en las recomendaciones de organismos o autoridades reconocidos en el ámbito de la nutrición de animales de compañía. Tales piensos son, pues, capaces de servir como fuente única de ingestión dietética para mantener la vida o para promover la producción, sin necesidad de añadir otras fuentes nutritivas suplementarias. Las composiciones nutritivamente equilibradas para animales de compañía son ya muy conocidas y empleadas en la técnica. Esta expresión incluye cualquier pienso, alimento, bocado, suplemento alimentario, chucherías, sucedáneo o sustitutivo de comida, tanto los destinados a seres humanos como los destinados a otros animales. El pienso para animales incluye el pienso o piensos destinados a cualquier especie animal domesticada o salvaje. En las formas preferidas de ejecución, un pienso para animales representa una composición alimentaria nutritivamente completa, p. ej. un pienso en forma granulada, extruida o seca. Los ejemplos de tales piensos para animales incluyen los piensos extruidos para animales de compañía, por ejemplo los piensos para perros o gatos.

El término “suplemento dietético” indica un producto destinado a la ingestión además de la dieta animal normal. Los suplementos dietéticos pueden adoptar cualquier forma, p. ej. sólido, líquido, gel, tabletas, cápsulas, polvos y similares. Se suministran con preferencia en formas de dosificación convenientes. En algunas formas de ejecución se suministran en envases a granel, por ejemplo polvos, líquidos, geles o aceites a granel. En otras de ejecución, los suplementos se proporcionan en cantidades a granel para incluirse en otros productos alimentarios, por ejemplo un tentempié, chucherías, barras de suplementos, bebidas y similares.

El término “administración a largo plazo” indica períodos de administración repetida o el consumo durante más de un mes. En ciertas formas de ejecución son preferidos los períodos superiores a dos, tres o cuatro meses. Son también preferidos los períodos más prolongados, que incluyen más de 5, 6, 7, 8, 9 ó 10 meses. Son también preferidos los períodos superiores a 11 meses o 1 año. Se incluyen en la invención los períodos superiores a 1, 2, 3 o más años. Para ciertos animales en fase de envejecimiento, el animal continuará consumiendo con arreglo a una base regular durante el resto de su vida. Algunas veces, esto es preferido al consumo durante períodos “prolongados”.

El término “base regular” significa la dosificación por lo menos mensual de las composiciones o el consumo de las composiciones, con mayor preferencia la dosificación semanal. En ciertas formas de ejecución es preferida la dosificación o el consumo más frecuentes, por ejemplo dos, tres o siete veces por semana. Son todavía más preferidos los regímenes que incluyen el consumo por lo menos una vez al día. Los expertos podrán apreciar que la concentración en la sangre de un compuesto o de ciertos metabolitos de tal compuesto o que resultan después del consumo de dicho compuesto, puede ser una herramienta útil para evaluar o determinar la frecuencia de dosificación. Es útil aquella frecuencia, con independencia de si aquí se ilustra de modo explícito, que permite mantener la concentración deseada en la sangre del compuesto medido dentro de intervalos aceptables. Los

expertos podrán apreciar que la frecuencia de dosificación está en función de la composición que se está consumiendo o administrando y que algunas composiciones pueden requerir una administración más o menos frecuente para mantener una concentración deseada en la sangre del compuesto medido.

5 El término “administración oral” o “administrar por vía oral” indica que el animal ingiere o que a una persona humana se le receta que tome o que entregue al animal una o más de las composiciones aquí descritas. Cuando a una persona humana se le receta que tome una composición, dicha orden puede ser aquella que instruye y/o informa a la persona de que el uso de la composición puede proporcionar y/o realmente proporcionará el beneficio referido, por ejemplo la intensificación de la función cognitiva, la mejora de la función hepática, el aumento de la actividad diurna, la mejora del aprendizaje, la mejora de la atención, la mejora de la conducta social, la mejora de la actividad motora y/o la mejora de la función cerebrovascular, o la prevención, la reducción o el retraso de la disminución de las funciones o cualidades recién mencionadas. Tal receta puede ser una receta de administración oral (p. ej. una receta de administración oral expedida por ejemplo por un médico, un veterinario u otro profesional sanitario, o el consejo emitido por radio o televisión (es decir, el aviso) o la orden escrita (p. ej. la orden escrita expedida por ejemplo por un médico, un veterinario u otro profesional sanitario (p. ej. una receta), los profesionales o las organizaciones comerciales (p. ej. por ejemplo mediante folletos, panfletos comerciales u otros conjuntos o parafernalia de medios instructivos), los medios escritos (p. ej. internet, correo electrónico, sitios de red u otros medios accesibles con el ordenador, el teléfono o la tableta), y/o el envase está asociado a la composición (p. ej. una etiqueta presente en el envase que contiene la composición), o una combinación de los mismos (p. ej. la etiqueta y el prospecto con instrucciones para acceder al sitio de red que proporciona información más detallada).

El término “fármacos cognitivos” indica cualquier compuesto, composición o fármaco útil para influir en la función cognitiva, p. ej. los inhibidores de la monoamina-oxidasa B, p. ej. la selegilina; los vasodilatadores, tales como la nicerogolina y la vinpocetina; la fosfatidilserina; la propentofilina; las anticolinesterasas (inhibidores de colinesterasa), por ejemplo la tacrina, galantamina, rivastigmina, vinpocetina, donepezilo (ARICEPT® (clorhidrato de donepezilo)), metrifonato y fisostigmina; la lecitina; la colina, los colinomiméticos, por ejemplo la milamelina y xanomelina; los antagonistas ionotrópicos de receptor de N-metil-D-aspartato (NMDA), por ejemplo la memantina; los fármacos antiinflamatorios, tales como la prednisolona, diclofenac, indometacina, propentofilina, naproxeno, rofecoxina, ibuprofeno y suldinac; los agentes quelantes de metales, por ejemplo el cliquinol; la *Ginkgo biloba*; los bisfosfonatos; los moduladores selectivos de receptores de estrógenos, p. ej. el raloxifeno y los estrógeno; un fitoestrógeno; los inhibidores de beta- y gama-secretasa; los fármacos que reducen la concentración de colesterol, por ejemplo las estatinas; la calcitonina; el risedronato; el alendronato; y las combinaciones de los mismos.

El término “en combinación” indica que una composición que contiene los UFA, NORC, una composición alimentaria, un fármaco cognitivo u otro compuesto o composición de la presente invención se administran a un animal (1) juntos en una composición o (2) por separado con la misma frecuencia o con una frecuencia diferente, empleando las mismas vías de administración o vías diferentes, aproximadamente al mismo tiempo o de forma periódica. “De forma periódica” indica que el agente se administra en un régimen de dosificación aceptable para un agente específico y que el pienso se entrega al animal de modo rutinario, apropiado para el animal en cuestión. “Aproximadamente al mismo tiempo” indica en general que el alimento y el agente se administran al mismo tiempo o dentro de un intervalo de separación entre sí de unas 72 horas. “En combinación” incluye de modo específico a los esquemas de administración, en los que se administra un fármaco cognitivo durante un período prescrito y las composiciones que contienen los UFA y NORC se administran de manera indefinida.

El término “individuo” referido a un animal indica un animal individual de de cualquier especie o tipo.

El término “microorganismo” abarca por lo menos a las bacterias, mohos y otros hongos y las levaduras. Los probióticos son microorganismos beneficiosos que pueden sobrevivir o incluso multiplicarse y medrar en el tracto gastrointestinal de un animal. Los probióticos pueden contribuir al estado general de salud de un animal y en especial a la salud gastrointestinal del animal.

El término “envase individual” indica que los componentes de un kit están asociados físicamente, en o con uno o más recipientes y se considera una unidad a efectos de fabricación, distribución, venta o uso. Los recipientes incluyen, pero no se limitan a las bolsas, cajas, cajas de cartón, botellas, envases de todo tipo, diseño o material, los componentes empaquetados, empaquetados con una lámina retráctil, pegados (p. ej. apilados, encolados o similares) o las combinaciones de cualquiera de los anteriores. Por ejemplo, un kit de envase individual puede proporcionar recipientes de composiciones individuales y/o composiciones alimentarias asociadas físicamente, de modo que se consideran una unidad a efectos de fabricación, distribución, venta o uso.

El término “envase virtual” indica que los componentes de un kit llevan asociadas direcciones o enlaces con uno o más componentes del kit, físicos o virtuales, indicando al usuario el modo de obtener los componentes restantes, p. ej. En una bolsa u otro recipiente que contenga un componente e instrucciones que indican al usuario que debe visitar un sitio de la red informática, ponerse en contacto con el servicio de asistencia mediante un mensaje grabado o mediante un fax, visualizar un mensaje escrito o ponerse en contacto con el asistente sanitario o instructor para obtener, por ejemplo, las instrucciones de uso del kit, o la información técnica o de seguridad relativa a uno o más de

5 los componentes de un kit. Los ejemplos de información que pueden proporcionarse como parte de un kit virtual incluyen las instrucciones de uso; la información de seguridad, por ejemplo las hojas de datos de seguridad del material; la información de control de tóxicos; la información sobre posibles reacciones adversas; los resultados de los estudios clínicos; la información dietética, por ejemplo la composición del alimento o la composición en calorías; la información general sobre la función cognitiva, de conducta o motora; las enfermedades que afectan a la función cognitiva, de conducta o motora; el tratamiento de la función cognitiva, de conducta o motora; o la información general sobre el tratamiento y conservación de la función cognitiva, de conducta o motora; la autoayuda relativa a la función cognitiva, de conducta o motora; la información del asistente sanitario que se ocupa de animales con retos de tipo cognitivo, de conducta o motor; y el uso, los beneficios y los efectos secundarios o contraindicaciones potenciales de los fármacos cognitivos.

10 El término “salud y bienestar de un animal” indica el bienestar completo del animal, físico, mental y social, no la mera ausencia de enfermedad o dolencia.

15 El término “prolongando la flor de la vida” indica prolongar el número de años que un animal vive una vida sana y no meramente prolongar el número de años de la vida de un animal, p. ej. un animal podrá vivir sano y en la flor de su vida durante un período de tiempo relativamente mayor.

20 Todos los porcentajes indicados en la presente se refieren al peso de la composición en base a la materia seca, a menos que se establezca otra cosa. Los expertos podrán apreciar que la expresión “en base a la materia seca” indica que una concentración o porcentaje del ingrediente en una composición se mide o determina después de haber eliminado cualquier resto de humedad dentro de la composición.

25 Tal como se emplean a lo largo de esta descripción, los intervalos se emplean resumidos con el fin de evitar el tener que establecer su amplitud y describir todos y cada uno de los valores comprendidos dentro del intervalo. Puede elegirse cualquier valor apropiado dentro del intervalo, si procede, por ejemplo el valor máximo, el valor mínimo o el último valor del intervalo.

30 Tal como se emplean en la descripción y en las reivindicaciones adjuntas, la forma singular de un término incluye también a la plural y viceversa, a menos que el contexto dicte claramente lo contrario. Por lo tanto, las referencias “un”, “una”, “el” y “la” incluyen en general a los plurales de los términos en cuestión. Por ejemplo, cuando se escribe “un cachorro”, “un método” o “un alimento” se incluye también a la pluralidad de tales “cachorros”, “métodos” o “alimentos”. Cuando aquí se menciona, por ejemplo “un antioxidante”, este término incluye a la pluralidad de tales antioxidantes, mientras que cuando se indica “piezas” se incluye también una pieza individual. De igual manera, las palabras “comprender”, “comprende” y “comprendiendo” deberán interpretarse en sentido inclusivo y no en el exclusivo. De igual manera, los términos “incluyen”, “incluir” y “o” deberán tomarse en todos los casos en sentido incluso, a menos que tal construcción quede claramente vetada por el contexto. Cuando se emplea el término “ejemplos” en la descripción, en especial cuando va seguido de una lista de términos, entonces deberá tomarse como algo meramente ilustrativo y no debería interpretarse en sentido exclusivo o exhaustivo.

40 Los métodos, composiciones y otros adelantos aquí descritos no se limitan a una metodología, protocolos y reactivos concretos aquí descritos, porque, tal como los expertos podrán apreciar, todos ellos pueden variar. Además, la finalidad de la terminología aquí empleada se centra en describir solamente formas de ejecución particulares y no pretende, como en realidad no hace, limitar el alcance de los que se describe o se reivindica.

45 A menos que se definan de otra manera, todos los términos científicos y técnicos, los términos de este ámbito y los acrónimos aquí empleados tienen los significados aceptados en general por los expertos en el o en los ámbitos de la invención o en el o en los ámbitos, en los que se emplea el término en cuestión. Aunque para la puesta en práctica de la presente invención pueden emplearse muchas composiciones, métodos, artículos de fabricación u otros medios o materiales similares o equivalentes a los aquí descritos, a continuación se describen las composiciones, métodos, artículos de fabricación u otros medios o materiales considerados preferidos.

