

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 657 744**

51 Int. Cl.:

A61K 31/702 (2006.01)

A61P 1/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **19.07.2012 PCT/US2012/047307**

87 Fecha y número de publicación internacional: **31.01.2013 WO13016111**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **19.07.2012 E 12741201 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **22.11.2017 EP 2734210**

54 Título: **Galactoligosacáridos para prevenir lesiones y/o promover la curación del tracto gastrointestinal**

30 Prioridad:

22.07.2011 US 201161510632 P

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

06.03.2018

73 Titular/es:

**ABBOTT LABORATORIES (100.0%)
100 Abbott Park Road Dept. 0377, AP6A-1
Abbott Park, IL 60064, US**

72 Inventor/es:

**DAVIS, STEVEN R. y
CHOW, JOMAY**

74 Agente/Representante:

PONS ARIÑO, Ángel

ES 2 657 744 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

Galactoligosacáridos para prevenir lesiones y/o promover la curación del tracto gastrointestinal

5 **CAMPO DE LA DIVULGACIÓN**

La presente divulgación se refiere al uso de galactoligosacáridos para prevenir lesiones en el tracto gastrointestinal y/o potenciar la curación de un tracto gastrointestinal lesionado en un individuo. Más particularmente, la presente divulgación se refiere a fortificantes de leche humana, leches maternizadas para bebés prematuros y a término,
 10 leches pediátricas, leches de continuación y productos nutricionales para adultos, que comprenden galactoligosacáridos que pueden potenciar la expresión de diversas proteínas asociadas a mucina, mejorando así la función de prevención y reparación gastrointestinal de un individuo.

ANTECEDENTES DE LA DIVULGACIÓN

15 Los individuos que experimentan diversas terapias o que tienen diversas enfermedades y/o afecciones son generalmente más susceptibles de lesión en la mucosa intestinal (gastrointestinal) que los individuos sanos. La expresión de proteínas asociadas a mucina, o proteínas secretoras, es una parte integral de la capacidad natural del individuo de prevenir y/o reparar lesiones intestinales. Específicamente, la expresión de estas proteínas asociadas a
 20 mucina ayuda a la curación de lesiones de la mucosa intestinal y a la prevención de lesiones adicionales al proteger a la mucosa de ataques, estabilizando la capa mucosa, reduciendo la inflamación de la capa mucosa y promoviendo la curación del tejido epitelial.

Sin embargo, no todos los individuos tienen una expresión adecuada de proteínas asociadas a mucina para afectar
 25 a la prevención y reparación intestinal necesarias, lo que puede dar como resultado un riesgo aumentado de translocación, sepsis y posiblemente muerte. Además, no existen actualmente composiciones nutricionales comercialmente disponibles que contengan proteínas asociadas a mucina, tales como el factor 3 de trébol (TFF3), ni procedimientos conocidos de aumento de la expresión de proteínas asociadas a mucina mediante la administración de un componente adicional para ayudar a los individuos que tienen funciones de reparación intestinal natural
 30 inadecuadas.

Como tal, sería deseable proporcionar composiciones nutricionales que pudieran producir beneficios nutricionales, tales como ayudar a la prevención y curación de lesiones de la mucosa intestinal, al potenciar la expresión de proteínas asociadas a mucina. Sería adicionalmente beneficioso si las composiciones nutricionales pudieran mejorar
 35 también la función de barrera y reducir la inflamación del tracto gastrointestinal lesionado.

RESUMEN DE LA DIVULGACIÓN

La presente divulgación está dirigida a composiciones nutricionales, incluyendo fortificantes de leche humana,
 40 leches maternizadas para bebés prematuros y a término, leches pediátricas, leches de continuación y leches para adultos que incluyen galactoligosacáridos solos o en combinación con otros componentes tales como otros oligosacáridos prebióticos y/o probióticos, para prevenir lesiones en el tracto gastrointestinal y/o potenciar la curación del tracto gastrointestinal de un lactante, niño pequeño, niño o adulto. Más particularmente, las composiciones nutricionales pueden mejorar la curación gastrointestinal mediante la potenciación de la expresión de
 45 diversas proteínas asociadas a mucina, que pueden estabilizar la capa mucosa, reducir la inflamación y promover la curación de tejido epitelial.

Una realización está dirigida a potenciar la curación del tracto gastrointestinal de un individuo. El procedimiento comprende identificar un individuo que tiene un tracto gastrointestinal lesionado y administrar al individuo una
 50 composición nutricional que comprende un galactoligosacárido.

Otra realización está dirigida a reducir la incidencia de lesión de la mucosa intestinal. El procedimiento comprende identificar un individuo susceptible de lesión de mucosa intestinal y administrar al individuo una composición
 55 nutricional que comprende un galactoligosacárido.

Se ha descubierto ahora que los galactoligosacáridos pueden potenciar la expresión de diversas proteínas asociadas a mucina, tales como TFF3, MUC-2 y RELMb, que son parte integral del sistema de reparación intestinal. Específicamente, se ha encontrado que potenciar la expresión de estas proteínas asociadas a mucina mediante la administración de una composición que contiene galactoligosacáridos ayuda a la curación celular, la resolución de la
 60 inflamación y la promoción de la función de barrera.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

Las FIG. 1A-1C son diagramas que representan el efecto de los galactoligosacáridos sobre la expresión de varios genes implicados en la respuesta de curación del tracto gastrointestinal como se mide en el Ejemplo 20.

5 Las FIG. 2A-2E son diagramas que representan la dependencia de la dosis de galactoligosacáridos sobre la expresión de varios genes implicados en la respuesta de curación del tracto gastrointestinal como se mide en el Ejemplo 21.

Las FIG. 3A y 3B son diagramas que representan el efecto de la combinación de galactoligosacáridos y *Bifidobacterium lactis* sobre la expresión de varios genes implicados en la respuesta de curación del tracto gastrointestinal como se mide en el Ejemplo 22.

Las Fig. 4A-4E son diagramas que representan el efecto de las combinaciones de galactoligosacárido y *Bifidobacterium lactis* y galactoligosacárido y *Lactobacillus acidophilus* sobre la expresión de varios genes implicados en la respuesta de curación del tracto gastrointestinal como se mide en el Ejemplo 23.

15 DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA DIVULGACIÓN

Las composiciones nutricionales descritas en la presente memoria utilizan galactoligosacáridos (GOS) solos o en combinación con uno o más componentes adicionales para prevenir lesiones del tracto gastrointestinal y/o potenciar la curación del tracto gastrointestinal. Estos y otros rasgos esenciales de las composiciones y procedimientos nutricionales, así como algunas de las muchas variaciones y adiciones opcionales, se describen con detalle de aquí en adelante.

El término "empaquetamiento con autoclave" y "esterilización por autoclave" se usan intercambiamente en la presente memoria, y a menos que se especifique otra cosa, hace referencia a la práctica común de rellenar un envase, lo más típicamente un bote metálico u otro paquete similar, con un líquido nutricional y someter entonces el paquete relleno de líquido a la etapa de esterilización por calor necesaria, formando un producto líquido nutricional empaquetado con autoclave esterilizado.

El término "empaquetamiento aséptico", como se usa en la presente memoria, a menos que se especifique otra cosa, hace referencia a la fabricación de un producto empaquetado sin depender de la etapa de empaquetamiento con autoclave anteriormente descrita, donde el líquido nutricional y el paquete se esterilizan separadamente previamente al relleno, y se combinan entonces en condiciones de procesamiento esterilizadas o asépticas formando un producto líquido nutricional asépticamente empaquetado esterilizado.

35 Los términos "grasa" y "aceite", como se usan en la presente memoria, a menos que se especifique otra cosa, se usan intercambiamente para hacer referencia a materiales lipídicos derivados o procesados a partir de plantas o animales. Estos términos incluyen también materiales lipídicos sintéticos siempre que tales materiales sintéticos sean adecuados para administración oral a seres humanos.

40 El término "oligosacárido de leche humana" u "OLH", a menos que se especifique otra cosa, hace referencia en general a una serie de carbohidratos complejos encontrados en leche humana que pueden estar en forma ácida o neutra, y a precursores de los mismos. Los oligosacáridos de leche humana no limitantes ejemplares incluyen 3'-sialilactosa, 6'-sialilactosa, 3'-fucosilactosa, 2'-fucosilactosa y lacto-N-neotetraosa. Un precursor de oligosacárido de leche humana ejemplar incluye ácido siálico.

45 El término "estable al almacenamiento", como se usa en la presente memoria, a menos que se especifique otra cosa, hace referencia a un producto nutricional que permanece comercialmente estable después de empaquetarse y almacenarse entonces a 18-24 °C durante al menos 3 meses, incluyendo de aproximadamente 6 meses a aproximadamente 24 meses e incluyendo también de aproximadamente 12 meses a aproximadamente 18 meses.

50 Los términos "formulación nutricional" o "composición nutricional", como se usan en la presente memoria, se usan intercambiamente y, a menos que se especifique otra cosa, hacen referencia a leches sintéticas, incluyendo líquidos nutricionales, polvos nutricionales, suplementos nutricionales y cualquier otro producto alimentario nutricional conocido en la materia. Los polvos nutricionales pueden reconstituirse formando un líquido nutricional, todos los cuales comprenden uno o más de grasa, proteína y carbohidrato y son adecuados para consumo oral por un ser humano.

El término "líquido nutricional", como se usa en la presente memoria, a menos que se especifique otra cosa, hace referencia a composiciones nutricionales en forma líquida lista para beber, en forma concentrada y a líquidos nutricionales elaborados reconstituyendo los polvos nutricionales descritos en la presente memoria previamente al uso.