La invención

55 En un aspecto, la invención proporciona composiciones para el uso de intensificar la función cognitiva de un animal con arreglo a las reivindicaciones adjuntas. Las composiciones contienen uno o más ácidos grasos insaturados (UFA) y uno o más compuestos que liberan óxido nítrico (NORC) en una cantidad eficaz para intensificar la función cognitiva de un animal. Las composiciones contienen una o más vitaminas B, uno o más antioxidantes. La invención se basa en el descubrimiento de que las composiciones que contienen los UFA y NORC, con vitaminas B y/o antioxidantes, son eficaces para intensificar la función cognitiva de los animales. Las composiciones son útiles para influir en una o más funciones cognitivas de los animales. Las composiciones son eficaces en especial para reducir o retrasar los efectos del deterioro cognitivo asociado con la enfermedad tanto en humanos como en animales de compañía y en especial perros y gatos. Las composiciones son útiles también para intensificar la función cognitiva cuando el deterioro cognitivo viene provocado por alteraciones de la función cerebral, en especial el envejecimiento del cerebro o la lesión debida a una enfermedad, en especial debida a la apoplejía.

El UFA puede ser cualquier UFA adecuado para la administración a un animal. Los UFA pueden obtenerse a partir de cualquier fuente apropiada, sintética o natural. Las fuentes de UFA preferidas son las fuentes naturales, por ejemplo los ácidos grasos y incluyen, sin limitación, la primula (primavera); los vegetales de color verde oscuro, por ejemplo las espinacas; las algas y las algas de color verde azulado, por ejemplo la espirulina; la semillas y aceites de plantas, por ejemplo el lino, la colza canadiense (canola), la soja, la nuez, la calabaza, el cártamo, el sésamo, el trigo germinado, el girasol, el maíz y el cáñamo; el pescado, por ejemplo el salmón, el atún, la caballa, el arenque, la lubina, la lubina rayada, el mero, el barbo (catfish), las sardinias, el tiburón, el camarón (gamba) y las almejas; y los aceites extraídos de cualquiera o de varios de los anteriores. Los UFA pueden ser también sintéticos y como tales producirse con arreglo a cualquier método ya conocido de la técnica partiendo de cualquier materia prima apropiada. Los UFA puede estar formados por una mezcla de varios UFA de una o de varias fuentes, por ejemplo las recién mencionadas, tanto naturales como sintéticas. En las formas preferidas de ejecución, los UFA son poliácidos grasos insaturados de cadena larga (LCPUFA), que contienen uno o más ácidos monocarboxílicos que presentan por lo menos 20 átomos de carbono y por lo menos dos dobles enlaces. Con preferencia, los UFA son ácidos grasos (n-6) o ácidos grasos (n-3), con preferencia especial son LCPUFA n-3.

Los NORC pueden ser cualquier NORC adecuado para la administración a un animal. Los NORC pueden obtenerse de cualquier fuente apropiada, sintética o natural. En varias formas de ejecución, el NORC contiene arginina. Las fuentes de arginina actualmente preferidas incluyen, sin limitación, a las proteínas animales y vegetales. Los ejemplos de plantas consideradas ricas en contenido de arginina y adecuadas para el uso presente incluyen, pero no se limitan a: legumbres, tales como la soja, los altramuces y algarrobas; los cereales, por ejemplo el trigo y el arroz; y las frutas, por ejemplo las uvas. Las semillas y nueces de plantas, por ejemplo el cacao y el cacahuete, se consideran también ricas en contenido de arginina y, por ello, son útiles para la presente. Algunos ejemplos de proteínas animales adecuadas, consideradas ricas en contenido de arginina son los productos aviares y de pescado. Los NORC pueden producirse también por métodos sintéticos adecuados, ya conocidos en la técnica. Al igual que los UFA, el contenido de NORC en cualquier composición aquí descrita puede incluir una mezcla de varios NORC naturales o sintéticos. Tanto los UFA como los NORC, tanto naturales como sintéticos, pueden obtenerse directamente o comprarse a un suministrador industrial.

Las composiciones contienen una o más vitaminas B, uno o más antioxidantes o combinaciones de los mismos. Las vitaminas B pueden ser cualquier vitamina B adecuada para la administración a un animal. Las vitaminas B incluyen a las vitaminas B1 (tiamina), B2 (riboflavina), B3 (aka P o PP) (niacina, incluidos el ácido nicotínico y/o la nicotinamida), B5 (ácido pantoténico), B6 (piridoxina), B7 (aka H) (biotina), B8 (mioinositol), B9 (aka M o B-c) (ácido fólico), B12 (cobalamina) o sales, conjugados o derivados de los mismos, en los que se ha encontrado y reconocido que tiene actividad de vitamina B. Son también útiles para la presente las combinaciones de cualesquiera de los anteriores y que algunas veces se denominarán "mezclas" de vitaminas B. Dado que los requisitos de vitaminas pueden variar en función de las especies, no todos los compuestos enumerados pueden considerarse vitaminas apropiadas para todas las especies. Por ejemplo, dado que ya se sabe que el mioinositol puede sintetizarse en los humanos, ya no se considera que sea una vitamina, por lo que no se requiere para una nutrición humana adecuada.

Los antioxidantes contienen astaxantina. Los antioxidantes pueden ser cualquier antioxidante adecuado para la administración a un animal. Los antioxidantes son bien conocidos en la técnica, en especial en la tecnología alimentaria y en la formulación de alimentos. Los compuestos antioxidantes naturales incluyen a las vitaminas (por ejemplo A, C y E y derivados, conjugados o análogos de las mismas), así como los extractos vegetales, incluidos los extractos de frutas, verduras, hierbas, semillas y otros tipos y/o partes de plantas. Se sabe que son excelentes antioxidantes los compuestos de tipo ácido  $\alpha$ -lipoico, la clorofila y los derivados de los mismos, la glutatona, los ubiquinoles (p. ej. la coenzima Q10), los carotenoides (p. ej. el licopeno), los flavonoides, los ácidos fenólicos y los polifenoles y el picnogenol. Algunos ejemplos de fuentes vegetales de antioxidantes incluyen los de frutas, por ejemplo frutas de baya (cereza, zarzamora, fresa, frambuesa, arándano rojo, arándano, arándano silvestre, grosella negra), granada, uva, naranja, ciruela, piña, kiwi y pomelo; los de las verduras, incluidos la berza (col rizada), la guindilla, col roja, pimientos, perejil, alcachofa, col de Bruselas, espinacas, limón, jengibre, ajo y remolacha roja; los de las frutas secas, por ejemplo albaricoques, ciruelas y dátiles; los de las legumbres, incluidas las alubias gordas, las alubias pintas y la soja. También las nueces y semillas, tales como la nuez pacana, las nueces, avellanas, los cacahuetes, las chufas y las semillas de girasol; los cereales de tipo cebada, mijo, avena y maíz. Se dispone de muchos antioxidantes naturales procedentes de una gran variedad de especias, incluidos el clavo, la canela, el romero y el orégano. Las fuentes menos conocidas de antioxidantes incluyen al *Ginkgo biloba* y las plantas tropicales, por ejemplo el uyaku y la papaya (*Carica papaya*). En los últimos años han sido objeto de un gran interés las propiedades antioxidantes de varios tipos de té y del té verde, así como los productos fermentados, por ejemplo el vino tinto y como tales son idóneos para el uso en la presente. El selenio es un excelente destructor (scavenger) de oxígeno y funciona bien, en especial con vitaminas o compuestos afines de tocoferol. Los antioxidantes dietéticos sintéticos incluyen al hidroxianisol butilado (BHA) y el hidroxitolueno butilado (BHT), que se emplean habitualmente en los productos alimentarios. Cualquiera de los recién nombrados, solo o en combinación, es adecuado para el uso en la presente así como las combinaciones de antioxidantes naturales y sintéticos. En una forma de ejecución, los antioxidantes contienen la astaxantina sola o en combinación con otros antioxidantes.

Las composiciones contienen los UFA y NORC y vitaminas B y antioxidantes en una cantidad eficaz para intensificar la función cognitiva. En general, las composiciones contienen del 0,1 % al 50 % de UFA y del 0,1 % al 20 % de

- 5 NORC; de 0,1 a 40 veces el requisito diario recomendado (RDA) de vitaminas B y del 0,0001 % al 25 % de antioxidantes. En varias formas de ejecución, las composiciones contienen del 1 al 30 % de UFA, con preferencia del 1 al 15 % de UFA; y del 1 al 15 % de NORC, con preferencia del 1 al 10 % de NORC. En varias formas de ejecución, las vitaminas B están presentes de 1 a 20 veces el RDA, con preferencia de 1 a 10 veces el RDA y los antioxidantes están presentes en una cantidad del 0,0001 % al 15 %, con preferencia del 0,001 % al 5 %, con preferencia especial del 0,001 % al 2 %. En una forma de ejecución, las composiciones contienen los UFA, NORC y una mezcla de una o más vitaminas B y uno o más antioxidantes en dichas cantidades. En una forma de ejecución, la composición contiene de 0,5 g a 10 g de UFA y de 0,5 g a 10 g de NORC, con o sin el RDA para las vitaminas B y antioxidantes.
- 10 Las composiciones pueden contener además sustancias del tipo minerales, otras vitaminas, sales, aditivos funcionales que incluyen, por ejemplo, saborizantes, colorantes, emulsionantes, agentes antimicrobianas y otros conservantes. Los minerales que pueden ser útiles en tales composiciones incluyen, por ejemplo, al calcio, fósforo, potasio, sodio, hierro, cloruro, boro, cobre, cinc, magnesio, manganeso, yodo, selenio y similares. Los ejemplos de vitaminas adicionales útiles para la presente solicitud incluyen las vitaminas solubles en grasas, por ejemplo las A, D, E y K. La inulina, aminoácidos, enzimas, coenzimas y similares pueden ser útiles para incluirse en varias formas de ejecución.
- 15 Las composiciones pueden ser composiciones alimentarias, incluidas las composiciones alimentarias para seres humanos y para animales de compañía. Tales composiciones contienen alimentos destinados a suministrar los requisitos dietéticos necesarios para un animal, las chucherías para animales (p. ej. galletas) o suplementos dietéticos. Las composiciones pueden presentarse en forma de composición seca (p. ej. galleta desmenuzada), composición semihúmeda, composición húmeda o cualquier mezcla de las mismas. En otra forma de ejecución, la composición es un suplemento dietético del tipo salsa de carne, agua de beber, bebida, yogurt, polvo, granulado, pasta, suspensión, masa masticable, bocado o porción pequeña, bocado delicioso, tentempié, gránulo o perdigón, píldora, cápsula, tableta o cualquier otra forma adecuada de presentación. El suplemento dietético puede contener una concentración elevada de los UFA y NORC y opcionalmente vitaminas B y antioxidantes. Esto permite administrar el suplemento al animal en cantidades pequeñas o, como alternativa, puede diluirse antes de la administración al animal. El suplemento dietético puede requerir un mezclado o, con preferencia, el mezclado con agua o con otro diluyentes antes de la administración al animal.
- 20 Las composiciones pueden ser composiciones refrigeradas o congeladas. En otra forma de ejecución, los UFA y NORC se mezclan previamente con los demás componentes para proporcionar las cantidades beneficiosas que se necesitan. En otras formas de ejecución adicionales, los UFA y NORC se emplean para revestir el alimento, bocado o porción pequeña, la composición de pienso para el animal de compañía o el bocado delicioso para el animal de compañía. En una forma de ejecución, los UFA y NORC se añaden a la composición inmediatamente antes de ofrecer al animal, p. ej. empleando un polvo rociado o una mezcla. Tales composiciones pueden contener además vitaminas B y/o antioxidantes.
- 25 Las composiciones pueden contener opcionalmente una o más sustancias suplementarias para favorecer o sostener la salud general. Las sustancias preferidas pueden asociarse con una salud mental mejorada o con una función cognitiva intensificada o pueden ser sustancias que inhiban, retrasen o reduzcan la pérdida de la función cognitiva, p. ej. hierbas o plantas que intensifiquen la función cognitiva.
- 30 Las composiciones pueden ser composiciones alimentarias para animales de compañía o bocados deliciosos para animales de compañía que contengan aprox. del 15 % al 50 % de proteína en bruto. El material de la proteína en bruto puede estar formado por proteínas vegetales, por ejemplo harina de soja, concentrado de proteínas de soja, harina de gluten de maíz, gluten de trigo, semilla de algodón y harina de cacahuete o proteínas animales, tales como la caseína, la albúmina y las proteínas de la carne. Los ejemplos de proteínas de la carne útiles para esta invención incluyen al cerdo, cordero, caballo, pollo, pescado y mezclas de los mismos.
- 35 Las composiciones pueden contener además aprox. del 5 % al 40 % de grasas. Las composiciones pueden contener además una fuente de hidratos de carbono. Las composiciones pueden contener aprox. del 15 % al 60 % de hidratos de carbono. Los ejemplos de tales hidratos de carbonos incluyen a los cereales tales como el arroz, el maíz, el mijo, el sorgo, la alfalfa, la cebada, la soja, la colza canadiense (canola), la avena, el trigo y las mezclas de los mismos. Las composiciones pueden contener además opcionalmente otros materiales, como son suero desecado y otros subproductos lácteos.
- 40 El contenido de la composición puede situarse desde menos del 1 % al 15 %, con preferencia del 5 % al 10 %.
- 45 El contenido de humedad puede variar en función de la naturaleza de la composición. En una forma preferida de ejecución, la composición es un pienso completo para animal de compañía, equilibrado nutritivamente. En esta forma de ejecución, el pienso puede ser un "pienso húmedo", un "pienso seco" o un pienso con un contenido intermedio de humedad. "Pienso húmedo" indica un pienso para animales que se suministra normalmente en latas o en bolsas de láminas y tiene un contenido de humedad situado normalmente entre el 70 % y el 90 %. El "pienso seco" indica un pienso para animales de compañía que tiene una composición similar al pienso húmedo, pero
- 50
- 55
- 60
- 65