- El término "polvo nutricional", como se usa en la presente memoria, a menos que se especifique otra cosa, hace referencia a composiciones nutricionales en forma fluida o aglomerable que pueden reconstituirse con agua u otro líquido acuoso previamente al consumo e incluye tanto polvos secados por pulverización como mezclados en seco/combinados en seco.
- El término "lactante", como se usa en la presente memoria, a menos que se especifique otra cosa, hace referencia a una persona de 12 meses o menos. El término "lactante prematuro", como se usa en la presente memoria, hace referencia a una persona nacida previamente a las 36 semanas de gestación.
- El término "niño pequeño", como se usa en la presente memoria, a menos que se especifique otra cosa, hace referencia a una persona mayor de un año de edad hasta tres años de edad.
- El término "niño", como se usa en la presente memoria, a menos que se especifique otra cosa, hace referencia a una persona mayor de tres años de edad hasta doce años de edad.
- El término "recién nacido", como se usa en la presente memoria, a menos que se especifique otra cosa, hace referencia a una persona desde el nacimiento hasta cuatro semanas de edad.
- Los términos "leche maternizada" o "leche maternizada sintética", como se usan en la presente memoria, a menos que se especifique otra cosa, se usan intercambiamente y hacen referencia a reemplazos o sustitutos líquidos y sólidos de leche humana que son adecuados para consumo por un lactante. Las leches sintéticas incluyen componentes que son de origen semipurificado o purificado. Como se usa en la presente memoria, a menos que se especifique otra cosa, los términos "semipurificado" o "purificado" hacen referencia a un material que se ha preparado mediante purificación de un material natural o mediante síntesis. Los términos "leche maternizada" o "leche maternizada sintética" no incluyen leche humana.
- El término "leche maternizada para bebés prematuros", como se usa en la presente memoria, a menos que se especifique otra cosa, hace referencia a productos nutricionales líquidos y sólidos adecuados para consumo por un lactante prematuro.
- El término "fortificante de leche humana", como se usa en la presente memoria, a menos que se especifique otra cosa, hace referencia a productos nutricionales líquidos y sólidos adecuados para mezclar con leche natural o leche maternizada para bebés prematuros o leche maternizada para consumo por un lactante prematuro o a término.
- Los términos "susceptible" y "en riesgo", como se usan en la presente memoria, a menos que se especifique otra cosa, significan tener poca resistencia a cierta afección o enfermedad, incluyendo estar genéticamente predispuesto, tener un historial familiar y/o tener síntomas de la afección o enfermedad.
- Todos los porcentajes, partes y relaciones usados en la presente memoria son en peso de la composición total, a menos que se especifique otra cosa. Todos los tales pesos, en cuanto a que se refieren a ingredientes enumerados, están basados en el nivel activo y, por lo tanto, no incluyen disolventes o subproductos que puedan incluirse en materiales comercialmente disponibles, a menos que se especifique otra cosa.
- Los intervalos numéricos como se usan en la presente memoria se pretende que incluyan cada número y subconjunto de números dentro de ese intervalo, se divulguen específicamente o no. Además, debería considerarse que estos intervalos numéricos proporcionan apoyo a una reivindicación dirigida a cualquier número o subconjunto de números en ese intervalo. Por ejemplo, debería considerarse que una divulgación de 1 a 10 apoya un intervalo de 2 a 8, de 3 a 7, de 5 a 6, de 1 a 9, de 3,6 a 4,6 de 3,5 a 9,9 y demás.
- Todas las referencias a las características singulares o limitaciones de la presente divulgación incluirán la correspondiente característica o limitación plural y viceversa, a menos que se especifique otra cosa o se implique claramente lo contrario por el contexto en el que se hace la referencia.
- Todas las combinaciones de etapas de procedimiento o proceso como se usan en la presente memoria pueden practicarse en cualquier orden, a menos que se especifique otra cosa o se implique claramente lo contrario por el contexto en que se hace la combinación referenciada.
- Las composiciones nutricionales y procedimientos pueden comprender, consistir en o consistir esencialmente en los elementos esenciales de las composiciones y procedimientos como se describen en la presente memoria, así como cualquier elemento adicional u opcional descrito en la presente memoria o útil de otro modo en las aplicaciones de

composición nutricional.

Forma de producto

- 5 Las composiciones nutricionales de la presente divulgación que incluyen los GOS pueden formularse y administrarse en cualquier forma de producto oral conocida o adecuada de otro modo. Son adecuadas cualquier forma de producto sólida, líquida o en polvo, incluyendo combinaciones o variaciones de las mismas, para uso en la presente memoria, a condición de que tales formas permitan un suministro oral seguro y efectivo al individuo de los ingredientes esenciales y cualquier ingrediente opcional, como también se definen en la presente memoria.
- 10 Las composiciones nutricionales de la presente divulgación se formulan preferiblemente como formas de producto dietético, que se definen en la presente memoria como aquellas realizaciones que comprenden los ingredientes esenciales de la presente divulgación en una forma de producto que contiene entonces al menos uno de grasa, proteína y carbohidrato, y contiene preferiblemente también vitaminas, minerales o combinaciones de los mismos.
- 15 Las composiciones nutricionales comprenderán GOS, deseablemente en combinación con al menos uno de proteína, grasa, vitaminas y minerales, produciendo una combinación nutricional.

- La composición nutricional puede formularse con suficientes clases y cantidades de nutrientes para proporcionar una fuente de nutrición única, primaria o suplementaria, o para proporcionar una composición nutricional especializada para uso en individuos aquejados de enfermedades, trastornos o afecciones específicos o con un beneficio nutricional diana como se describe a continuación.
- 20

- Los ejemplos no limitantes específicos de formas de producto adecuadas para uso con las composiciones que contienen GOS como se divulgan en la presente memoria incluyen, por ejemplo, suplementos dietéticos líquidos y en polvo, fortificantes de leche humana líquidos y en polvo y leches maternizadas para bebés prematuros líquidas y en polvo, leches maternizadas líquidas y en polvo, leches elementales y semielementales líquidas y en polvo, leches pediátricas líquidas y en polvo, leches para niños pequeños líquidas y en polvo, leches de continuación líquidas y en polvo, leches nutricionales para adultos líquidas, en polvo y sólidas adecuadas para uso con individuos que padecen infección entérica, enfermedad intestinal inflamatoria, colitis, obstrucción intestinal, estrés crónico y otras enfermedades, afecciones y/o trastornos gastrointestinales o que experimentan terapia antibiótica, radioterapia, otra quimioterapia, cirugía u otros tratamientos o terapias.
- 25
- 30

Líquidos nutricionales

- 35 Los líquidos nutricionales incluyen tanto líquidos nutricionales concentrados como listos para usar. Estos líquidos nutricionales se formulan lo más típicamente como suspensiones o emulsiones, aunque están dentro del alcance de la presente divulgación otras formas líquidas.

- Las emulsiones nutricionales adecuadas para uso pueden ser emulsiones acuosas que comprenden proteínas, grasas y carbohidratos. Estas emulsiones son generalmente líquidos fluidos o bebibles a aproximadamente 1 °C a aproximadamente 25 °C y están típicamente en forma de emulsiones de aceite en agua, agua en aceite o acuosas complejas, aunque tales emulsiones están lo más típicamente en forma de emulsiones de aceite en agua que tienen una fase acuosa continua y una fase oleosa discontinua.
- 40

- 45 Las emulsiones nutricionales pueden ser y son típicamente estables al almacenamiento. Las emulsiones nutricionales contienen típicamente hasta aproximadamente un 95 % en peso de agua, incluyendo de aproximadamente 50 % a aproximadamente 95 %, incluyendo también de aproximadamente 60 % a aproximadamente 90 % e incluyendo también de aproximadamente 70 % a aproximadamente 85 % en peso de agua. Las emulsiones nutricionales pueden tener una variedad de densidades de producto, pero lo más típicamente tienen una densidad mayor de aproximadamente 1,03 g/ml, incluyendo mayor de aproximadamente 1,04 g/ml, incluyendo mayor de aproximadamente 1,055 g/ml, incluyendo de aproximadamente 1,06 g/ml a aproximadamente 1,12 g/ml, e incluyendo también de aproximadamente 1,085 g/ml a aproximadamente 1,10 g/ml.
- 50

- Las emulsiones nutricionales pueden tener una densidad calórica adaptada a las necesidades nutricionales del usuario final, aunque en la mayoría de casos las emulsiones comprenden generalmente al menos 19 kcal/fl oz (660 kcal/l), más típicamente de aproximadamente 20 kcal/fl oz (675-680 kcal/l) a aproximadamente 25 kcal/fl oz (820 kcal/l), incluso más típicamente de aproximadamente 20 kcal/fl oz (675-680 kcal/l) a aproximadamente 24 kcal/fl oz (800-810 kcal/l). Generalmente, las leches de 22-24 kcal/fl oz se usan más comúnmente en lactantes prematuros o de bajo peso en el nacimiento, y las leches de 20-21 kcal/fl oz (675-680 a 700 kcal/l) se usan más a menudo en lactantes a término. En algunas realizaciones, la emulsión puede tener una densidad calórica de aproximadamente 50-100 kcal/l a aproximadamente 2000 kcal/l, incluyendo de aproximadamente 150 kcal/l a aproximadamente 500
- 55
- 60

kcal/l. En algunas realizaciones específicas, la emulsión puede tener una densidad calórica de 25, o 50, o 75, o 100 kcal/l.

La emulsión nutricional puede tener un pH en el intervalo de aproximadamente 3,5 a aproximadamente 8, pero está lo más ventajosamente en un intervalo de aproximadamente 4,5 a aproximadamente 7,5, incluyendo de aproximadamente 5,5 a aproximadamente 7,3, incluyendo de aproximadamente 6,2 a aproximadamente 7,2.

Aunque el tamaño de ración para la emulsión nutricional puede variar dependiendo de una serie de variables, el tamaño de ración típico es generalmente de al menos aproximadamente 1 ml, o incluso al menos aproximadamente 2 ml, o incluso al menos aproximadamente 5 ml, o incluso al menos aproximadamente 10 ml, o incluso al menos aproximadamente 25 ml, incluyendo intervalos de aproximadamente 2 ml a aproximadamente 500 ml, incluyendo de aproximadamente 4 ml a aproximadamente 340 ml, e incluyendo de aproximadamente 10 ml de aproximadamente 240 ml.