- 5 contiene una cantidad limitada de humedad, situada normalmente entre el 5 % y el 15 % o el 20 % y, por ello, se presenta, por ejemplo, en forma de galletas desmenuzadas de tipo biscuit. En otra forma de ejecución actualmente preferida, las composiciones tienen un contenido de humedad del 5 % al 20 %. Los productos alimentarios secos incluyen a una gran variedad de alimentos de contenidos de humedad variables, de modo que son relativamente estables al almacenado y resistencias al deterioro microbiano o fúngico y a la contaminación. Son también preferidas las composiciones alimentarias secas que se presentan en forma de productos alimentarios extruidos, por ejemplo los piensos para animales de compañía o los alimentos de tipo tentempié (snack) tanto para humanos como para animales de compañía.
- 10 Las composiciones pueden contener además una o más fuentes de fibras. El término “fibra” incluye todas las fuentes de material voluminoso o relleno (bulk) del alimento, tanto los materiales digeribles como los no digeribles, solubles o insolubles, fermentables o no fermentables. Las fibras preferidas proceden de fuentes vegetales, por ejemplo de plantas marinas, pero pueden emplearse también fuentes microbianas. Puede utilizarse una gran variedad de fibras solubles e insolubles, como ya saben los expertos. La fuente de fibras puede ser la pulpa de remolacha (dulce), la
- 15 goma arábica, la goma talha, psilio (pulguera, zaragatona), judía de grano de arroz, goma de algarrobas, pulpa de cítricos, fructooligosacáridos, pectina, oligofructosa de cadena corta, mananoligofructosa, fibras de soja, arabinogalactano, galactooligosacáridos, arabinoxilano o mezclas de los mismos.
- 20 Como alternativa, la fuente de fibras puede ser una fibra fermentable. Se ha descrito previamente que las fibras fermentables proporcionan beneficios al sistema inmune de los animales de compañía. Las fibras fermentables u otras composiciones conocidas de los expertos proporcionan un prebiótico que intensifica el crecimiento de los probióticos dentro del intestino y pueden incorporarse también a la composición para ayudar la intensificación de los beneficios que aporta la presente invención al sistema inmune de un animal.
- 25 Las composiciones pueden contener además prebióticos, probióticos o una combinación de los mismos. Los probióticos son microorganismos vivos que, cuando se ingieren, tienen un efecto beneficioso en la prevención y tratamiento de estados patológicos específicos. Se cree que los probióticos ejercen sus efectos biológicos gracias al fenómeno conocido como resistencia a la colonización. Los probióticos facilitan un proceso, en el que la flora anaeróbica indígena limita la concentración de las bacterias potencialmente nocivas (en su mayor parte aeróbicas)
- 30 del tracto digestivo. Otros modos de acción, por ejemplo la entrega de enzimas o el influjo en la actividad enzimática dentro del tracto gastrointestinal, pueden tomarse también en consideración para algunas de las funciones restantes que se han atribuido a los probióticos. Los prebióticos son ingredientes alimentarios no digeribles, que afectan de modo beneficioso la salud del hospedante estimulando de modo selectivo el crecimiento y/o la actividad de las bacterias del colon. Los prebióticos incluyen a los fructooligosacáridos (FOS), xilooligosacáridos (XOS), galactooligosacáridos (GOS) y manooligosacáridos (normalmente para alimentos no humanos, por ejemplo los piensos para animales de compañía). El prebiótico fructooligosacárido (FOS) está presente de forma natural en muchos alimentos, por ejemplo el trigo, las cebollas, los plátanos, la miel, el ajo y el puerro. Los FOS pueden aislarse también a partir de raíces de achicoria o sintetizarse por acción enzimática a partir de la sucrosa. La fermentación del FOS en el colon produce un gran número de efectos fisiológicos, incluido el aumento del número
- 40 de las bifidobacterias del colon, el aumento de la absorción del calcio, el aumento del peso fecal, la disminución del tiempo de tránsito gastrointestinal y posiblemente la reducción de los niveles de lípidos en la sangre. El aumento de las bifidobacterias se supone que beneficia la salud humana, produciendo compuestos que inhiben a los potenciales patógenos, reduciendo los niveles de amoníaco en la sangre y produciendo vitaminas y enzimas digestivas. Se cree que las bacterias probióticas, como son los lactobacilos o las bifidobacterias influyen positivamente en la respuesta inmune mejorando el equilibrio microbiano en intestino que conduce a una intensificación de la producción de anticuerpos y de la actividad fagocítica de los leucocitos de la sangre (devorando o matando). El *Bifidobacterium lactis* podría ser un suplemento dietético probiótico eficaz para intensificar algunos aspectos de la inmunidad celular en las personas mayores. Los probióticos mejoran las respuestas del sistema inmune celular y podrían ser útiles como suplemento dietético para desencadenar la inmunidad natural en los adultos que por lo demás están sanos.
- 50 Los probióticos incluyen muchos tipos de bacterias pero en general se eligen entre cuatro géneros de bacterias: el *Lactobacillus acidophilus*, las bifidobacterias, el *Lactococcus* y el *Pediococcus*. Las especies beneficiosas incluyen al *Enterococcus* y *Saccharomyces*. Los expertos pueden determinar la cantidad de probióticos y prebióticos a administrar al animal basándose en el tipo y la naturaleza del prebiótico y probiótico y el tipo y la naturaleza del animal, p. ej. la edad, el peso, el estado general de salud, el sexo, el grado de agotamiento microbiano, la presencia de bacterias nocivas y la dieta del animal. En general, los probióticos se administran al animal en cantidades comprendidas entre una y veinte billones de unidades formadoras de colonias (CFU) al día para mantener sana la microflora intestinal, con preferencia entre 5 billones y 10 billones de bacterias vivas al día. En general, los prebióticos se administran en cantidades suficientes para estimular positivamente la microflora sana del intestino y provocar la reproducción de estas bacterias “buenas”. Las cantidades típicas se sitúan entre uno y 10 gramos por
- 60 servicio o del 5 % al 40 % de la fibra dietética diaria recomendada para el animal. Los probióticos y prebióticos pueden formar parte de la composición por cualquier medio apropiado. En general, los agentes se mezclan con la composición o se aplican a la superficie de la composición, p. ej. por rociado o por pulverización. Cuando los agentes forman parte de un kit, entonces podrán mezclarse con otros materiales o presentarse dentro de su propio envase.
- 65

Las composiciones y los suplementos dietéticos pueden formularse de modo especial en función de los receptores o consumidores pretendidos, por ejemplo animales adultos o animales de mayor edad o más jóvenes. Se puede preparar por ejemplo una composición adaptada a los cachorros o a los gatitos o adaptada a animales activos, preñados, lactantes o en fase de envejecimiento. En general, las composiciones especializadas contendrán los requisitos energéticos y nutritivos apropiados para los animales que se hallan en diferentes estadios de desarrollo o de edad.

Ciertos aspectos de la invención se emplean con preferencia en combinación con un alimento completo y equilibrado. Según ciertas formas de ejecución aportados en la presente, las composiciones que contienen los UFA y NORC, se emplean con preferencia en un alimento comercial de alta calidad. Tal como se emplea aquí, el "alimento comercial de alta calidad" indica una dieta fabricada para producir la digestibilidad de los nutrientes clave del orden del 80 % o más, tal como se establece, por ejemplo, en las recomendaciones del National Research Council acerca de los perros o en las directrices establecidas por la Association of American Feed Control Officials. Otros estándares muy nutritivos similares podrían emplearse para otros animales.

Las composiciones alimentarias pueden contener cualquiera de una gran variedad de ingredientes o combinaciones de los mismos elegidos en función de sus contribuciones a la composición global. Por tanto, un experto en alimentación podrá elegir entre ingredientes o componentes naturales (p. ej. plantas o derivados vegetales, animales o derivados de animales y microbios o derivados de microbios) y sintéticos. En las formas de ejecución particulares, los ingredientes pueden incluir cualquiera de los granos de cereales y/o fracciones o componentes de los mismos, la carne y los subproductos cárnicos, el pescado, los crustáceos u otros alimentos marinos, otros productos o subproductos animales, los huevos de cualquier procedencia, las vitaminas, los minerales, las sales, los edulcorantes, las fibras, los aromas y otros saborizantes, los colorantes y los ingredientes funcionales, por ejemplo emulsionantes, estabilizantes, suavizantes, revestimientos funcionales y similares. Los cereales útiles para la invención incluyen a todas las plantas reconocidas como cosechas de "cereal", tanto las que actualmente se emplean para la agricultura productiva como las que se conocen meramente en sentido práctico o botánico como "cereales". Por ejemplo, los "cereales" incluyen al maíz, trigo, arroz, cebada, sorgo, mijo, avena, centeno, el trigo de la variedad "triticale", el trigo sarraceno (alforfón), el fonio (digitaria) y la quinua. Los expertos podrán apreciar que en una composición determinada no es raro emplear uno o más de tales productos cereales. Las carnes útiles para la invención incluyen a los productos de cualquier animal, con preferencia del tejido muscular, por ejemplo de pollo y otras aves, cordero, oveja, ternera, buey o cerdo. Otros productos y subproductos animales útiles para la invención incluyen a los productos y subproductos lácteos derivados de la leche de cualquier especie. Otros componentes e ingredientes importantes incluyen a las grasas y los expertos podrán apreciar que se dispone de muchas fuentes de grasas vegetales, animales o microbianas para formular las composiciones alimentarias. En una forma de ejecución, la fuente de las grasas es la grasa vegetal, por ejemplo del maíz, soja o el aceite de soja canadiense (canola), con preferencia la que sea más fácilmente accesible. En otra forma de ejecución se empleará una grasa animal, por ejemplo el sebo, para aportar las calorías de la grasa así como aroma atractivo para los animales que devoran carne. Obviamente, en la técnica se conocen combinaciones de cualesquiera de los ingredientes anteriores, por ejemplo grasas y son útiles para optimizar las composiciones alimentarias en base a sus propiedades funcionales y también en base a su precio y disponibilidad.

Los expertos podrán apreciar además que cuando se formulan composiciones alimentarias de la invención, la formulación podrá variar ligeramente dentro del alcance de las reivindicaciones de modo que permiten al formulador tomar en consideración el precio y/o la disponibilidad de ciertos ingredientes de las composiciones, así como la variación de lote en lote que pueda sufrir el análisis de ciertos ingredientes. Por consiguiente, una composición o formulación alimentaria determinada puede variar ligeramente de un lote al siguiente, de una planta a otra planta, o incluso de una temporada a la siguiente, en función de tales factores. A pesar de dicha variación de los ingredientes específicos elegidos para fabricar un lote particular de una composición alimentaria, la composición en su conjunto (por ejemplo, el análisis de las proteínas, hidratos de carbono, grasas, fibras y otros componentes) puede mantenerse constante o por lo menos sustancialmente constante, por ejemplo, con arreglo a la reivindicación de la etiqueta, por ejemplo la reivindicación o la garantía de un porcentaje mínimo o máximo de un componente concreto.