15 **Sólidos nutricionales**

Los sólidos nutricionales pueden estar en cualquier forma sólida, pero están típicamente en forma de composiciones particuladas fluidas o sustancialmente fluidas, o al menos composiciones particuladas. Las formas de producto sólido nutricionales particularmente adecuadas incluyen composiciones en polvo secadas por pulverización, aglomeradas y/o combinadas en seco. Las composiciones pueden aglomerarse fácilmente y medirse con una cuchara u otro dispositivo similar, y pueden reconstituirse fácilmente por el usuario pretendido con un líquido acuoso adecuado, típicamente agua, formando una composición nutricional para uso oral o entérico inmediato. En este contexto, uso "inmediato" significa generalmente al cabo de aproximadamente 48 horas, lo más típicamente al cabo de aproximadamente 24 horas, preferiblemente justo después de la reconstitución.

Los polvos nutricionales pueden reconstituirse con agua previamente al uso a una densidad calórica adaptada a las necesidades nutricionales del usuario final, aunque en la mayoría de casos los polvos se reconstituyen con agua formando composiciones que comprenden al menos 19 kcal/fl oz (660 kcal/l), más típicamente de aproximadamente 20 kcal/fl oz (675-680 kcal/l) a aproximadamente 25 kcal/fl oz (820 kcal/l), incluso más típicamente de aproximadamente 20 kcal/fl oz (675-680 kcal/l) a aproximadamente 24 kcal/fl oz (800-810 kcal/l). Generalmente, los leches de 22-24 kcal/fl oz se usan más comúnmente en lactantes prematuros o de bajo peso en el nacimiento, y los leches de 20-21 kcal/fl oz (675-680 a 700 kcal/l) se usan más a menudo en lactantes a término. En algunas realizaciones, el polvo reconstituido puede tener una densidad calórica de aproximadamente 50-100 kcal/l a aproximadamente 2000 kcal/l, incluyendo de aproximadamente 150 kcal/l a aproximadamente 500 kcal/l. En algunas realizaciones específicas, la emulsión puede tener una densidad calórica de 25, o 50, o 75, o 100 kcal/l.

Galactoligosacáridos

Las composiciones nutricionales de la presente divulgación incluyen oligosacáridos que contienen galactosa, a los que se hace referencia comúnmente como galactoligosacáridos (GOS). Los GOS son oligosacáridos indigeribles que contienen una o más moléculas de galactosa y una molécula de glucosa conectadas a través de enlaces glicosídicos $\beta(1,4)$ y/o $\beta(1,6)$. Los GOS usados en las composiciones de la presente divulgación pueden seleccionarse de β -galactoligosacáridos, α -galactoligosacáridos y combinaciones de los mismos. En algunas realizaciones, los GOS pueden ser trans-galactoligosacáridos (T-GOS), que son una mezcla de oligosacáridos consistentes en D-glucosa y D-galactosa solo, o en combinación con una o más de otras formas de GOS. Los T-GOS se producen a partir de D-lactosa mediante la acción de la enzima beta-galactosidasa obtenida de *Aspergillus oryzae*. Los T-GOS son resistentes a la digestión en el tracto gastrointestinal superior y estimulan el crecimiento de bifidobacterias en el intestino grueso.

Los GOS pueden representarse generalmente por la fórmula: [galactosa] n -glucosa, donde n es un entero entre 1 y 20, y se selecciona preferiblemente de entre 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10. El término "galactoligosacárido" o "GOS" puede hacer referencia también a una mezcla de galactoligosacáridos que tienen diferentes longitudes de cadena, es decir, longitudes de cadena largas y/o longitudes de cadena cortas. Los galactoligosacáridos están comercialmente disponibles, por ejemplo, como Vivinal® GOS (75 % de sólidos totales, 60 % de sólidos totales de GOS; Friesland) y GOS (Clasado).

El GOS está presente en las composiciones nutricionales en una cantidad total de aproximadamente 5 kg a aproximadamente 160 kg por 1000 kg de composición nutricional, incluyendo de aproximadamente 8 kg a aproximadamente 160 kg por 1000 kg de composición nutricional, incluyendo de aproximadamente 8 kg a aproximadamente 80 kg por 1000 kg, e incluyendo de aproximadamente 164 kg a aproximadamente 818 kg por 18.000 libras de composición nutricional. En una realización, la composición nutricional es un fortificante de leche

humana que proporciona GOS a un lactante prematuro de 1 kg en una cantidad de aproximadamente 0,11 g a aproximadamente 0,55 g de GOS al día.

Oligosacáridos prebióticos adicionales

5

Las composiciones nutricionales de la presente divulgación pueden comprender, además del GOS descrito anteriormente, una fuente o fuentes adicionales de oligosacáridos prebióticos. Las fuentes adicionales adecuadas de oligosacáridos prebióticos para uso en las composiciones nutricionales incluyen cualquier oligosacárido prebiótico que sea adecuado para uso en una composición nutricional y sea compatible con los elementos y rasgos esenciales de tales composiciones. En algunas realizaciones, la composición nutricional incluye una combinación de GOS y uno o más oligosacáridos prebióticos adicionales tal que la composición proporcione un beneficio sinérgico al usuario final, tal como un beneficio sinérgico en la mejora de la función de barrera del tracto gastrointestinal.

10

Los ejemplos no limitantes de oligosacáridos prebióticos adicionales para uso en las composiciones nutricionales descritas en la presente memoria incluyen oligosacáridos prebióticos que tienen un grado de polimerización (GP) de al menos 2 unidades de monosa y que no se digieren o solo parcialmente en el intestino por la acción de ácidos o enzimas digestivas presentes en el tracto digestivo superior humano (intestino delgado y estómago), pero que son fermentables por la flora intestinal humana. El término "unidades de monosa" hace referencia a unidades que tienen una estructura de anillo cerrado, preferiblemente hexosa, p.ej. las formas de piranosa o furanosa. Los oligosacáridos particularmente preferidos para uso en la combinación con el GOS en las composiciones nutricionales de la presente divulgación incluyen fructooligosacáridos (FOS), fructooligosacáridos de cadena corta, inulina, polidextrosa (PDX), hidrolizado de pectina y fibra de goma.

15

20

Probióticos

25

Las composiciones nutricionales de la presente divulgación pueden comprender además uno o más probióticos además del GOS.

Los ejemplos no limitantes de cepas probióticas adecuadas para uso en las composiciones nutricionales que incluyen GOS de la presente memoria incluyen el género *Lactobacillus* incluyendo *L. acidophilus*, *L. amylovorus*, *L. brevis*, *L. bulgaricus*, *L. casei* spp. *casei*, *L. casei* spp. *rhamnosus*, *L. crispatus*, *L. delbrueckii* ssp. *lactis*, *L. fermentum*, *L. helveticus*, *L. johnsonii*, *L. paracasei*, *L. pentosus*, *L. plantarum*, *L. reuteri*, y *L. sake*; el género *Bifidobacterium*, incluyendo: *B. animalis*, *B. bifidum*, *B. breve*, *B. infantis*, *B. lactis* y *B. longum*; el género *Pediococcus* incluyendo: *P. acidilactici*; el género *Propionibacterium* incluyendo: *P. acidipropionici*, *P. freudenreichii*, *P. jensenii*, y *P. theonii*; y el género *Streptococcus*, incluyendo: *S. cremoris*, *S. lactis*, y *S. thermophilus*. Los probióticos particularmente preferidos incluyen *B. lactis* y *L. acidophilus*.

30

35

Los probióticos pueden estar presentes en las composiciones nutricionales en una cantidad total de al menos aproximadamente 10^4 UFC/g de composición, incluyendo de aproximadamente 10^4 UFC/g de composición a aproximadamente 10^{11} UFC/g de composición, e incluyendo de aproximadamente 10^5 UFC/g de composición a aproximadamente 10^{10} UFC/g de composición.

40

Macronutrientes

Las composiciones nutricionales que incluyen el GOS pueden formularse para incluir al menos uno de proteína, grasa y carbohidrato. En muchas realizaciones, las composiciones nutricionales incluirán el GOS en combinación con proteína, carbohidrato y grasa.

45

Aunque las concentraciones o cantidades totales de grasa, proteína y carbohidratos pueden variar dependiendo del tipo de producto (es decir, fortificante de leche humana, leche maternizada para bebés prematuros, leche maternizada, leche para niños pequeños, leche pediátrica, leche de continuación, producto nutricional para adultos, etc.), la forma de producto (es decir, sólido, polvo, líquido listo para usar o líquido concentrado nutricional) y las necesidades dietéticas diana del usuario pretendido, tales concentraciones o cantidades entrarán lo más típicamente dentro de uno de los siguientes intervalos expresados, incluyendo cualquier otro ingrediente de grasa, proteína y/o carbohidrato esencial como se describe en la presente memoria.

50

55

Para las leches maternizadas líquidas para bebés prematuros y a término, las concentraciones de carbohidrato (incluyendo tanto GOS como cualquier otra fuente de carbohidrato/oligosacárido) oscilarán lo más típicamente de aproximadamente 5 % a aproximadamente 40 %, incluyendo de aproximadamente 7 % a aproximadamente 30 %, incluyendo de aproximadamente 10 % a aproximadamente 25 % en peso de la leche maternizada para bebés prematuros o a término; las concentraciones de grasa oscilan lo más típicamente de aproximadamente 1 % a

60

aproximadamente 30 %, incluyendo de aproximadamente 2 % a aproximadamente 15 %, e incluyendo también de aproximadamente 3 % a aproximadamente 10 % en peso de la leche maternizada para bebés prematuros o a término; y las concentraciones de proteína oscilan lo más típicamente de aproximadamente 0,5 % a aproximadamente 30 %, incluyendo de aproximadamente 1 % a aproximadamente 15 %, e incluyendo también de aproximadamente 2 % a aproximadamente 10 % en peso de leche maternizada para bebés prematuros o a término.

Para los fortificantes de leche humana líquidos, las concentraciones de carbohidrato (incluyendo tanto GOS como cualquier otra fuente de carbohidrato/oligosacárido) oscilan lo más típicamente de aproximadamente 10 % a aproximadamente 75 %, incluyendo de aproximadamente 10 % a aproximadamente 50 %, incluyendo de aproximadamente 20 % a aproximadamente 40 % en peso del fortificante de leche humana; las concentraciones de grasa oscilan lo más típicamente de aproximadamente 10 % a aproximadamente 40 %, incluyendo de aproximadamente 15 % a aproximadamente 37 %, e incluyendo también de aproximadamente 18 % a aproximadamente 30 % en peso del fortificante de leche humana; y las concentraciones de proteína oscilan lo más típicamente de aproximadamente 5 % a aproximadamente 40 %, incluyendo de aproximadamente 10 % a aproximadamente 30 %, e incluyendo también de aproximadamente 15 % a aproximadamente 25 % en peso del fortificante de leche humana.

Para los líquidos nutricionales para adultos, las concentraciones de carbohidrato (incluyendo tanto GOS como cualquier otra fuente de carbohidrato/oligosacárido) oscilan lo más típicamente de aproximadamente 5 % a aproximadamente 40 %, incluyendo de aproximadamente 7 % a aproximadamente 30 %, incluyendo de aproximadamente 10 % a aproximadamente 25 % en peso del producto nutricional para adultos; las concentraciones de grasa oscilan lo más típicamente de aproximadamente 2 % a aproximadamente 30 %, incluyendo de aproximadamente 3 % a aproximadamente 15 %, e incluyendo también de aproximadamente 5 % a aproximadamente 10 % en peso del producto nutricional para adultos; y las concentraciones de proteína oscilan lo más típicamente de aproximadamente 0,5 % a aproximadamente 30 %, incluyendo de aproximadamente 1 % a aproximadamente 15 %, e incluyendo también de aproximadamente 2 % a aproximadamente 10 % en peso del producto nutricional para adultos.

La cantidad de carbohidratos, grasas y/o proteínas en cualquiera de las composiciones nutricionales líquidas descritas en la presente memoria puede caracterizarse también además, o como alternativa, como un porcentaje de las calorías totales en la composición nutricional líquida como se expone en la siguiente tabla. Estos macronutrientes para las composiciones nutricionales líquidas de la presente divulgación se formulan lo más típicamente dentro de cualquiera de los intervalos calóricos (realizaciones A-F) descritos en la siguiente tabla (cada valor numérico está precedido por el término "aproximadamente").

% de cal. totales del nutriente	Realización A	Realización B	Realización C
Carbohidrato	0-98	2-96	10-75
Proteína	0-98	2-96	5-70
Grasa	0-98	2-96	20-85
	Realización D	Realización E	Realización F
Carbohidrato	30-50	25-50	25-50
Proteína	15-35	10-30	5-30
Grasa	35-55	1-20	2-20

En un ejemplo específico, las leches maternizadas líquidas (tanto listas para usar como líquidos concentrados) incluyen aquellas realizaciones en que el componente de proteína puede comprender de aproximadamente 7,5 % a aproximadamente 25 % del contenido calórico de la leche; el componente de carbohidrato (incluyendo tanto GOS como cualquier otra fuente de carbohidrato/oligosacárido) puede comprender de aproximadamente 35 % a aproximadamente 50 % del contenido calórico total de la leche maternizada; y el componente de grasa puede comprender de aproximadamente 30 % a aproximadamente 60 % del contenido calórico total de la leche maternizada. Estos intervalos se proporcionan solo como ejemplo, y no se pretende que sean limitantes. Se señalan intervalos adecuados adicionales en la siguiente tabla (cada valor numérico está precedido por el término "aproximadamente").

% de cal. totales del nutriente	Realización G	Realización H	Realización I
Carbohidratos:	20-85	30-60	35-55
Grasa:	5-70	20-60	25-50
Proteína:	2-75	5-50	7-40

5 Cuando la composición nutricional es una leche maternizada en polvo para bebés prematuros o a término, el componente de proteína está presente en una cantidad de aproximadamente 5 % a aproximadamente 35 %, incluyendo de aproximadamente 8 % a aproximadamente 12 %, e incluyendo de aproximadamente 10 % a aproximadamente 12 % en peso de la leche maternizada para bebés prematuros o a término; el componente de
 10 grasa está presente en una cantidad de aproximadamente 10 % a aproximadamente 35 %, incluyendo de aproximadamente 25 % a aproximadamente 30 %, e incluyendo de aproximadamente 26 % a aproximadamente 28 % en peso de la leche maternizada para bebés prematuros o a término; y el componente de carbohidrato (incluyendo tanto GOS como cualquier otra fuente de carbohidrato/oligosacárido) está presente en una cantidad de aproximadamente 30 % a aproximadamente 85 %, incluyendo de aproximadamente 45 % a aproximadamente 60 %, incluyendo de aproximadamente 50 % a aproximadamente 55 % en peso de la leche maternizada para bebés prematuros o a término.

15 Para fortificantes de leche humana en polvo, el componente de proteína está presente en una cantidad de aproximadamente 1 % a aproximadamente 55 %, incluyendo de aproximadamente 10 % a aproximadamente 50 %, e incluyendo de aproximadamente 10 % a aproximadamente 30 % en peso del fortificante de leche humana; el componente de grasa está presente en una cantidad de aproximadamente 1 % a aproximadamente 30 %, incluyendo de aproximadamente 1 % a aproximadamente 25 %, e incluyendo de aproximadamente 1 % a aproximadamente 20 % en peso del fortificante de leche humana; y el componente de carbohidrato (incluyendo tanto GOS como cualquier otra fuente de carbohidrato/oligosacárido) está presente en una cantidad de aproximadamente
 20 15 % a aproximadamente 75 %, incluyendo de aproximadamente 15 % a aproximadamente 60 %, incluyendo de aproximadamente 20 % a aproximadamente 50 % en peso del fortificante de leche humana.

25 Para productos nutricionales para adultos, el componente de proteína está presente en una cantidad de aproximadamente 10 % a aproximadamente 90 %, incluyendo de aproximadamente 30 % a aproximadamente 80 %, e incluyendo de aproximadamente 40 % a aproximadamente 75 % en peso del producto nutricional para adultos; el componente de grasa está presente en una cantidad de aproximadamente 0,5 % a aproximadamente 20 %, incluyendo de aproximadamente 1 % a aproximadamente 10 %, e incluyendo de aproximadamente 2 % a aproximadamente 5 % en peso del producto nutricional para adultos; y el componente de carbohidrato (incluyendo tanto GOS como cualquier otra fuente de carbohidrato/oligosacárido) está presente en una cantidad de
 30 aproximadamente 5 % a aproximadamente 40 %, incluyendo de aproximadamente 7 % a aproximadamente 30 %, incluyendo de aproximadamente 10 % a aproximadamente 25 % en peso del producto nutricional para adultos.

35 La cantidad o concentración total de grasa, carbohidrato y proteína en las composiciones nutricionales en polvo de la presente divulgación puede variar considerablemente dependiendo de la composición seleccionada y de las necesidades dietéticas o médicas del usuario pretendido. Se exponen a continuación ejemplos adecuados de concentraciones de macronutrientes. En este contexto, la cantidad o concentración total hace referencia a todas las fuentes de grasa, carbohidrato y proteína en la composición en polvo. Para composiciones nutricionales en polvo, tales cantidades o concentraciones totales se formulan lo más típica y preferiblemente dentro de cualquiera de los intervalos expresados descritos en la siguiente tabla (cada valor numérico está precedido por el término
 40 "aproximadamente").

% de cal. totales del nutriente	Realización J	Realización K	Realización L
Carbohidrato	1-85	30-60	35-55
Grasa	5-70	20-60	25-50
Proteína	2-75	5-50	7-40

Grasa

45 Las composiciones nutricionales de la presente divulgación pueden comprender opcionalmente cualquier fuente o fuentes de grasa. Las fuentes adecuadas de grasa para uso en la presente memoria incluyen cualquier grasa o fuente de grasa que sea adecuada para uso en una composición nutricional oral y que sea compatible con los elementos y rasgos esenciales de tal composición. Por ejemplo, en una realización específica, la grasa deriva de ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga (AGPICL).
 50

Los AGPICL ejemplares para uso en las composiciones nutricionales incluyen, por ejemplo, AGPICL ω -3 y AGPICL ω -6. Los AGPICL específicos incluyen ácido docosahexanoico (DHA), ácido eicosapentenoico (EPA), ácido araquidónico (ARA), ácido linoleico, ácido linolénico (ácido alfa-linolénico) y ácido gamma-linolénico derivados de fuentes de aceite tales como aceites vegetales, plancton marino, aceites fúngicos y aceites de pescado. En una
 55 realización particular, los AGPICL derivan de aceites de pescado tales como aceite de lacha, salmón, anchoa, bacalao, fletán, atún o arenque. Los AGPICL particularmente preferidos para uso en las composiciones nutricionales con los OLH incluyen DHA, ARA, EPA y combinaciones de los mismos.

Para reducir los efectos secundarios potenciales de las altas dosificaciones de AGPICKL en las composiciones nutricionales, el contenido de AGPICKL no supera preferiblemente el 3 % en peso del contenido de grasa total, incluyendo por debajo del 2 % en peso del contenido de grasa total e incluyendo por debajo del 1 % en peso del contenido de grasa total en la composición nutricional.

Los AGPICKL pueden proporcionarse como ácidos grasos libres, en forma triglicérida, en forma diglicérida, en forma monoglicérida, en forma fosfolipídica o como una mezcla de una o más de las anteriores, preferiblemente en forma triglicérida. En otra realización específica, la grasa deriva de ácidos grasos de cadena corta.

Los ejemplos no limitantes adicionales de grasas adecuadas o fuentes de las mismas para uso en las composiciones nutricionales descritas en la presente memoria incluyen aceite de coco, aceite de coco fraccionado, aceite de soja, aceite de maíz, aceite de oliva, aceite de cártamo, aceite de cártamo rico en oleico, ácidos oleicos (EMERSOL 6313 OLEIC ACID; Cognis Oleochemicals, Malasia), aceite de TCM (triglicéridos de cadena media), aceite de girasol, aceite de girasol rico en oleico, aceites de palma y de semilla de palma, oleína de palma, aceite de colza, aceites marinos, aceites de pescado, aceites fúngicos, aceites de algas, aceites de semilla de algodón y combinaciones de los mismos.

Proteína

Las composiciones nutricionales de la presente divulgación pueden comprender opcionalmente además proteína. Es adecuada para uso en las composiciones nutricionales cualquier fuente de proteína que sea adecuada para uso en composiciones nutricionales orales y que sea compatible con los elementos y rasgos esenciales de tales composiciones.