Las composiciones de la invención pueden contener los UFA y NORC, vitaminas B y antioxidantes en una cantidad eficaz para uno o más de los fines siguientes: reducir o prevenir la disminución de la interacción social, reducir o prevenir los cambios de conducta asociados con la edad, aumentar la capacidad de entreno, mantener la función cerebral óptima, facilitar el aprendizaje y la memoria, reducir la pérdida de memoria, retrasar el envejecimiento del cerebro, prevenir o tratar la apoplejía, prevenir o tratar la demencia y mantener la claridad mental y la alerta (vigilancia) de un animal.

Los expertos comprenderán el método para determinar la cantidad apropiada de los UFA, NORC, vitaminas B, antioxidantes y de cualquier otro ingrediente que se quiera añadir a una composición dada. El formulador experto puede considerar importante la especie del animal, su edad, tamaño, peso, estado de salud y similares para determinar el mejor método para formular una composición concreta, un alimento o una composición farmacéutica que contenga los UFA, NORC y otros componentes. Otros factores que pueden tomarse en consideración para la formulación incluyen el tipo de composición (p. ej. composición de pienso para animal de compañía frente a un suplemento dietético), la dosis deseada de cada componente (UFA, NORC), el consumo promedio de los tipos

- específicos de composiciones por parte de los diferentes animales (p. ej. en base a la especie, peso corporal, actividad/demanda energética y similares) y las condiciones de fabricación, en las que se prepara la composición en cuestión. Las concentraciones de UFA y NORC a añadir a la composición se calculan con preferencia en base a los requisitos de energía y nutrición del animal. Cuando se formulan las composiciones de la presente invención, los expertos podrán determinar las cantidades de los UFA, NORC y otros componentes de las composiciones y de otros compuestos o ingredientes por ejemplo de una composición alimentaria en base a las dosis deseadas y de las características del animal.
- Para los piensos para animales de compañía y productos alimentarios formulados para el consumo humano, la cantidad de los UFA en porcentaje de la composición se situará con preferencia dentro del intervalo del 0,1 % al 13 % de la composición, aunque puede suministrarse también un porcentaje mayor. En varias formas de ejecución, la cantidad de los UFA es del 0,1 %, 0,2 %, 0,3 %, 0,4 %, 0,5 %, 0,6 %, 0,7 %, 0,8 %, 0,9 %, 1,0 %, 1,1 %, 1,2 %, 1,3 %, 1,4 %, 1,5 %, 1,6 %, 1,7 %, 1,8 %, 1,9 %, 2,0 %, 2,1 %, 2,2 %, 2,3 %, 2,4 %, 2,5 %, 2,6 %, 2,7 %, 2,8 %, 2,9 %, 3,0 %, 3,1 %, 3,2 %, 3,3 %, 3,4 %, 3,5 %, 3,6 %, 3,7 %, 3,8 %, 3,9 %, 4,0 %, 4,1 %, 4,2 %, 4,3 %, 4,4 %, 4,5 %, 4,6 %, 4,7 %, 4,8 %, 4,9 %, 5,0 %, o más, p. ej. del 6 %, 7 %, 8 %, 9 %, 10 %, 11 %, 12 %, 13 %, 14 %, 15 %, 16 %, 17 %, 18 %, 19 %, 20 % o más, de la composición. En ciertas formas de ejecución pueden emplearse hasta el 30, 40 ó 50 % de UFA.
- Para los piensos para animales de compañía y productos alimentarios formulados para el consumo humano, la cantidad de los NORC en porcentaje de la composición se situará con preferencia dentro del intervalo del 0,1 % al 12 % de la composición, aunque puede suministrarse también un porcentaje mayor. En varias formas de ejecución, la cantidad de los NORC es del 0,1 %, 0,2 %, 0,3 %, 0,4 %, 0,5 %, 0,6 %, 0,7 %, 0,8 %, 0,9 %, 1,0 %, 1,1 %, 1,2 %, 1,3 %, 1,4 %, 1,5 %, 1,6 %, 1,7 %, 1,8 %, 1,9 %, 2,0 %, 2,1 %, 2,2 %, 2,3 %, 2,4 %, 2,5 %, 2,6 %, 2,7 %, 2,8 %, 2,9 %, 3,0 %, 3,1 %, 3,2 %, 3,3 %, 3,4 %, 3,5 %, 3,6 %, 3,7 %, 3,8 %, 3,9 %, 4,0 %, 4,1 %, 4,2 %, 4,3 %, 4,4 %, 4,5 %, 4,6 %, 4,7 %, 4,8 %, 4,9 %, 5,0 %, o más, p. ej. del 6 %, 7 %, 8 %, 9 %, 10 %, 11 %, 12 % o más, hasta aprox. del 15 % o incluso del 20 % de la composición. En las formas de ejecución específicas se emplea del 2 al 2,5 % de UFA y del 2 al 2,5 % de NORC. En tales formas de ejecución, la L-arginina pura es un compuesto NORC preferida. Los suplementos dietéticos pueden formularse para que contengan concentraciones varias veces superiores de los UFA y NORC, para hacerlas adecuadas para la administración a un animal en forma de tabletas, cápsulas, concentrados líquidos, emulsiones, suspensiones, geles u otras formas de dosificación, o para diluirse antes de la administración, por ejemplo por dilución en agua o para añadirse a un pienso para animal de compañía (por ejemplo por pulverización o rociado sobre el mismo) y otros de administración apropiados para tales suplementos dietéticos.
- Como alternativa, la cantidad de los UFA y NORC en la composición es una función de la cantidad requerida para alcanzar las concentraciones especificadas o un intervalo deseado de las concentraciones de UFA y/o NORC, o un metabolito de los mismos, en el suero de la sangre del animal. Las concentraciones especificadas o los intervalos deseados de los UFA y/o NORC en el suero de la sangre pueden calcularse determinando los niveles en el suero de la sangre de los animales, a los que se han administrado las cantidades recomendadas de los UFA y NORC ya especificadas antes, como podrán apreciar los expertos.
- Las composiciones alimentarias pueden contener una composición de macronutriente, apropiada para el tipo de alimento a diseñar. En un aspecto, la composición alimentaria tiene del 20 al 32 % de proteínas, del 30 al 50 % de hidratos de carbono, del 5 % al 20 % de grasas y del 15 % al 25 % de humedad. En otro aspecto, la composición alimentaria es una composición alimentaria para animal de compañía, una composición alimentaria de tipo calidad superior o "premium" o "super-premium" para animal de compañía. En una forma de ejecución, el pienso para animal de compañía se formula para perros y tiene un contenido de proteínas aprox. del 20 al 30 %, con preferencia del 24 al 28 % y con mayor preferencia del 25 al 27 %. En un aspecto, el contenido de proteínas de una composición de pienso para perros se sitúa aprox. en el 26 % en peso. En otro aspecto, la formulación se destina a felinos y tiene un contenido de proteínas aprox. del 35 al 45 %, con preferencia del 37 al 42 % y con mayor preferencia del 39 al 41 %.
- En un aspecto, el contenido de proteínas de una composición de pienso para gatos se sitúa aprox. en el 40 %. En un aspecto preferido, la composición es un producto alimentario que contiene los UFA y NORC y que contiene además del 15 % al 50 % de proteínas, del 5 % al 40 % de grasas, con un contenido de cenizas del 5 % al 10 % y que tiene un contenido de humedad aprox. del 5 % al 20 %.
- La composición alimentaria puede ser un alimento húmedo, por ejemplo un alimento enlatado, un alimento congelado o un producto alimentario fresco. En un aspecto, la composición alimentaria es estable al almacenado. En otro aspecto, tiene que refrigerarse. En otros aspectos, la composición alimentaria es un producto de humedad intermedia o un producto alimentario seco, del tipo antes descrito.
- En una forma preferida de ejecución, los UFA son de un aceite de pescado y el NORC es la arginina o un derivado de la misma que libera óxido nítrico. En ciertas formas de ejecución, las composiciones contienen del 0,1 % al 50 % de aceite de pescado y del 0,1 % al 20 % de arginina. En las formas preferidas de ejecución, tanto los UFA y como los NORC se sitúan dentro de los intervalos preferidos aquí mencionados, cuando la composición es un producto alimentario. Dichos intervalos ofrecen una mejor palatabilidad y unas propiedades funcionales que potenciarán la aceptación del producto alimentario.

- 5 En varias formas de ejecución, la composición es una composición alimentaria para humanos, una composición alimentaria para animales de compañía o un suplemento dietético. La composición que es un suplemento dietético puede contener concentraciones o cantidades muy diferentes de los UFA y NORC a las que contiene un producto alimentario o un pienso para animales. En general, la palatabilidad y factores sensoriales similares no se consideran importantes para determinados suplementos dietéticos, p. ej. los que se tragan.
- 10 En una forma de ejecución, el UFA contiene uno o más de los ácidos grasos de un aceite de pescado natural, ALA, EPA, DPA, DHA, u otro ácido grado n-3 de cualquier fuente. Obviamente, aquí se contempla también el uso de combinaciones de fuentes de UFA. Los UFA con n-3 o n-6 se contemplan también para el uso en varias formas de ejecución.
- 15 Con preferencia, la composición se formula para un animal de compañía, p. ej. un perro o un gato. En otras formas de ejecución, el animal es un ser humano, con o sin disminución cognitiva asociada con la edad.
- 20 En una forma de ejecución, la composición se formula para proporcionar de 0,5 g a 10 g no solo de los UFA sino también de los NORC al día, en una o más porciones de un tamaño de servicio recomendado. Por ejemplo, si la composición se destina al consumo dos veces al día, se puede proporcionar una dosis de 10 g para formular la composición de manera que cada porción recomendada (p. ej. 2 cucharadas o una porción de 20 g, o similares) para aportar 5 g tanto de UFA como de NORC.
- 25 En una forma preferida de ejecución, las composiciones contienen del 0,1 % al 50 % de aceite de pescado; y del 0,1 % al 20 % de arginina. Las composiciones contienen además de 0,1 a 40 veces el requisito diario recomendado de vitaminas B, del 0,0001 % al 25 % de antioxidantes. En una forma de ejecución, la composición empleada para los métodos contiene de 0,5 g a 10 g de UFA y de 0,5 g a 10 g de NORC, con vitaminas B y antioxidantes.
- 30 En otro aspecto, las composiciones contienen también uno o más fármacos cognitivos en una cantidad eficaz para intensificar la función cognitiva. Los expertos pueden determinar la cantidad de fármaco cognitivo a añadir a la composición en base a la dosis recomendada para el fármaco establecida por su fabricante o en función del peso del animal, su especie, edad, estado general de salud y similares.
- 35 Se describen también composiciones farmacéuticas que contienen una composición de la presente invención y uno o más vehículos, diluyentes o excipientes farmacéuticamente aceptables. En general, las composiciones farmacéuticas se fabrican mezclando un compuesto o composición con excipientes, tampones, ligantes, plastificantes, colorantes, diluyentes, agentes de compresión, lubricantes, saborizantes (aromas), agentes humectantes y similares, incluidos los ingredientes adicionales, que los expertos ya conocen y que son útiles para la producción de productos farmacéuticos y para formular composiciones idóneas para la administración a un animal en calidad de productos farmacéuticos. Opcionalmente, las composiciones farmacéuticas pueden contener además uno o ambos de los siguientes: una vitamina B y un antioxidante.
- 40 Se describen además métodos para intensificar la función cognitiva de un animal. Los métodos consisten en general en administrar al animal una composición que contenga uno o más ácidos grasos insaturados (UFA) y uno o más compuestos que liberan óxido nítrico (NORC) en una cantidad eficaz para intensificar la función cognitiva de dicho animal. Estas composiciones contienen una o más vitaminas B y uno o más antioxidantes.
- 45 Los UFA, los NORC, las vitaminas B y los antioxidantes pueden administrarse al animal en cantidades aquí indicadas en el momento de describir las composiciones. Por ejemplo en una cantidad eficaz para aumentar una o más funciones cognitivas, motoras o de conducta de los animales, incluidos los animales de todas las edades y los animales que son susceptibles de tener o de sufrir una merma de su función cognitiva debido a un proceso de envejecimiento o a una enfermedad. En otra forma de ejecución, la composición se administra en una cantidad eficaz para prevenir, reducir o retrasar la disminución de una función cognitiva en animales, en especial los animales en fase de envejecimiento, susceptibles de tener o de sufrir una merma de su función cognitiva debida a un proceso de envejecimiento o a una enfermedad. En ciertas formas de ejecución, la dosis diaria de las composiciones se sitúa entre 5 mg/día y 5.000 mg/día, 10.000 mg/día o 20.000 o más por animal. Con preferencia, la dosis diaria se sitúa entre 30 mg/día y 10.000 mg/día por animal y con mayor preferencia entre 750 mg/día y 7.500 mg/día por animal. La dosis diaria de UFA y NORC puede medirse en términos de gramos de UFA y NORC por kg de peso corporal (BW) del animal. La dosis diaria de UFA y NORC se situará por tanto entre 0,001 g/kg y 50 g/kg de peso corporal del animal, aunque pueden administrarse también dosis mayor o menores. La dosis diaria de UFA y NORC se situará con preferencia entre 0,001 g/kg y 25 g/kg de peso corporal del animal. Con mayor preferencia, la dosis diaria de UFA y NORC se situará entre 0,001 g/kg y 10 g/kg de peso corporal del animal. Con mayor preferencia, la dosis diaria de UFA y NORC se sitúa entre 0,001 g/kg y 5 g/kg del peso corporal del animal. Con mayor preferencia, la dosis diaria de UFA y NORC se situará entre 0,001 g/kg y 1 g/kg del peso corporal del animal. Con mayor preferencia, la dosis diaria de UFA y NORC se situará aprox. entre 0,001 g/kg y 0,5 g/kg del peso corporal del animal.
- 60 En otro aspecto, la invención proporciona el uso de las composiciones de la invención para intensificar la función cognitiva de un animal. Los métodos consisten en general en administrar a un animal una composición que
- 65