Los ejemplos no limitantes de proteínas adecuadas o fuentes de las mismas para uso en las composiciones nutricionales incluyen proteínas hidrolizadas, parcialmente hidrolizadas o no hidrolizadas o fuentes de proteína que pueden derivar de cualquier fuente conocida o adecuada de otro modo tal como leche (p.ej., caseína, suero), animal (p.ej., carne, pescado), cereal (p.ej., arroz, maíz), vegetal (p.ej. soja) o combinaciones de las mismas. Los ejemplos no limitantes de tales proteínas incluyen aislamientos de proteína de leche, concentrados de proteína de leche como se describen en la presente memoria, aislamientos de proteína caseína, caseína hidrolizada extensamente, proteína de suero, caseinatos de sodio o calcio, leche de vaca entera, leche parcial o completamente desnatada, aislamientos de proteína de soja, concentrados de proteína de soja y demás. En una realización específica, las composiciones nutricionales incluyen una fuente de proteína derivada de proteínas de leche de origen humano y/o bovino.

En una realización, la fuente de proteína es un hidrolizado de proteína hidrolizada. En este contexto, los términos "proteína hidrolizada" o "hidrolizados de proteína" se usan intercambiamente en la presente memoria e incluyen proteínas extensamente hidrolizadas, donde el grado de hidrólisis es lo más a menudo de al menos aproximadamente 20 %, incluyendo de aproximadamente 20 % a aproximadamente 80 %, e incluyendo también de aproximadamente 30 % a aproximadamente 80 %, incluso más preferiblemente de aproximadamente 40 % a aproximadamente 60 %. El grado de hidrólisis es la extensión en que se rompen los enlaces peptídicos mediante un procedimiento de hidrólisis. El grado de hidrólisis de proteína con fines de caracterizar el componente de proteína hidrolizado extensamente de estas realizaciones se determina fácilmente por un especialista en las técnicas de formulación cuantificando la relación de nitrógeno de amino a nitrógeno total (NA/NT) del componente de proteína de la formulación líquida seleccionada. El componente de nitrógeno de amino se cuantifica por procedimientos de titulación de la USP para determinar el contenido de nitrógeno de amino, mientras que el componente de nitrógeno total se determina mediante el procedimiento de Tecator Kjeldahl, todos los cuales son procedimientos bien conocidos para un especialista en las técnicas de la química analítica.

Las proteínas hidrolizadas adecuadas pueden incluir hidrolizado de proteína de soja, hidrolizado de proteína caseína, hidrolizado de proteína de suero, hidrolizado de proteína de arroz, hidrolizado de proteína de patata, hidrolizado de proteína de pescado, hidrolizado de albúmina de huevo, hidrolizado de proteína gelatina, combinaciones de hidrolizados de proteína animales y vegetales y combinaciones de los mismos. Los hidrolizados de proteína particularmente preferidos incluyen hidrolizado de proteína de suero y caseinato de sodio hidrolizado.

Cuando se usa en composiciones nutricionales, la fuente de proteína puede incluir al menos aproximadamente un 20 % (en peso de proteína total) de hidrolizado de proteína, incluyendo de aproximadamente 30 % a 100 % (en peso de proteína total) de hidrolizado de proteína, e incluyendo de aproximadamente 40 % a aproximadamente 80 % (en peso de proteína total) de hidrolizado de proteína, e incluyendo aproximadamente 50 % (en peso de proteína total) de hidrolizado de proteína. En una realización particular, la composición nutricional incluye 100 % (en peso de

proteína total) de hidrolizado de proteína.

Carbohidrato

- 5 Además del GOS, las composiciones nutricionales de la presente divulgación pueden comprender opcionalmente además cualquier otro carbohidrato que sea adecuado para uso en una composición nutricional oral y que sea compatible con los elementos y rasgos esenciales de tales composiciones.

Los ejemplos no limitantes de carbohidratos adecuados o fuentes de los mismos para uso en las composiciones
 10 nutricionales descritas en la presente memoria pueden incluir maltodextrina, almidón hidrolizado o modificado o almidón de maíz, polímeros de glucosa, jarabe de maíz, sólidos de jarabe de maíz, carbohidratos derivados de arroz, carbohidratos derivados de guisante, carbohidratos derivados de patata, tapioca, sacarosa, glucosa, fructosa, lactosa, jarabe de maíz rico en fructosa, miel, alcoholes de azúcar (p.ej., maltitol, eritritol, sorbitol), edulcorantes artificiales (p.ej., sucralosa, acesulfamo de potasio, estevia) y combinaciones de los mismos. Es un carbohidrato
 15 particularmente deseable la maltodextrina de bajo equivalente de dextrosa (DE).

Otros ingredientes opcionales

Las composiciones nutricionales de la presente divulgación pueden comprender además otros componentes
 20 opcionales que pueden modificar las características físicas, químicas, estéticas o de procesamiento de las composiciones o servir como componentes farmacéuticos o nutricionales adicionales cuando se usan en la población diana. Muchos de tales ingredientes opcionales son conocidos o adecuados de otro modo para uso en alimentos médicos u otros productos nutricionales o formas de dosificación farmacéutica y pueden usarse también en las composiciones de la presente memoria, a condición de que tales ingredientes opcionales sean seguros para
 25 administración oral y sean compatibles con los ingredientes esenciales y otros en la forma de producto seleccionada.

Los ejemplos no limitantes de tales ingredientes opcionales incluyen oligosacáridos de leche humana, conservantes
 30 agentes emulsionantes, tampones, principios activos farmacéuticos, agentes antiinflamatorios, nutrientes adicionales como se describen en la presente memoria, colorantes, aromas, agentes espesantes y estabilizantes, agentes emulsionantes, lubricantes y demás.

Las composiciones nutricionales pueden comprender además un agente edulcorante, preferiblemente incluyendo al
 menos un alcohol de azúcar tal como maltitol, eritritol, sorbitol, xilitol, manitol, isomaltitol y lactitol, e incluyendo
 preferiblemente también al menos un edulcorante artificial o de alta potencia tal como acesulfamo de potasio,
 35 aspartamo, sucralosa, sacarina, estevia y tagatosa. Estos agentes edulcorantes, especialmente como combinación de un alcohol de azúcar y un edulcorante artificial, son especialmente útiles en la formulación de realizaciones de bebida líquida de la presente divulgación que tienen un perfil de aroma deseable. Estas combinaciones de edulcorante son especialmente efectivas para enmascarar aromas indeseables asociados a veces a la adición de proteínas vegetales a una bebida líquida. Las concentraciones de alcohol de azúcar opcionales en la composición
 40 nutricional pueden oscilar de al menos 0,01 %, incluyendo de 0,1 % a aproximadamente 10 %, e incluyendo también de aproximadamente 1 % a aproximadamente 6 % en peso de la composición nutricional. Las concentraciones de edulcorante artificial opcional pueden oscilar de aproximadamente 0,01 %, incluyendo de aproximadamente 0,05 % a aproximadamente 5 %, incluyendo también de aproximadamente 0,1 % a aproximadamente 1,0 % en peso de la composición nutricional.

45 Puede incluirse un agente de flujo o agente antiapelmazamiento en las composiciones nutricionales como se describen en la presente memoria para retardar la aglutinación o apelmazamiento del polvo con el tiempo y para hacer que una realización en polvo fluya fácilmente de su envase. Cualquier agente de flujo o antiapelmazamiento conocido que sea conocido o adecuado de otro modo para uso en un polvo o forma de producto nutricional es
 50 adecuado para uso en la presente memoria, cuyos ejemplos no limitantes incluyen fosfato tricálcico, silicatos y combinaciones de los mismos. La concentración del agente de flujo o agente antiapelmazamiento en la composición nutricional varía dependiendo de la forma de producto, los demás ingredientes seleccionados, las propiedades de flujo deseadas y demás, pero lo más típicamente oscila de aproximadamente 0,1 % a aproximadamente 4 %, incluyendo de aproximadamente 0,5 % a aproximadamente 2 % en peso de la composición nutricional.

55 Puede incluirse también un estabilizante en las composiciones nutricionales. Cualquier estabilizante que sea conocido o adecuado de otro modo para uso en una composición nutricional es también adecuado para uso en la presente memoria, incluyendo algunos ejemplos no limitantes gomas tales como goma xantana. El estabilizante puede representar de aproximadamente 0,1 % a aproximadamente 5,0 %, incluyendo de aproximadamente 0,5 % a
 60 aproximadamente 3 %, incluyendo de aproximadamente 0,7 % a aproximadamente 1,5 % en peso de la composición nutricional.

Adicionalmente, las composiciones nutricionales pueden comprender uno o más antioxidantes para proporcionar apoyo nutricional, así como para reducir el estrés oxidativo. Puede incluirse cualquier antioxidante adecuado para administración oral en las composiciones nutricionales de la presente divulgación, incluyendo por ejemplo vitamina 5 A, vitamina E, vitamina C, retinol, tocoferol y carotenoides.

En una realización específica, los antioxidantes para uso en las composiciones nutricionales incluyen carotenoides tales como luteína, zeaxantina, licopeno, beta-caroteno y combinaciones de los mismos, y particularmente combinaciones de los carotenoides luteína, licopeno y beta-caroteno. Las composiciones nutricionales que contienen 10 estas combinaciones, como se seleccionan y definen en la presente memoria, pueden usarse para modular la inflamación y/o los niveles de proteína C reactiva en lactantes prematuros y a término.

Las composiciones nutricionales pueden comprender además cualquiera de una variedad de otras vitaminas o nutrientes relacionados, incluyendo los ejemplos no limitantes de los mismos vitamina D, vitamina K, tiamina, 15 riboflavina, piridoxina, vitamina B₁₂, niacina, ácido fólico, ácido pantoténico, biotina, colina, inositol, sales y derivados de los mismos y combinaciones de los mismos.

Las composiciones nutricionales pueden comprender además cualquiera de una variedad de otros minerales adicionales, incluyendo los ejemplos no limitantes de los mismos calcio, fósforo, magnesio, hierro, cinc, manganeso, 20 cobre, sodio, potasio, molibdeno, cromo, cloruro y combinaciones de los mismos.

Las composiciones nutricionales de la presente divulgación pueden comprender adicionalmente nucleótidos y/o precursores nucleotídicos seleccionados de entre el grupo consistente en nucleósido, base de purina, base de pirimidina, ribosa y desoxirribosa para mejorar adicionalmente la integridad y/o maduración de la barrera intestinal. El 25 nucleótido puede estar en forma monofosfato, difosfato o trifosfato. El nucleótido puede ser un ribonucleótido o un desoxirribonucleótido. Los nucleótidos pueden ser monoméricos, diméricos o poliméricos (incluyendo ARN y ADN). El nucleótido puede estar presente en la composición nutricional en forma de ácido libre o en forma de una sal, preferiblemente una sal monosódica.

30 Las nucleótidos y/o nucleósidos adecuados para uso en las composiciones nutricionales incluyen uno o más de 5'-monofosfato de citidina, 5'-monofosfato de uridina, 5'-monofosfato de adenosina, 5'-1-monofosfato de guanosina y/o 5'-monofosfato de inosina, más preferiblemente 5'-monofosfato de citidina, 5'-monofosfato de uridina, 5'-monofosfato de adenosina, 5'-monofosfato de guanosina y 5'-monofosfato de inosina.

35 **Procedimientos de fabricación**

Las composiciones nutricionales de la presente divulgación pueden prepararse mediante cualquier técnica de fabricación conocida o efectiva de otro modo para preparar la forma sólida o líquida del producto seleccionado. Son 40 conocidas muchas de tales técnicas para cualquier forma de producto dado, tales como líquidos o polvos nutricionales, y pueden aplicarse fácilmente por un especialista en la materia a las composiciones nutricionales descritas en la presente memoria.

Las composiciones nutricionales de la presente divulgación pueden prepararse por lo tanto mediante cualquiera de una variedad de procedimientos de formulación o fabricación conocidos o efectivos de otro modo. En un proceso de 45 fabricación adecuado, por ejemplo, se preparan al menos tres suspensiones separadas, incluyendo una suspensión de proteína en grasa (PEG), una suspensión de carbohidrato-mineral (CHO-MIN) y una suspensión de proteína en agua (PEA). La suspensión de PEG se forma calentando y mezclando el aceite (p.ej., aceite de colza, aceite de maíz, etc.) y añadiendo entonces un emulsionante (p.ej. lecitina), vitaminas liposolubles y una porción de la proteína total (p.ej., concentrado de proteína de leche, etc.) con calor y agitación continuos. La suspensión de CHO-MIN se 50 forma añadiendo con agitación y calentamiento a agua: minerales (p.ej., citrato de potasio, fosfato dipotásico, citrato de sodio, etc.), oligominerales y ultraoligominerales (premezcla de OM/UOM), agentes espesantes o de suspensión (p.ej. Avicel, gelano y carragenano). La suspensión de CHO-MIN resultante se mantiene durante 10 minutos con calor y agitación continuos antes de añadir minerales adicionales (p.ej., cloruro de potasio, carbonato de magnesio, yoduro de potasio, etc.) y/o carbohidratos (p.ej., GOS, OLH, fructoligosacáridos, sacarosa, jarabe de maíz, etc.). Se 55 forma entonces la suspensión de PEA mezclando con calor y agitación la proteína restante, si la hubiera.

Se combinan entonces las suspensiones resultantes conjuntamente con agitación y calentamiento y se ajusta el pH a 6,6-7,0, después de lo cual se somete la composición a procesamiento de corta duración a alta temperatura (HTST), durante el cual se trata con calor la composición, se emulsiona y se homogeneiza, y se deja entonces 60 enfriar. Se añaden vitaminas hidrosolubles y ácido ascórbico, se ajusta el pH al intervalo deseado si es necesario, se añaden aromas y se añade agua para conseguir el nivel de sólidos totales deseado. Se empaqueta asépticamente

entonces la composición para formar una emulsión nutricional empaquetada asépticamente. Esta emulsión puede diluirse entonces adicionalmente, tratarse con calor y empaquetarse formando un líquido listo para usar o concentrado, o puede tratarse con calor y procesarse posteriormente y empaquetarse en forma de un polvo reconstituible, p.ej., secado por pulverización, mezclado en seco o aglomerado.

5

El sólido nutricional, tal como un polvo nutricional secado por pulverización o polvo nutricional mezclado en seco, puede prepararse mediante cualquier colección de técnicas conocidas o efectivas de otro modo, adecuadas para elaborar y formular un polvo nutricional.

10 Por ejemplo, cuando el polvo nutricional es un polvo nutricional secado por pulverización, la etapa de secado por pulverización puede incluir igualmente cualquier técnica de secado por pulverización que sea conocida o adecuada de otro modo para uso en la producción de polvos nutricionales. Son conocidos muchos procedimientos y técnicas de secado por pulverización diferentes para uso en el campo de la nutrición, todos los cuales son adecuados para uso en la fabricación de los polvos nutricionales secados por pulverización de la presente memoria.

15

Un procedimiento de preparación de polvo nutricional secado por pulverización comprende formar y homogeneizar una suspensión o líquido acuoso que comprende grasa predigerida, y opcionalmente proteína, carbohidrato y otras fuentes de grasa, y secar entonces por pulverización la suspensión o líquido, produciendo un polvo nutricional secado por pulverización. El procedimiento puede comprender además la etapa de secado por pulverización,

20

mezclado en seco o adición de otro modo de ingredientes nutricionales adicionales, incluyendo uno cualquiera o más de los ingredientes descritos en la presente memoria, al polvo nutricional secado por pulverización.

Se describen otros procedimientos adecuados para elaborar composiciones nutricionales, por ejemplo, en la patente de EE.UU. nº 6.365.218 (Borschel y col.), patente de EE.UU. nº 6.589.576 (Borschel y col.), patente de EE.UU. nº 6.306.908 (Carlson y col.), solicitud de patente nº 20030118703 A1 (Nguyen y col.), cuyas descripciones se incorporan a la presente memoria como referencia en la medida en que sean consistentes con la misma.

25

Procedimientos de uso

30 Las composiciones nutricionales como se describen en la presente memoria y que contienen GOS pueden usarse para prevenir una lesión en el tracto gastrointestinal y/o para potenciar la curación de un tracto gastrointestinal lesionado de lactantes prematuros, lactantes, niños pequeños, niños y adultos. Cualquiera de este grupo puede tener realmente un tracto gastrointestinal lesionado y beneficiarse por tanto de la acción curativa de la composición nutricional que contiene GOS, o puede estar en riesgo o ser susceptible de sufrir lesiones en el tracto

35

gastrointestinal y por tanto beneficiarse de la acción preventiva de la composición nutricional que contiene GOS. Las composiciones nutricionales como se describen en la presente memoria comprenden GOS, solo o en combinación con uno o más componentes adicionales tales como un probiótico como se señala anteriormente, proporcionando una fuente nutricional para mejorar al menos la función de reparación/curación intestinal de un individuo. Específicamente, las composiciones nutricionales pueden potenciar la expresión de proteínas asociadas a mucina, tales como factor 3 de trébol (TFF3), mucina 2 (MUC-2) y relm-beta (RELMb) para estabilizar la capa mucosa; promover la curación de células epiteliales; mejorar la función de barrera y reducir la inflamación, potenciando cada una de las mismas la curación global del tejido epitelial y la capa mucosa del estómago, intestino delgado e intestino grueso.

45

Más particularmente, en algunas realizaciones las composiciones nutricionales pueden administrarse a un individuo que ha sufrido una lesión en el tracto gastrointestinal o que es más susceptible o está en riesgo de lesión en el tracto gastrointestinal al haber experimentado diversas terapias que pueden incluir, por ejemplo, terapia antibiótica, radioterapia, quimioterapia o cirugía o por tener diversas enfermedades o trastornos que pueden incluir, por ejemplo,

50

infección entérica, enfermedades intestinales inflamatorias, colitis, obstrucción intestinal y estrés crónico. El individuo consume deseablemente al menos una ración de la composición nutricional que contiene GOS diariamente y, en algunas realizaciones, puede consumir dos, tres o incluso más raciones al día. Cada ración se administra deseablemente como una sola dosis no dividida, aunque la ración puede dividirse también en dos o más raciones parciales o divididas para tomar en dos o más veces durante el día. Los procedimientos de la presente divulgación incluyen administración continua día a día, así como administración periódica o limitada, aunque es generalmente deseable la administración continua día a día.

55

La composición nutricional puede administrarse al individuo por vía oral o por alimentación por sonda. Las composiciones nutricionales de la presente divulgación podrían darse también a lactantes prematuros o a término previamente al inicio de la alimentación entérica y/o concurrentemente con la alimentación. Además, la composición

60

nutricional puede darse a lactantes, niños o adultos previamente a o concurrentemente con la realimentación después de nutrición parenteral parcial o total.

EJEMPLOS

5

Los siguientes ejemplos ilustran realizaciones y/o rasgos específicos de las composiciones nutricionales y procedimientos de la presente divulgación. Los ejemplos se dan únicamente con el fin de ilustración y no han de considerarse como limitaciones de la presente divulgación, ya que son posibles muchas variaciones de los mismos sin apartarse del espíritu y alcance de la divulgación. Todas las cantidades ejemplificadas son porcentajes en peso basados en el peso total de la composición, a menos que se especifique otra cosa.

10

Las composiciones ejemplificadas son composiciones nutricionales estables al almacenamiento preparadas de acuerdo con los procedimientos de fabricación descritos en la presente memoria, de tal modo que cada composición ejemplificada, a menos que se especifique otra cosa, incluye una realización procesada asépticamente y una realización empaquetada con autoclave.

15

Las realizaciones líquidas nutricionales son emulsiones acuosas de aceite en agua que se empaquetan en envases de plástico de 240 ml y permanecen físicamente estables durante 12-18 meses después de dejar la composición/empaquetamiento a temperaturas de almacenamiento que oscilan de 1-25 °C.