contengan uno o más ácidos grasos insaturados (UFA) y uno o más suplementos que pueden metabolizarse para producir compuestos que liberan óxido nítrico (NORC) al animal en una cantidad eficaz para intensificar la función cognitiva en dicho animal. Las composiciones contienen también una o más vitaminas B y uno o más antioxidantes. Los suplementos pueden convertirse en los NORC por procesos metabólicos de los animales y los NORC intervienen en la intensificación de la función cognitiva del modo aquí descrito. En las formas preferidas de ejecución, los suplementos son la citrulina o la citrulina y ornitina. Los suplementos pueden administrarse en cualquier cantidad suficiente para obtener las cantidades de NORC aquí requeridas después del metabolismo. Normalmente, los suplementos se administran en una composición que contiene los UFA y suplementos, con preferencia aprox. del 0,1 % al 50 % de UFA y aprox. del 0,1 % al 20 % de suplemento.

Solo una porción de la arginina consumida por un individuo queda disponible para la metabolización en NO. La arginina se metaboliza en citrulina y NO por acción de la enzima sintasa de óxido nítrico (NOS). Hasta el 60 % de la arginina ingerida se metaboliza en el hígado por acción de la arginasa antes de entrar en la circulación, en la que cualquier resto de arginina podrá metabolizarse en citrulina y NO. Una fuente alternativa de arginina es la producción endógena de arginina a partir del aminoácido citrulina. Esta vía contribuye en aprox. un 20 % en la producción total de arginina en el organismo. La citrulina se produce en el intestino y entra en el torrente circulatorio sin metabolizarse en el hígado, realizándose la conversión casi completa en arginina en los riñones. La citrulina pasa por el hígado con poca o nula metabolización y se convierte en arginina en los mitocondrios. La mayoría de la citrulina en circulación se convierte en los riñones, que están formados por un tejido metabólicamente muy activo. La citrulina que se halla en circulación en el torrente sanguíneo se convierte en primer lugar en arginina y después en las células en citrulina y NO. La citrulina puede administrarse a través del tracto gastrointestinal (GI) mediante productos orales y enterales. La citrulina, en sentido endógeno, es un producto del metabolismo de la glutamina en el intestino, generada a partir de la ornitina como parte del ciclo de la urea y formada por las sintasas de óxido nítrico distribuidas en el organismo. La arginina se genera a partir de la citrulina, principalmente en los riñones, gracias a su metabolismo producido por la argininosuccinato-sintasa (EC 6.3.4.5) y la argininosuccinato-liasa (EC 4.3.2.1). Es significativo que la conversión de la citrulina en arginina se produzca de modo continuo, en el supuesto de que la citrulina se halle circulando en el torrente sanguíneo. De ello resulta que la circulación de la citrulina posibilita el mantenimiento de concentraciones elevadas de arginina a lo largo del tiempo, lo cual posibilita a su vez el mantenimiento de una liberación continua de NO en las células. Dado que el aminoácido citrulina es un compuesto previo de síntesis de la L-arginina, la citrulina puede sustituir a la L-arginina en las composiciones nutritivas. A diferencia de la arginina, la citrulina no se metaboliza en el hígado después de haber penetrado en el torrente sanguíneo por absorción a partir de la dieta o por nueva producción en el intestino. La citrulina se convierte en arginina por acción de las enzimas de los mitocondrios como parte del ciclo de la urea.

De manera similar, la ornitina es un compuesto previo de la síntesis de la L-arginina. Por consiguiente, la ornitina puede sustituir a la L-arginina en las composiciones nutritivas. A diferencia de la arginina, la ornitina no se metaboliza en el hígado después de haber entrado en el torrente sanguíneo por absorción de la dieta o por nueva producción en el intestino. La ornitina se convierte por vía enzimática en la arginina en los mitocondrios como parte del ciclo de la urea.

La administración con arreglo a esta descripción puede realizarse en base de la necesidad o en base del deseo de variar o regular la frecuencia. Un objetivo de la ingestión regular consiste en proporcionar al animal una dosis regular y consistente de la composición o de los metabolitos directos o indirectos que resultan de tal ingestión. Dicha dosis regular y consistente tenderá a crear niveles constantes de los componentes de las composiciones o de sus metabolitos directos o indirectos en la sangre. Por lo tanto, la administración regular puede tener lugar una vez al mes, una vez a la semana, una vez al día o más de una vez al día. De igual manera, la administración puede tener lugar en días, semanas o meses alternos, cada tres días, semanas o meses, cada cuatro días, semanas o meses y similares. La administración puede tener lugar múltiples veces al día. Cuando se emplea como suplemento de los requisitos dietéticos ordinarios, la composición podrá administrarse directamente al animal, p. ej. por vía oral o por otras vías. Como alternativa, las composiciones pueden ponerse en contacto con o mezclarse con el o los alimentos diarios, incluidos los líquidos, por ejemplo agua de beber, o mediante una conexión intravenosa para un animal que esté recibiendo dicho tratamiento. Si se emplea como alimento o alimentos diarios, la administración será bien conocida de los expertos.

La administración puede llevarse también a cabo como parte de un régimen dietético del animal. Por ejemplo, un régimen dietético puede consistir en producir la ingestión regular de una composición aquí descrita por parte del animal, en una cantidad eficaz para prevenir, reducir o retrasar la merma de una o más funciones cognitivas, motoras o de conducta de dicho animal.

Según esta descripción, la administración de las composiciones, incluida la administración como parte de un régimen dietético, puede abarcar un período de tiempo que se extiende desde el parto hasta la vida adulta del animal. En varias formas de ejecución, el animal es un ser humano o un animal de compañía, por ejemplo un perro o un gato. En ciertas formas de ejecución, el animal es un animal joven o en crecimiento. En las formas de ejecución más preferidas, el animal es un animal en fase de envejecimiento. Es preferido en general un animal que haya alcanzado aprox. el 35 % de su esperanza de vida. En las formas de ejecución actualmente preferidas, la administración se inicia, por ejemplo, en una base regular o regular extendida, cuando el animal ha alcanzado más

- de aprox. el 30 %, 40 % o 50 % de su esperanza de vida anticipada o proyectada. En algunas formas de ejecución, el animal ha alcanzado el 40, 45 o 50 % de su vida anticipada. En otras formas de ejecución adicionales, es animal es mayor y ha alcanzado el 60, 66, 70, 75 u 80 % de su esperanza de vida. La determinación del período de vida puede basarse en tablas estadísticas, cálculos, estimaciones o similares y puede tomar en consideración las influencias o factores pasados, presentes y futuros, de los que se sabe que pueden influir positiva o negativamente en dicha duración de la vida. La consideración de la especie, el género, el tamaño, los factores genéticos, los factores ambientales y los factores de estrés, el estado general de salud presente y pasado, el estado nutricional pasado y presente, los factores de estrés y similares que puedan incluir o puedan tomarse en consideración para determinar la duración total de la vida del animal.
- Una composición o método para intensificar la función cognitiva tiene muchos efectos en un animal. Muchas de las funciones de la vida diaria dependen de o guardan relación con la función cognitiva. Por ejemplo, la intensificación de la función cognitiva guarda relación con la prevención de la disminución de la interacción social, con la reducción o la prevención los cambios de conducta asociados con la edad, con el aumento de la capacidad de entreno, con el mantenimiento de la función cerebral óptima, con facilitar el aprendizaje y la memoria, con la reducción de la pérdida de memoria, con el retraso del envejecimiento cerebral, con la prevención o el tratamiento de la apoplejía y con la prevención o el tratamiento de la demencia de un animal. De igual manera, la intensificación de la función cognitiva fomenta el estado general de salud y el bienestar del animal. Además, la intensificación de la función cognitiva es integral para prolongar la juventud de un animal. Por lo tanto, la intensificación de la función cognitiva se traduce en beneficios para el animal en una o más de estas funciones, p. ej. una función cognitiva intensificada permite al animal interactuar de modo más deseable con otros animales, permite al animal tener una memoria mejor y contrarrestar los efectos de la demencia. Básicamente, la intensificación de la función cognitiva se traduce en una mejora de estas funciones y de otras similares.
- En varias formas de ejecución, la composición es una composición alimentaria para humanos, una composición alimentaria para animal de compañía o un suplemento dietético. En otras formas de ejecución, la composición es una composición alimentaria, que además contiene del 15 % al 50 % de proteínas, del 5 % al 40 % de grasas, del 5 % al 10 % de contenido de cenizas y que tiene un contenido de humedad del 5 % al 20 %.
- En ciertas formas de ejecución, el UFA es un aceite de pescado y el NORC es la arginina o derivado de la misma que libera óxido nítrico.
- En ciertas formas de ejecución, la composición contiene del 0,1 % al 50 % de aceite de pescado y del 0,1 % al 20 % de arginina. Para las formas de ejecución de los métodos, al igual que en las composiciones anteriores, los UFA están formados por uno o varios de los siguientes: un aceite de pescado natural, ALA, EPA, DPA, DHA, otros ácidos grasos poliinsaturados de cualquier origen o combinaciones de los mismos.
- En una forma de ejecución, la composición empleada para los métodos se formula para proporcionar de 0,5 g a 10 g tanto de UFA como de NORC al día mediante una o más porciones de un tamaño de servicio recomendado. La composición contiene además una o más vitaminas B y uno o más antioxidantes. La vitamina B incluye de 0,1 a 40 veces el RDA y el antioxidante constituye del 0,0001 % al 25 % de la composición. La composición contiene con preferencia una mezcla de vitaminas B.
- En una forma de ejecución, la composición se administra al animal en combinación con uno o más fármacos cognitivos en una cantidad eficaz para intensificar las funciones cognitiva y afines, aquí definidas. En una forma de ejecución especial, la composición administrada es una composición farmacéutica que incluye un fármaco cognitivo junto con los UFA y NORC. En una forma preferida de ejecución, la composición se administra al animal en una base diaria, con preferencia en una sola dosis.
- En ciertas formas de ejecución, el animal es un animal sano en fase de envejecer. En otras, el animal tiene un fenotipo asociado con un deterioro cognitivo debido a la edad. Por ejemplo, cuando se compara con un animal control que no tiene el fenotipo, el animal puede tener un fenotipo que incluya uno o más de los siguientes: capacidad disminuida de recordar, pérdida de la memoria inmediata, menor velocidad de aprendizaje, disminución de la capacidad de aprendizaje, menor habilidad para resolver problemas, menor espacio de atención, disminución de facultades motoras, mayor confusión o demencia (enfermedad de Alzheimer en los humanos o su equivalente en otros animales).
- En otro aspecto, la composición contiene los UFA y NORC en una cantidad eficaz para mejorar una o varias conductas sociales. En una forma preferida de ejecución, el animal es un animal de compañía.
- Se cree que las composiciones, después de haberse administrado a un animal, aumentan las concentraciones de UFA y NORC en circulación en la sangre o en el plasma sanguíneo del animal. En ciertas formas de ejecución, la concentración en la sangre de un metabolito directo o indirecto, resultante del consumo de UFA y/o NORC, aumenta y es útil como indicador de la dosis. Una disminución de la concentración de uno o más compuestos en el torrente sanguíneo de un animal que haya recibido las composiciones puede tener también lugar en el curso normal. Tal disminución puede ser también una herramienta útil para el seguimiento y la determinación de las dosis. El cambio

de la cantidad del componente a medir en el torrente sanguíneo es con preferencia dependiente de la dosis. En algunas formas de ejecución, el método se traduce en un aumento de uno o más cuerpos de cetona en la sangre del animal. En las formas de ejecución, en las que se incluyen compuestos adicionales en las composiciones, p. ej. vitaminas B o antioxidantes, la administración se traduce en un aumento de las concentraciones circulantes de estos compuestos y es útil como indicación de la dosis.