20

EJEMPLOS 1-5

Los Ejemplos 1-5 ilustran polvos nutricionales secados por pulverización de la presente divulgación, cuyos ingredientes se enumeran en la tabla siguiente. Todas las cantidades de ingrediente se enumeran como kilogramos por lote de 1000 kilogramos de producto, a menos que se especifique otra cosa.

25

Ingrediente	Ej. 1	Ej.2	Ej. 3	Ej. 4	Ej. 5
Jarabe de maíz	256,86 kg	256,86 kg	256,86 kg	256,86 kg	256,86 kg
Maltodextrina de maíz	216,25 kg	216,25 kg	216,25 kg	216,25 kg	216,25 kg
Sacarosa	177,95 kg	177,95 kg	177,95 kg	177,95 kg	177,95 kg
Aceite de maíz	155,40 kg	155,40 kg	155,40 kg	155,40 kg	155,40 kg
Caseína	132,97 kg	132,97 kg	132,97 kg	132,97 kg	132,97 kg
Aislamiento de proteína de soja	29,84 kg	29,84 kg	29,84 kg	29,84 kg	29,84 kg
Caseinato de calcio	19,46 kg	19,46 kg	19,46 kg	19,46 kg	19,46 kg
Citrato de potasio al 20 %	16,09 kg	16,09 kg	16,09 kg	16,09 kg	16,09 kg
Vainilla	14,55 kg	14,55 kg	14,55 kg	14,55 kg	14,55 kg
Hidróxido de sodio al 20 %	13,77 kg	13,77 kg	13,77 kg	13,77 kg	13,77 kg
Galactoligosacáridos	8 kg	40 kg	80 kg	120 kg	160 kg
Citrato de potasio	7,54 kg	7,54 kg	7,54 kg	7,54 kg	7,54 kg
Cloruro de magnesio	7,53 kg	7,53 kg	7,53 kg	7,53 kg	7,53 kg
Fosfato tricálcico	6,23 kg	6,23 kg	6,23 kg	6,23 kg	6,23 kg
Citrato de sodio	5,66 kg	5,66 kg	5,66 kg	5,66 kg	5,66 kg
Cloruro de potasio	3,79 kg	3,79 kg	3,79 kg	3,79 kg	3,79 kg
Lecitina de soja	3,44 kg	3,44 kg	3,44 kg	3,44 kg	3,44 kg
Ácido ascórbico	1,91 kg	1,91 kg	1,91 kg	1,91 kg	1,91 kg
Cloruro de colina	1,64 kg	1,64 kg	1,64 kg	1,64 kg	1,64 kg
KOH al 45 %	1,26 kg	1,26 kg	1,26 kg	1,26 kg	1,26 kg
Sulfato de cinc	0,1558 kg	0,1558 kg	0,1558 kg	0,1558 kg	0,1558 kg
Sulfato ferroso	0,121700 kg	0,121700 kg	0,121700 kg	0,121700 kg	0,121700 kg
Sulfato de manganeso	0,036900 kg	0,036900 kg	0,036900 kg	0,036900 kg	0,036900 kg
Sulfato cúprico	0,021100 kg	0,021100 kg	0,021100 kg	0,021100 kg	0,021100 kg
Cloruro de cromo	0,001280 kg	0,001280 kg	0,001280 kg	0,001280 kg	0,001280 kg
Molibdato de sodio	0,001012 kg	0,001012 kg	0,001012 kg	0,001012 kg	0,001012 kg
Seleniato de sodio	0,000434 kg	0,000434 kg	0,000434 kg	0,000434 kg	0,000434 kg

ES 2 657 744 T3

	kg	kg	kg	kg	kg
Niacinamida	0,124200 kg	0,124200 kg	0,124200 kg	0,124200 kg	0,124200 kg
D-Pantotenato de calcio	0,083000 kg	0,083000 kg	0,083000 kg	0,083000 kg	0,083000 kg
Clorhidrato de cloruro de tiamina	0,020510 kg	0,020510 kg	0,020510 kg	0,020510 kg	0,020510 kg
Clorhidrato de piridoxina	0,019750 kg	0,019750 kg	0,019750 kg	0,019750 kg	0,019750 kg
Riboflavina	0,016000 kg	0,016000 kg	0,016000 kg	0,016000 kg	0,016000 kg
Ácido fólico	0,002783 kg	0,002783 kg	0,002783 kg	0,002783 kg	0,002783 kg
Biotina	0,002419 kg	0,002419 kg	0,002419 kg	0,002419 kg	0,002419 kg
Cianocobalamina	0,000055 kg	0,000055 kg	0,000055 kg	0,000055 kg	0,000055 kg
Acetato de di-alfa-tocoferilo	0,129600 kg	0,129600 kg	0,129600 kg	0,129600 kg	0,129600 kg
Filoquinona	0,002162 kg	0,002162 kg	0,002162 kg	0,002162 kg	0,002162 kg
Vitamina D3	0,000028 kg	0,000028 kg	0,000028 kg	0,000028 kg	0,000028 kg
Palmitato de vitamina A	0,010373 kg	0,010373 kg	0,010373 kg	0,010373 kg	0,010373 kg
Yoduro de potasio	0,000440 kg	0,000440 kg	0,000440 kg	0,000440 kg	0,000440 kg
AN= según sea necesario					

EJEMPLOS 6-10

Los Ejemplos 6-10 ilustran polvos nutricionales secados por pulverización de la presente divulgación, cuyos 5 ingredientes se enumeran en la tabla siguiente. Todas las cantidades de ingrediente se enumeran como kilogramos por lote de 1000 kilogramos de producto, a menos que se especifique otra cosa.

Ingrediente	Ej. 6	Ej. 7	Ej. 8	Ej. 9	Ej. 10
Leche desnatada	695,30 kg	695,30 kg	695,30 kg	695,30 kg	695,30 kg
Lactosa	380,80 kg	380,80 kg	380,80 kg	380,80 kg	380,80 kg
Aceite de cártamo rico en oleico	118,20 kg	118,20 kg	118,20 kg	118,20 kg	118,20 kg
Aceite de soja	83,62 kg	83,62 kg	83,62 kg	83,62 kg	83,62 kg
Aceite de coco	82,52 kg	82,52 kg	82,52 kg	82,52 kg	82,52 kg
Galactoligosacáridos	8 kg	40 kg	80 kg	120 kg	160 kg
Concentrado de proteína de suero	50,89 kg	50,89 kg	50,89 kg	50,89 kg	50,89 kg
Citrato de potasio	8,93 kg	8,93 kg	8,93 kg	8,93 kg	8,93 kg
Carbonato Cálcico	4,38 kg	4,38 kg	4,38 kg	4,38 kg	4,38 kg
Aceite de ARA	2,86 kg	2,86 kg	2,86 kg	2,86 kg	2,86 kg
Premezcla de nucleótido-colina	2,40 kg	2,40 kg	2,40 kg	2,40 kg	2,40 kg
Ácido ascórbico	1,28 kg	1,28 kg	1,28 kg	1,28 kg	1,28 kg

ES 2 657 744 T3

Cloruro de potasio	1,24 kg				
Lecitina de soja	1,12 kg				
Premezcla de vitamina/mineral/taurina	1,12 kg				
Aceite de DHA	1,07 kg				
Cloruro de magnesio	948,50 g				
Vitamina A, D, E, K1	518,40 g				
Sulfato ferroso	472,40 g				
Cloruro de colina	432,10 g				
Palmitato de ascorbilo	364,90 g				
Cloruro sódico	347,50 g				
Premezcla de carotenoides	187,4 g				
Tocoferoles mixtos	161,20 g				
L-carnitina	26,30 g				
Riboflavina	3,18 g				
Fosfato tricálcico	AN	AN	AN	AN	AN
Fosfato de potasio monobásico	AN	AN	AN	AN	AN
Hidróxido de potasio	AN	AN	AN	AN	AN
AN= según sea necesario					

EJEMPLOS 11-15

Los Ejemplos 11-15 ilustran emulsiones líquidas de la presente divulgación, cuyos ingredientes se enumeran en la tabla a continuación. Todas las cantidades de ingrediente se enumeran como kilogramos por lote de 1000 kilogramos de producto, a menos que se especifique otra cosa.

Ingrediente	Ej. 11	Ej. 12	Ej. 13	Ej. 14	Ej. 15
Agua	793,7 kg				
Leche desgrasada	97,50 kg				
Sólidos de jarabe de maíz	31,90 kg				
Triglicéridos de cadena media	17,20 kg				
Lactosa	16,45 kg				
Concentrado de proteína de suero	12,69 kg				
Galactoligosacáridos	8 kg	40 kg	80 kg	120 kg	160 kg
Aceite de soja	10,30 kg				
Aceite de coco	6,30 kg				
KOH al 5 %	4,86 kg				
Fosfato tricálcico	2,56 kg				
Premezcla de vitamina/mineral/taurina	1,12 kg				

ES 2 657 744 T3

Cloruro de magnesio	405,00 g	405,00 g	405,00 g	405,00 g	405,00 g
Lecitina de soja	364,00 g	364,00 g	364,00 g	364,00 g	364,00 g
Monoglicéridos	364,00 g	364,00 g	364,00 g	364,00 g	364,00 g
Aceite fúngico de AA	364,00 g	364,00 g	364,00 g	364,00 g	364,00 g
Citrato de potasio	340,00 g	340,00 g	340,00 g	340,00 g	340,00 g
Carragenano	300,00 g	300,00 g	300,00 g	300,00 g	300,00 g
Premezcla de nucleótido-colina	293,00 g	293,00 g	293,00 g	293,00 g	293,00 g
Citrato de sodio	250,00 g	250,00 g	250,00 g	250,00 g	250,00 g
Aceite de DHA	230,00 g	230,00 g	230,00 g	230,00 g	230,00 g
Cloruro de potasio	138,00 g	138,00 g	138,00 g	138,00 g	138,00 g
Carbonato Cálcico	101,00 g	101,00 g	101,00 g	101,00 g	101,00 g
Cloruro de magnesio	948,50 g	948,50 g	948,50 g	948,50 g	948,50 g
Suspensión de carotenoides mixtos	110,23 g	110,23 g	110,23 g	110,23 g	110,23 g
Vitamina A, D3, E, K1	82,60 g				
Cloruro de colina	35,48 g				
L-carnitina	30,7 g				
Palmitato de vitamina A	313,00 mg	313,00 mg	313,00 mg	313,00 mg	313,00 mg
Cloruro sódico	AN	AN	AN	AN	AN
Fosfato de potasio	AN	AN	AN	AN	AN
AN= según sea necesario					

EJEMPLOS 16-19

Los Ejemplos 16-19 ilustran fortificantes de leche humana líquidos concentrados de la presente divulgación, cuyos 5 ingredientes se enumeran en la tabla siguiente. Todas las cantidades de ingrediente se enumeran como kilogramos o libras por lote de 18.000 libras de producto, a menos que se especifique otra cosa.