La descripción se refiere además a otros métodos para influir en varias funciones cognitivas, motoras o de conducta afines y para influir en varias funciones fisiológicas, que guardan relación con las funciones cognitivas, motoras o de conducta, p. ej. la interacción social y el envejecimiento del cerebro. En general, los métodos consisten en administrar las composiciones de la presente invención a un animal en las cantidades aquí definidas de las composiciones y métodos.

En un aspecto, la descripción se refiere también a un método para reducir o prevenir una disminución de la interacción social de un animal que consiste en administrar una composición que contiene los UFA y NORC al animal en una cantidad eficaz para reducir o prevenir la merma de su interacción social. En los aspectos preferidos, las composiciones contienen también una o más vitaminas B, uno o más antioxidantes, o ambos, en cantidades eficaces para reducir o prevenir la disminución de la interacción social en un animal. Los métodos aseguran que un animal en fase de envejecer permanecerá motivado en el tiempo de actividad, participará en las actividades del grupo e interactuará con los asistentes sanitarios y similares.

En un aspecto se describen métodos para reducir o prevenir la disminución de la interacción social de un animal, que consisten en administrar una composición que contiene los UFA y NORC a dicho animal en una cantidad eficaz para reducir o prevenir la merma de su interacción social. En los aspectos preferidos, las composiciones contienen también una o más vitaminas B, uno o más antioxidantes, o ambos, en cantidades eficaces para reducir o prevenir la disminución de la interacción social de un animal. Los métodos aseguran que un animal en fase de envejecer permanecerá motivado en el tiempo de actividad, participará en las actividades del grupo e interactuará con los asistentes sanitarios y similares.

En otro aspecto, la descripción se refiere también a métodos para reducir o prevenir los cambios de conducta asociados con la edad en un animal, que consisten en administrar los UFA y NORC a dicho animal en una cantidad eficaz para reducir o prevenir los cambios de conducta asociados con la edad. Con preferencia, los cambios de conducta asociados con la edad son uno o más de los siguientes: tendencia olvidadiza, desorientación, interacción social reducida, cambios en los hábitos de sueño y vigilia (en especial un aumento de la actividad nocturna), pérdida del "entreno doméstico", que se traduce en cambios en los hábitos y los sitios elegidos para la micción y la defecación, la confusión, la frustración, el cambio de temperamento, por ejemplo la agitación y la agresión, la ejecución de los pasos al andar y deambular. Tales cambios se han observado en respuesta a las disminuciones cognitivas de los humanos y de otros animales. En las formas preferidas de ejecución, las composiciones contienen también una o más vitaminas B, uno o más antioxidantes, o ambos, en cantidades eficaces para reducir o prevenir los cambios de conducta asociados con la edad en un animal.

En otro aspecto, la invención se refiere a métodos para aumentar la capacidad de entreno de un animal, que consisten en administrar una composición que contiene los UFA y NORC a dicho animal en una cantidad eficaz para aumentar la capacidad de entreno. Por ejemplo, administrar la composición en el "período de adaptación para dejar de orinar descontroladamente" de los bebés, los cachorros y los gatitos permite al animal aprender la acción de control de modo más rápido que si el entreno se realiza sin emplear la composición. De igual manera, entrenar a un perro o gato para que obedezca órdenes verbales, señales o de otro tipo permite al animal aprender la nueva acción con mayor rapidez que si el entreno se realiza sin emplear la composición. De modo similar, las composiciones podrían ser útiles para entrenar los animales salvajes o vueltos a la vida salvaje (cimarrones), por ejemplo los animales empleados en el circo o los animales de compañía que han crecido en estado salvaje. En las formas preferidas de ejecución, las composiciones contienen también una o más vitaminas B, uno o más antioxidantes, o ambos, en cantidades eficaces para aumentar la capacidad de entreno de un animal.

En otro aspecto, la descripción se refiere a métodos para mantener la función cerebral óptima de un animal. Los métodos consisten en administrar una composición que contenga los UFA y NORC a dicho animal en una cantidad eficaz para prevenir o retrasar la disminución de la función cerebral, en especial a lo largo del tiempo. En aspectos preferidos, las composiciones contienen también una o más vitaminas B, uno o más antioxidantes, o ambos, en cantidades eficaces para mantener la función cerebral óptima en un animal. En general, los métodos aseguran que un animal en fase de envejecer mantenga sana la función cerebral óptima durante toda su vida y tenga una mejor calidad de vida, en especial en el caso de los animales mayores. Los métodos frenan además el proceso de la disminución mental en los perros que envejecen.

En otro aspecto, la descripción se refiere a métodos para facilitar el aprendizaje y la memoria de un animal. Los métodos consisten en administrar una composición que contenga los UFA y NORC al animal en una cantidad eficaz para facilitar el aprendizaje y la memoria. En una forma de ejecución, el animal ha alcanzado aprox. por lo menos el 50 % de su esperanza de vida. Los métodos ayudan al animal en fase de envejecer a recordar los hechos y a comprender las órdenes. En las formas preferidas de ejecución, las composiciones contienen también una o más

vitaminas B, uno o más antioxidantes, o ambos, en cantidades eficaces para facilitar el aprendizaje y la memoria en un animal.

5 En otro aspecto, la descripción se refiere a métodos para reducir la pérdida de memoria en un animal. Los métodos consisten en administrar una composición que contenga los UFA y NORC a dicho animal en una cantidad eficaz para reducir la pérdida de memoria a lo largo del tiempo. En las formas preferidas de ejecución, las composiciones contienen también una o más vitaminas B, uno o más antioxidantes, o ambos, en cantidades eficaces para reducir la pérdida de memoria en un animal.

10 En otro aspecto, la descripción se refiere a métodos para retrasar el envejecimiento cerebral de un animal. Los métodos consisten en administrar una composición que contenga los UFA y NORC a dicho animal en una cantidad eficaz para retrasar su envejecimiento cerebral. En las formas preferidas de ejecución, las composiciones contienen también una o más vitaminas B, uno o más antioxidantes, o ambos, en cantidades eficaces para retrasar el envejecimiento cerebral de un animal.

15 En otro aspecto, la descripción se refiere a métodos para prevenir o tratar la apoplejía de un animal. Los métodos consisten en administrar una composición que contenga los UFA y NORC a dicho animal en una cantidad eficaz para prevenir o tratar la apoplejía. En formas preferidas de ejecución, la descripción se refiere a composiciones contienen también una o más vitaminas B, uno o más antioxidantes, o ambos, en cantidades eficaces para prevenir o tratar la apoplejía de un animal. Los métodos se basan en el descubrimiento de que la reducción de la lesión que se traduce en una apoplejía guarda relación con ciertos aspectos de la intensificación de la función cognitiva, p. ej. con la reducción de la pérdida de memoria.

20 En otro aspecto, la descripción se refiere a métodos para prevenir o tratar la demencia de un animal. Los métodos consisten en administrar una composición que contenga los UFA y NORC a dicho animal en una cantidad eficaz para prevenir o tratar la demencia. En las formas preferidas de ejecución, las composiciones contienen también una o más vitaminas B, uno o más antioxidantes, o ambos, en cantidades eficaces para prevenir o tratar la demencia de un animal. La demencia puede ser la enfermedad de Alzheimer (AD) en los humanos, el síndrome de la disfunción cognitiva canina (Canine Cognitive Dysfunction Syndrome = CCDS) en los canes o enfermedades similares de otros animales. Los métodos se basan en el descubrimiento de que las composiciones y métodos de la presente invención previenen o reducen la demencia reduciendo los efectos de la lesión que derivan de las causas de la demencia, p. ej. los depósitos de amiloides o el deterioro de la función arterial.

25 En otro aspecto, la descripción se refiere a métodos para mantener la claridad mental y la alerta de un animal. Los métodos consisten en administrar una composición que contenga los UFA y NORC a dicho animal en una cantidad eficaz para mantener la claridad mental y la alerta. En los aspectos preferidos, las composiciones contienen también una o más vitaminas B, uno o más antioxidantes, o ambos, en cantidades eficaces para mantener la claridad mental y la alerta de un animal.

30 En un aspecto se describen métodos para fomentar la salud y el bienestar de un animal, que consisten en administrar una composición que contenga los UFA y NORC a dicho animal en una cantidad eficaz para fomentar la salud y el bienestar. En los aspectos preferidos, las composiciones contienen también una o más vitaminas B, uno o más antioxidantes, o ambos, en cantidades eficaces para fomentar la salud y el bienestar.

35 En otro aspecto, la descripción se refiere a métodos para prolongar la juventud de un animal, que consisten en administrar una composición que contenga los UFA y NORC a dicho animal en una cantidad eficaz para prolongar la juventud de dicho animal. En los aspectos preferidos, las composiciones contienen también una o más vitaminas B, uno o más antioxidantes, o ambos, en cantidades eficaces para prolongar la juventud del animal.

40 En los métodos para reducir o prevenir la disminución de interacción social, reducir o prevenir los cambios de conducta asociados con la edad, aumentar la capacidad de entreno, mantener la función cerebral óptima, facilitar el aprendizaje y la memoria, reducir la pérdida de memoria, retrasar el envejecimiento del cerebro, prevenir o tratar la apoplejía, prevenir o tratar la demencia, mantener la claridad mental y la alerta, fomentar la salud y el bienestar y prolongar la juventud, el animal es con preferencia un ser humano o un animal de compañía, con preferencia especial un perro o un gato. Las cantidades de los UFA, NORC, vitaminas B, antioxidantes y otros ingredientes empleados en estos métodos son las mismas cantidades o se sitúan dentro de los mismos intervalos indicados para intensificar la función cognitiva.

45 Se describen también kits idóneos para administrar una composición que contiene uno o más UFA y NORC a un animal. Los kits contienen recipientes separados en un solo envase o en recipientes separados en un envase virtual, apropiado para los componentes del kit, (a) uno o más UFA, (b) uno o más NORC y uno o más de los siguientes: (1) uno o más ingredientes adicionales idóneos para el consumo de un animal; (2) una o más vitaminas B; (3) uno o más antioxidantes; (4) uno o más fármacos cognitivos; (5) uno o más prebióticos; (6) uno o más probióticos; (7) uno o más dispositivos de diagnóstico idóneos para determinar si un animal se podrá beneficiar de las composiciones y métodos para intensificar la función cognitiva y las funciones afines; (8) instrucciones para combinar o preparar los UFA y NORC y cualquier otro ingrediente contenido en el kit para la administración a un animal; (9) instrucciones

para usar los componentes combinados del kit, los componentes preparados del kit u otros componentes del kit para el beneficio de un animal; y (10) un dispositivo para administrar los componentes combinados o preparados del kit a un animal. Los componentes se presentan en cada caso en recipientes separados en un envase individual o en mezclas de varios componentes en diferentes envases. En las formas preferidas de ejecución, los kits contienen los UFA, NORC, vitaminas B y antioxidantes. Los kits pueden contener los ingredientes en varias combinaciones. Por ejemplo, el kit podría contener una mezcla de una o más vitaminas B y uno o más antioxidantes en un recipiente y uno o más ingredientes adicionales en uno o más recipientes adicionales. De igual manera, el kit podría contener una mezcla de UFA y NORC en un recipiente y uno o más ingredientes en uno o más recipientes adicionales así como la descripción de los ingredientes y de sus propiedades físicas y químicas y de sus compatibilidades.

En otro aspecto, la descripción se refiere a métodos de fabricación de una composición alimentaria que contiene los UFA, NORC y uno o más ingredientes adicionales idóneos para el consumo de un animal, p. ej. proteínas, grasas, hidratos de carbono, fibras, vitaminas B y antioxidantes. Los métodos consisten en mezclar uno o más ingredientes idóneos para el consumo de un animal con los UFA y NORC y posiblemente otros ingredientes, por ejemplo vitaminas B y/o antioxidantes. Como alternativa, los métodos consisten en aplicar los UFA y NORC y otros ingredientes, si se desea, por separado o en cualquier combinación a la composición alimentaria, p. ej. en forma de recubrimiento o de revestimiento. Los UFA y NORC pueden añadirse en cualquier momento durante la fabricación y/o el procesado de la composición alimentaria. Esto incluye, por ejemplo, mezclar los UFA y NORC como parte de la formulación básica del "cuerpo" de la composición alimentaria o aplicarlos en forma de recubrimiento, es decir, básicamente sobre la superficie de la composición alimentaria después de su fabricación. Las composiciones pueden fabricarse con arreglo a cualquier método apropiado de la técnica.

La descripción indica el modo de uso de los UFA y NORC para preparar una composición alimentaria canina o felina, apropiada para el etiquetado, con preferencia una composición alimentaria para un animal de compañía.

En otro aspecto, la descripción indica el modo de uso de los UFA y NORC para fabricar un medicamento para intensificar la función cognitiva, reducir o prevenir la disminución de interacción social, reducir o prevenir los cambios de conducta asociados con la edad, aumentar la capacidad de entreno, mantener la función cerebral óptima, facilitar el aprendizaje y la memoria, reducir la pérdida de memoria, retrasar el envejecimiento del cerebro, prevenir o tratar la apoplejía, prevenir o tratar la demencia y mantener la claridad mental y la alerta de un animal. El medicamento contiene vitaminas B y antioxidantes. En general, los medicamentos se fabrican mezclando un compuesto o composición con excipientes, tampones, ligantes, plastificantes, colorantes, diluyentes, agentes de compresión, lubricantes, aromas (saborizantes), agentes humectantes y otros ingredientes que los expertos ya conocen por ser útiles para la producción de medicamentos y para formular medicamentos aptos para la administración a un animal.

En la invención, el animal puede ser un animal joven, adulto, senior o geriátrico. Normalmente, en la mayor parte de formas de ejecución, el animal es un animal en fase de envejecer. En general, los animales se consideran senior en los años de la segunda mitad de su esperanza de vida y geriátricos en los años del último cuarto de su esperanza de vida. La duración de la vida se define de forma variable para los distintos animales y los expertos ya saben cómo determinarla. Por ejemplo, un animal se considera joven aprox. hasta los 16 años de edad. En el caso de un perro o un gato, el animal se considera joven hasta 1 año de edad.

Las composiciones, incluidas las composiciones farmacéuticas y los medicamentos, se administran al animal empleando una gran variedad de vías de administración. Tales vías incluyen la oral, intranasal, intravenosa, intramuscular, intragástrica, transpilórica, subcutánea, rectal y similares. Las composiciones se administran con preferencia por vía oral.

Las composiciones, incluidas las composiciones farmacéuticas y los medicamentos, se administran al animal durante un período de tiempo requerido para conseguir uno o más objetivos de la invención, p. ej. intensificar la función cognitiva, reducir o prevenir la disminución de interacción social, reducir o prevenir los cambios de conducta asociados con la edad, aumentar la capacidad de entreno, mantener la función cerebral óptima, facilitar el aprendizaje y la memoria, reducir la pérdida de memoria, retrasar el envejecimiento del cerebro, prevenir o tratar la apoplejía, prevenir o tratar la demencia y mantener la claridad mental y la alerta de un animal. Las composiciones son apropiadas para una administración a largo plazo o para la administración en cualquier régimen compatible con la composición y el objetivo.

En las composiciones de la invención, los antioxidantes están formados por la astaxantina sola o por una combinación con otros antioxidantes.

## Ejemplos

La invención puede ilustrarse con mayor detalle mediante los ejemplos siguientes, aunque se da por supuesto que los ejemplos se incluyen con fines meramente ilustrativos y no se pretende con ellos limitar el alcance de la invención, a menos que se indique específicamente lo contrario.

Ejemplo 1

Animales y grupos de ensayo

5 Se someten al ensayo perros beagle experimentados en el ámbito cognitivo (machos y hembras de edad comprendida entre los 7,5 y los 11,6 años). La edad media de los perros es de 9,38 años. para la cualificación, los perros tienen que haber estado por lo menos 6 meses en una experiencia previa de ensayos cognitivos, incluyendo el haber estado entrenados en una tarea de posición retardada de no apareo (DNMP) y en la tarea de la singularidad (oddy).

10 Durante la fase de línea base inicial se someten todos los perros al ensayo de la tarea DNMP en una versión variable del retardo (o a los 5 s si previamente fueron incapaces de aprender la tarea), que proporciona un medio de evaluación de la memoria de trabajo visual-espacial y al ensayo de una tarea de discriminación de tamaños y una tarea inversa. La realización de estas tareas se emplea para distribuir los perros en cuatro grupos de tratamiento cognitivamente equivalente (doce perros por grupo): (1) 2 % de aceite de pescado, 2,5 % de arginina, de 1 a 40 veces el RDA de vitaminas B, 150 mg/kg de vitamina C, 900 mg/kg de vitamina E y 0,5 mg/kg de selenio ("grupo SPB"); y (2) el grupo de control.

Alimentación y agua

20 Los perros tienen libre acceso al agua aportada mediante sistemas de fuente automática de agua montados en la pared y/o en cuencos de agua. Se proporciona a los animales una vez al día uno de cinco alimentos de mantenimiento para adultos, que contienen aproximadamente un 32 % de proteínas, un 20 % de grasas y un 3 % de fibras. Se calculan las cantidades de alimento individual iniciales empleando la fórmula "kcal requeridas = 110 kcal/día x (peso corporal x 0,75)". Con esta fórmula se pretende mantener un peso corporal constante con un estado apropiado del organismo.

25 Se pesan los perros cada semana al inicio del tratamiento y dos veces al mes después de la ingestión del alimento y de la estabilización del estado apropiado del organismo; se ajusta la ingestión de la comida según convenga para mantener un peso corporal relativamente constante. Se concede a los animales un tiempo aproximado de 30 minutos para que puedan comer el pienso puesto a su disposición. Se anota la cantidad aproximada de pienso sobrante en una hoja de seguimiento de la ingestión de pienso por parte de cada animal.

Condiciones de alojamiento

35 Batería de ensayos cognitivos

Aprendizaje de discriminación de hitos (días 7-99). Aprendizaje egocéntrico e inverso (días 100-163).

40 Tarea de discriminación de hitos

En esta tarea se entrenan los perros para acercarse a uno de dos objetos, en base a su proximidad a un hito externo. Con esta tarea se pretende evaluar la capacidad espacial aloécéntrica, que implicar la utilización de hitos externos para localizar objetos en el espacio. Se someten los perros al ensayo en versiones cada vez más difíciles del mismo problema general.

45 Procedimientos generales de ensayo: se someten los perros a diez (10) ensayos por día, con una pausa de 30 segundos entre ensayos. Los ensayos se realizan una vez al día, aproximadamente durante seis días por semana, lo cual supone que se realiza un total de 80 sesiones. Se efectúa un procedimiento de corrección parcial. En este procedimiento se permite a los perros una vez en cada sesión que corrijan su respuesta después de haber cometido un error. Se somete cada perro al ensayo para que afronte hasta cuatro problemas, en función del éxito que tenga el perro en el momento de resolver los problemas. Para pasar del primer problema al segundo, el perro tiene que completar un criterio de dos estadios. Para superar el primer estadio, el perro tiene que responder correctamente por lo menos en 9 de los 10 ensayos, o en 8 de los 10 ensayos durante 2 días consecutivos. Los perros tienen que responder en todos los ensayos para superar el primer estadio. El segundo estadio del criterio se completa cuando el perro responde correctamente por lo menos en el 70 % de los 30 ensayos siguientes durante tres sesiones consecutivas. A los perros que no responden en alguno de los ensayos se les asigna una puntuación de 0,5, que se supone que es la respuesta en base a la elección aleatoria y se les concede un día extra de prueba para completar los 30 ensayos. Se requiere una puntuación media del 70 % a lo largo de todos los días de ensayo para pasar al segundo estadio.

50 Los objetos a discriminar son idénticos con tapetes blancos y una pinza amarilla de madera, 2 cm x 2 cm x 9 cm, que sirve de hito. Los tapetes circulares blancos se colocan sobre dos hoyos laterales de alimento en la bandeja de presentación. Se pegan lengüetas de velcro de 2 cm de diámetro, para sujetar el hito en su sitio, en la parte central superior de los tapetes y en los lugares apropiados de la bandeja de alimento.

Ensayo inicial del hito (hito-0): en el ensayo inicial (L0), el hito se fija en el centro de uno de los dos tapetes blancos. En cada ensayo, el encargado del ensayo coloca el alimento de recompensa en el hoyo de alimento izquierdo o derecho y posiciona el hito en consonancia. Se levanta la puerta y se mueve la bandeja hasta aproximadamente 25 cm del perro para una breve pasa de inspección que permite al perro ver la disposición espacial existente sobre la bandeja. A continuación se presenta la bandeja al perro y se deja que el perro adopte su respuesta. En este nivel y en todos los posteriores se requiere la respuesta de los perros al tapete más próximo al hito para obtener la recompensa en forma de comida. El lado correcto se determina de modo aleatorio con un ordenador con la condición de que cada lado es correcto en la mitad de los ensayos de cada sesión de pruebas. Cada perro puede tener como máximo 30 sesiones de prueba (300 ensayos) para aprender a responder al estímulo asociado con el hito durante el L0.

Entreno de corrección: a los perros que no superan el ensayo inicial L0 se les concede un programa de entreno de corrección para ayudarles a aprender la tarea. El entreno de corrección consiste en 5 días adicionales de entreno, con 15 ensayos por día. Al principio del entreno de corrección se presenta a los animales un solo estímulo recompensado en la mayor parte de los ensayos. A medida que continúan los ensayos se les ofrecen presentaciones adicionales con pares de estímulos. Una vez finalizada la fase de aprendizaje de corrección, los animales reciben un entreno adicional, hasta un máximo de 10 sesiones empleando el protocolo original. Este protocolo se emplea también para los perros que no superan el L1. Los perros que no superan el L0 se pasan al L1. Los perros que no superan el entreno de corrección después del L1 se pasan a la tarea siguiente, si no han transcurrido 80 sesiones de ensayo. Si quedan menos de 10 sesiones de ensayo, entonces los animales del L1 reciben sesiones extra de entreno de corrección.

Hito 1 (L1): una vez el perro ha aprendido la tarea L0 (durante el entreno inicial o después del entreno de corrección), se desplaza el hito 1 cm en sentido medial y diagonal, apartándolo del borde del tapete, lo cual constituye el hito 1 (L1). El hito se fija sobre la bandeja de alimento con una pieza negra de velcro de 2 cm de anchura. Los perros que no aprenden en 30 sesiones reciben un entreno de corrección, tal como se ha descrito para el L0.

#### Protocolo del ensayo egocéntrico

Procedimiento general de ensayo: al principio del ensayo se abre la puerta de bisagra para presentar la bandeja de estímulo al perro y se concede al perro un máximo de 30 s para dar su respuesta desplazando uno de los dos estímulos idénticos. Se cuenta la respuesta como correcta cuando el perro desplaza un objeto de estímulo que tapa la recompensa en forma de alimento. Se cuenta como error cuando el perro desplaza el estímulo que no lleva recompensa. Los animales se someten a 12 ensayos por sesión durante un período de 63 sesiones.

Fase de preferencia: el primer día de ensayo se someten los perros a un ensayo de preferencia que consiste en 10 ensayos discretos con objetos que tapan los dos hoyos laterales de alimento para determinar si tienen alguna preferencia lateral. El lado preferido se emplea como lado positivo para la fase inicial de adquisición en los ensayos. Así que si el animal elige con mayor frecuencia el objeto de su izquierda, entonces el lado izquierdo del animal se considera como su lado preferido. En el caso de que los animales no muestren preferencia por ningún lado (y respondan cinco veces a cada lado), entonces se lanza una moneda para decidir el lado de la recompensa.

Fase de adquisición: cada ensayo consiste en una sola presentación de la bandeja del estímulo con un estímulo que tapa una recompensa en el hoyo lateral del lado preferido o en el hoyo del centro. Un segundo objeto de estímulo sin recompensa tapa un hoyo delante del lado no preferido por el perro. Por consiguiente se recompensa siempre el objeto más alejado del lado preferido de los animales. En todos los ensayos realizados hay tres posibles configuraciones espaciales (izquierda-centro, izquierda, derecha o derecha-centro). Cada configuración aparece cuatro veces por sesión de ensayo.

Criterio: la fase de adquisición se completa con éxito cuando un perro alcanza una puntuación como mínimo del 90 % correcto (33/36 ensayos correctos) a lo largo de tres sesiones consecutivas de ensayo. Para alcanzar este criterio se les conceden como máximo 12 sesiones o 144 ensayos. A los animales que no aprenden en estas 12 sesiones se les conceden otras 5 sesiones de entreno de corrección, lo cual se continúa con un máximo de 10 sesiones adicionales.

Fase inversa: una vez el animal ha superado la fase de adquisición, se traslada la posición de la recompensa al lado opuesto. De este modo, si el objeto más próximo a la derecha del perro se había recompensado en el ensayo de adquisición, ahora el objeto más próximo a su izquierda es el que lleva asociada la recompensa en el ensayo inverso. Para el primer ensayo inverso, el criterio de aprendizaje es el mismo que para la adquisición original. Se concede un máximo de 15 sesiones o 180 ensayos para alcanzar este criterio. Si un animal no cumple el criterio en 15 sesiones, se le conceden 5 sesiones de entreno de corrección. Entonces los animales realizan 10 sesiones adicionales para poder cumplir el criterio de aprendizaje.

Fase inversa repetida (múltiple): una vez el animal ha aprendido la inversa original, se traslada el lado correcto y se somete de nuevo al animal a la prueba hasta que aprende de nuevo la tarea. Se repite este procedimiento hasta que

el animal haya completado un total de 52 sesiones con el protocolo egocéntrico. Los resultados se recogen en las tablas de 1 a 5.

Resultados de los ensayos de los hitos

5

Tabla 1. Resultados del ensayo del hito 0

| grupo de ensayo | errores respecto al criterio |       |
|-----------------|------------------------------|-------|
|                 | media                        | SE    |
| control         | 45,42                        | 12,85 |
| SPB             | 29,38                        | 8,10  |

Observando estos datos, el grupo SPB se comporta mejor que el grupo de control.

10

Tabla 2. Resultados del ensayo del hito 1

| grupo de ensayo | errores respecto al criterio |       |
|-----------------|------------------------------|-------|
|                 | media                        | SE    |
| control         | 136,96                       | 16,26 |
| SPB             | 89,29                        | 19,03 |

El grupo de control difiere de modo significativo del grupo SPB.

Resultados del ensayo egocéntrico

15

Tabla 3. Resultados del ensayo de adquisición

| grupo de ensayo | errores respecto al criterio |      |
|-----------------|------------------------------|------|
|                 | media                        | SEM  |
| control         | 25,58                        | 2,96 |
| SPB             | 20,41                        | 2,71 |

Observando estos datos, el grupo de control difiere del grupo SPB.

20

Tabla 4. Resultados del ensayo inverso

| grupo de ensayo | errores respecto al criterio |      |
|-----------------|------------------------------|------|
|                 | media                        | SEM  |
| control         | 68,29                        | 6,22 |
| SPB             | 47,09                        | 5,58 |

Observando estos datos, el grupo de control difiere significativamente del grupo SPB.

Tabla 5. Resultados del ensayo inverso repetido

| grupo de ensayo | aprendizaje inverso |      |
|-----------------|---------------------|------|
|                 | media               | SEM  |
| control         | 2,42                | 0,40 |
| SPB             | 4,42                | 0,48 |

25

Ejemplo 2

Se aclimatan ratas machos Sprague-Dawley suministradas por Charles River (250 g, Wilmington, MA) en las instalaciones para animales 3 días antes de la cirugía con un ciclo de luz-oscuridad de 12 horas. Se les practica una orquiectomía bilateral 2 semanas antes de iniciar la administración de la dieta. Cuatro semanas después de haber iniciado la administración de la dieta se realiza con anestesia una oclusión transitoria de la arteria cerebral central (tMCA) después de haber practicado una inyección intraperitoneal de cetamina (60 mg/kg) y xilazina (10 mg/kg). Se asignan aleatoriamente 15 ratas a cada uno de los cuatro grupos de tratamiento:

35

Grupo 1 - castrados + dieta de control

Grupo 2 - castrados + dieta II

Grupo 3 - intactos + dieta de control

40

Grupo 4 - intactos + dieta II

La dieta de control es una dieta estándar para ratas que contiene 140 g/kg de caseína, 100 g/kg de sucrosa, 50 g/kg de fibra, 155 g/kg de dextrina, 466 g/kg de almidón de maíz, 35 g/kg de mezcla estándar de sal, 40 g/kg de aceite de soja, 10 g/kg de mezcla estándar de vitaminas, 1,8 g/kg de L-cistina y 2,5 g/kg de cloruro de colina. La dieta II es la dieta de control más un 2 % de arginina, un 2 % aceite de pescado menhaden (*Brevoortia*), 4X vitaminas B y antioxidantes (vitamina E: 500 mg/kg de dieta, vitamina C: 150 mg/kg de dieta, astaxantina: 100 mg/kg, selenio: 0,40 mg/kg).

Se anestesian los animales por inyección intraperitoneal de cetamina (60 mg/kg) y xilazina (10 mg/kg). La oclusión tMCA se efectúa del modo descrito previamente (Simpkins y col., 1997) con una ligera modificación. En resumen, se exponen la arteria carótida común izquierda, la arteria carótida externa y la arteria carótida interna por incisión cervical en la línea central. Se introduce una sutura de monofilamento 3.0 en el lumen de la arteria carótida interna y se desplaza suavemente hacia delante hasta que se encuentra resistencia. Se realiza el procedimiento quirúrgico en 20 minutos, con una sangría mínima. Se mantiene la sutura en su sitio durante 60 minutos y después se retira para permitir la reperfusión. Se hace el seguimiento de la temperatura rectal, que se mantiene entre 36,5 y 37°C con una esterilla de calentamiento a lo largo del procedimiento. A las 24 horas del inicio de la reperfusión se sacrifican los animales y se les extraen los cerebros. Después se diseccionan los cerebros en sentido coronal para obtener secciones de 2 mm empleando una matriz metálica de cerebro (ASt Instruments Inc., Warren, MI) y se tiñen por incubación en una solución de cloruro de 2,3,5-trifeniltetrazolio (TTC) al 2 % en solución salina fisiológica a 37°C y después se fijan en formalina del 10 %. El análisis de fragmentación del DNA con oclusión de MCA y marcado del extremo doblado con dUTP mediado por TdT [TdT-mediated dUTP Nick-End Labeling (TUNEL)] es un modelo de apoplejía isquémica focal muy utilizado (Bederson y col., 1986). Este modelo "in vivo" de muerte neuronal puede inducir rápidamente un proceso sincronizado de apoptosis en un gran número de neuronas y otras células (Li y col., 1997). Los efectos de la isquemia transitoria en la apoptosis se examinan por lo tanto por análisis de fragmentación del DNA en un ensayo TUNEL. La tinción TUNEL se lleva a cabo con arreglo a las instrucciones modificadas del fabricante (Gavrieli y col., 1992). Se desparafinan con xileno las secciones de tejido fijadas en formalina, impregnadas de parafina, se hidratan de nuevo por un tratamiento gradual con etanol y reciben un lavado final con PBS. Las secciones se fijan después en paraformaldehído del 4 % durante 20 minutos. A continuación se lavan las secciones y se tratan durante 15 minutos con 100/pg/ml de proteinasa K en PBS, equilibrada con un tampón de equilibrio durante 10 min y después se incuban con un tampón que contiene la enzima TdT y el dUTP marcado con FITC (Promega, Madison, WI) a 37°C en una cámara de humidificación. Se termina la reacción por incubación en un tampón 2xSSC a temperatura ambiente durante 15 min. Seguidamente se montan las secciones con reactivos antidecolorantes que contienen DAPI (Molecular Probes, Eugene, OR). Se sumergen las secciones de control positivo en una solución de DNasa 1 a temperatura ambiente durante 10 min antes del equilibrio en tampón TdT. Se observan las secciones en el microscopio fluorescente con parejas de filtros excitación - emisión apropiadas. Después de la cirugía, algunos animales murieron antes de la necropsia. El número de animales cuantificados por volumen de lesión se sitúa entre 12 y 15 por grupo. Los resultados se recogen en las tablas 6 y 7.

Se analizan los resultados con un análisis unidireccional de varianza (ANOVA) empleando el programa informático Prism (Graphpad Inc; San Diego, CA). La importancia de las diferencias entre los grupos se determina por una ANOVA unidireccional y posteriores ensayos de comparación múltiple de Tukey. Todos los valores se expresan en forma de media +/-SEM.

En lo que respecta a las tablas 6 y 7, los resultados indican que una dieta que contiene uno o más de los ingredientes de la dieta II tiene un efecto beneficioso que previene o trata la isquemia y por lo tanto un efecto beneficioso en muchas funciones afines del cerebro, p. ej. la función cognitiva, la interacción social, los cambios de conducta asociados con la edad, la disminución de la función cerebral, la intensificación de las funciones cerebrales, el tratamiento o la prevención de la apoplejía, el retraso del envejecimiento del cerebro y la prevención o el tratamiento de la demencia, por ejemplo la enfermedad de Alzheimer.

Tabla 6. Efecto de la dieta II en el volumen de la lesión (mm<sup>3</sup>) inducida por una isquemia cerebral focal transitoria

|  | control + castración | dieta II + castración* | intactos + control | intactos + dieta II |
|--|----------------------|------------------------|--------------------|---------------------|
| n  | 13                   | 12                     | 14                 | 14                  |
| media  | 284,9                | 133,6                  | 244,5              | 163,1               |
| error estándar   | 32,50                | 28,53                  | 43,30              | 31,54               |
| * p < 0,05 dieta II + castración frente a control + castración |                      |                        |                    |                     |

Tabla 7. Efecto de la dieta II en el índice de apoptosis (%) inducida por una isquemia cerebral

|                | control + castración | dieta II + castración* | intactos + control | intactos + dieta II |
|----------------|----------------------|------------------------|--------------------|---------------------|
| n              | 13                   | 12                     | 14                 | 14                  |
| media          | 85,55                | 46,67                  | 75,15              | 57,69               |
| error estándar | 4,134                | 7,51                   | 8,208              | 8,137               |

**REIVINDICACIONES**

- 5 1. Una composición para el uso en intensificar la función cognitiva en un animal, en el que la disminución cognitiva está causada por una lesión debida a una enfermedad o alteraciones de la función cerebral, que contiene uno o más ácidos grasos insaturados (UFA) y uno o más compuestos que liberan óxido nítrico (NORC), dicha composición contiene también una o más vitaminas B en una cantidad eficaz para intensificar la función cognitiva y uno o más antioxidantes en una cantidad eficaz para intensificar la función cognitiva, dicha composición contiene del 0,1 % al 50 % de UFA, del 0,1 % al 20 % de NORC, de 0,1 a 40 veces el requisito diario recomendado de vitaminas B y del 0,001 % al 25 % de antioxidantes; dichos antioxidantes están formados por la astaxantina sola o en combinación con otros antioxidantes.
- 10
- 15 2. La composición de la reivindicación 1, en la que la enfermedad es la apoplejía, la pérdida de memoria, la demencia o la disminución de la función cerebral; o en la que el animal tiene un fenotipo asociado con un deterioro cognitivo debido a la edad.
- 20 3. La composición según la reivindicación 1 ó 2, en la que el animal es un animal en fase de envejecer.
- 25 4. La composición de la reivindicación 1, en la que los UFA comprenden uno o más de los siguientes: un aceite de pescado natural, ALA, EPA, DPA, DHA u otro ácido graso n-3 de cualquier fuente.
- 30 5. La composición de la reivindicación 1, dicha composición se administra al animal en combinación con uno o más fármacos cognitivos en una cantidad eficaz para intensificar la función cognitiva.
- 35 6. La composición de la reivindicación 5, en la que el fármaco cognitivo es uno o más de los siguientes: selegilina, nicerogolina, una fosfatidilserina, propentofilina, galantamina, vinpocetina, donepezilo, un extracto de *Ginkgo biloba*, un bisfosfonato, raloxifeno, un estrógeno, un fitoestrógeno, calcitonina, risedronato o alendronato.
- 40 7. La composición de la reivindicación 1, dicha composición se administra en una base regular extensa, opcionalmente dicha composición se administra al animal en una base diaria.
8. La composición de la reivindicación 1, en la que el animal tiene un fenotipo asociado con un deterioro cognitivo debido a la edad.
9. La composición de la reivindicación 8, en la que el fenotipo incluye uno o más de los siguientes: capacidad reducida para recordar, pérdida de la memoria inmediata, velocidad reducida en el aprendizaje, menor capacidad de aprendizaje, menor habilidad para resolver problemas, menor período de atención, menor capacidad motora, mayor confusión o demencia, si se compara con los animales de control que no tienen este fenotipo.
10. La composición de la reivindicación 1, en la que el animal es un ser humano o un animal de compañía.
11. La composición de la reivindicación 1, en la que el NORC es la arginina o un derivado de la misma que libera óxido nítrico, o la citrulina, o la ornitina.