Ingrediente (por 18.000 libras)	Ej. 16	Ej. 17	Ej. 18	Ej. 19
Sólidos de leche desgrasada	7220,00 libras	7220,00 libras	7220,00 libras	7220,00 libras
Sólidos de jarabe de maíz	2870,00 libras	2870,00 libras	2870,00 libras	2870,00 libras
Triglicéridos de cadena media	1760,00 libras	1760,00 libras	1760,00 libras	1760,00 libras
Concentrado de proteína de suero	3410,00 libras	3410,00 libras	3410,00 libras	3410,00 libras
Fosfato tricálcico	701,00 kg	701,00 kg	701,00 kg	701,00 kg
Galactoligosacáridos	164 kg	350 kg	650 kg	818 kg
Citrato de potasio tribásico	224,00 kg	224,00 kg	224,00 kg	224,00 kg
Ácido ascórbico	136,00 kg	136,00 kg	136,00 kg	136,00 kg
Cloruro de magnesio	117,00 kg	117,00 kg	117,00 kg	117,00 kg
Cloruro sódico	4,71 kg	4,71 kg	4,71 kg	4,71 kg
m-Inositol	11,00 kg	11,00 kg	11,00 kg	11,00 kg

Citrato de sodio tribásico	23,90 kg	23,90 kg	23,90 kg	23,90 kg
Sulfato ferroso	4,00 kg	4,00 kg	4,00 kg	4,00 kg
Lecitina de soja	16,80 kg	16,80 kg	16,80 kg	16,80 kg
Sulfato de cinc	11,1 kg	11,1 kg	11,1 kg	11,1 kg
Acetato de vitamina E	7,60 kg	7,60 kg	7,60 kg	7,60 kg
Palmitato de vitamina A	2,40 kg	2,40 kg	2,40 kg	2,40 kg
Niacinamida	9,80 kg	9,80 kg	9,80 kg	9,80 kg
Riboflavina	1,1 kg	1,1 kg	1,1 kg	1,1 kg
Pantotenato de calcio	4,40 kg	4,40 kg	4,40 kg	4,40 kg
Sulfato cúprico	1,800 kg	1,800 kg	1,800 kg	1,800 kg
Clorhidrato de tiamina	776,00 g	776,00 g	776,00 g	776,00 g
Clorhidrato de piridoxina	665,00 g	665,00 g	665,00 g	665,00 g
Vitamina D3	359,00 g	359,00 g	359,00 g	359,00 g
Biotina	82,00 g	82,00 g	82,00 g	82,00 g
Ácido fólico	77,00 g	77,00 g	77,00 g	77,00 g
Cianocobalamina	2,00 g	2,00 g	2,00 g	2,00 g
Filoquinona	27,00 g	27,00 g	27,00 g	27,00 g
Sulfato de manganeso	51,00 g	51,00 g	51,00 g	51,00 g
Seleniato de sodio	1,10 g	1,10 g	1,10 g	1,10 g
Carbonato Cálcico	0-4 kg	0-4 kg	0-4 kg	0-4 kg
Fosfato de potasio monobásico	0-32 kg	0-32 kg	0-32 kg	0-32 kg
Hidróxido de potasio	24,00 kg	24,00 kg	24,00 kg	24,00 kg

EJEMPLO 20

En este Ejemplo, se analiza el efecto de GOS sobre el aumento de la expresión de TFF3 y otras células caliciformes que promueven la curación gastrointestinal.

Se prueba GOS con respecto a su capacidad de inducir la expresión de MUC-2, TFF3, RELMb, CHST5 y GAL3ST2 en el modelo de cultivo en células LS174T humanas de células caliciformes. Se obtiene la línea celular de cáncer colorrectal LS174T humana de la American Type Culture Collection (ATCC). Se mantienen las células LS174T en medio esencial mínimo (MEM) suplementado con 10 % de Fetalplex (Gemini Biosciences), 1,5 g/l de Na₂CO₃, 10 ml/l de solución de penicilina G-estreptomicina (Gemini Bio-products) a 37 °C en 5 % de CO₂. Se obtiene GOS (Purimine GO-P90) de GTC Nutrition (Westchester, IL) y se disuelve en agua de pureza de cultivo celular a la concentración requerida. Se esteriliza por filtración posteriormente la solución y se usa para estudios de cultivo celular. Se mide el nivel de endotoxinas de la solución de GOS por el kit de ensayo LAL (Gen Script) y se encuentra que es menor de 0,5 UE/ml (unidades de endotoxina/ml). Se tratan las células LS174T con los medios descritos anteriormente, pero con o sin 8 g de GOS/l durante 72 horas.

Se recogen las células LS174T, se suspenden en reactivo Trizol y se aísla el ARN total usando el kit RNeasy Plus (Qiagen) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Se determinan la calidad y cantidad de los aislamientos de ARN por Nanodrop (Thermo Fisher Scientific). Se transcriben de forma inversa los aislamientos de ARN usando el kit de transcripción inversa de ADNc de alta capacidad (Applied Biosystems) para crear ADNc, con el que se valora la expresión génica mediante PCR cuantitativa.

Para PCR-TI cuantitativa, se obtienen ensayos de expresión génica de TaqMAN específicos de Applied Biosystems, que incluyen ensayos de expresión para MUC-2 (Hs00159374_m1), TFF3 (Hs00173625_m1), RELMB (Hs00395669_m1), CHST5 (Hs00375495_m1), GAL3ST2 (Hs00223271_m1) y GUSB (Hs99999908_m1). Se practica la PCR instantánea cuantitativa usando la mezcla maestra de PCR TaqMAN (Applied Biosystems). Se ejecutan las reacciones por duplicado en una placa de 384 pocillos usando el sistema de PCR 7900HT Fast Real-Time de Applied Biosystems. Se analizan los resultados usando el software SDS 2.3 y se calculan mediante el procedimiento de delta de delta de Ct. Se normalizan todas las muestras a la expresión de Gus-β y se calcula la inducción en veces frente a controles no tratados. Se expresa la expresión génica como aumento en veces en comparación con células de control libres de GOS. Se repite el experimento tres veces. Los datos representan medias + EEM (n= 3 placas por experimento). Se indican las diferencias estadísticas por diferentes letras (P< 0,05).

Las Figuras 1A-1C representan los resultados de tres experimentos duplicados. En cada experimento, el tratamiento con GOS a un nivel de 8 g/l aumenta consistente y significativamente la expresión del gen de TFF3 6-7 veces en comparación con los cultivos de control. Adicionalmente, la expresión de genes que codifican MUC-2, RELMb y CHST5 aumenta consistente y significativamente en 2-3, 5-9 y 2-3 veces, respectivamente. La expresión aumentada

de genes de células caliciformes es específica y no universal, como se evidencia por la falta de inducción de GAL3ST2 por tratamiento con GOS a 8 g/l.

Estos resultados indican que el GOS promueve la expresión de varios genes implicados en la respuesta de curación del tracto GI. En primer lugar, la expresión de TFF3, que se muestra que GOS potencia, se ha asociado positivamente a la prevención y la restitución del daño gastrointestinal en las células epiteliales del intestino de mamíferos. El tratamiento oral con TFF3 reduce el daño asociado a diferentes formas de colitis en modelos animales. Adicionalmente, los GOS inducen la expresión de MUC-2, que proporciona una barrera que protege al tracto gastrointestinal de infección y otras fuentes de lesión. Además, los GOS inducen la expresión de RELMb, que es una proteína asociada a la resolución de la inflamación. Debido a que el daño de tejido es difícil de curar cuando la inflamación es abundante, los efectos resolutivos de inflamación de RELMb inducidos por GOS apoyan también la curación. El impacto combinado de GOS sobre la expresión de TFF3, MUC-2 y RELMb posibilita un producto que apoya la curación de heridas mediante sus efectos sinérgicos sobre la curación celular, la resolución de la inflamación y la promoción de la función de barrera.

15 **EJEMPLO 21**

En este Ejemplo, se analiza la dependencia de la dosis de la inducción de la expresión de TFF3 y otras células caliciformes que promueven la curación gastrointestinal por GOS.

Se prueba GOS con respecto a su capacidad de inducir de forma dependiente de la dosis la expresión de MUC-2, TFF3, RELMb, CHST5 y GAL3ST2 en el modelo de cultivo en células LS174T humanas de células caliciformes. Se obtiene la línea celular de cáncer colorrectal LS174T humana de la American Type Culture Collection (ATCC). Se mantienen las células LS174T en medio esencial mínimo (MEM) suplementado con 10 % de Fetalplex (Gemini Biosciences), 1,5 g/l de Na₂CO₃, 10 ml/l de solución de penicilina G-estreptomicina (Gemini Bio-products) a 37 °C en 5 % de CO₂. Se obtiene GOS (Purimine GO-P90) de GTC Nutrition (Westchester, IL) y se disuelve en agua de pureza de cultivo celular a la concentración requerida. Se esteriliza por filtración posteriormente la solución y se usa para estudios de cultivo celular. Se mide el nivel de endotoxinas de la solución de GOS por el kit de ensayo LAL (Gen Script) y se encuentra que es menor de 0,5 UE/ml (unidades de endotoxina/ml). Se tratan las células LS174T con los medios descritos anteriormente que contienen 0, 1, 5, 8, 12, 15 o 20 g de GOS/l.

Se recogen las células LS174T, se suspenden en reactivo Trizol y se aísla el ARN total usando el kit RNeasy Plus (Qiagen) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Se determinan la calidad y cantidad de los aislamientos de ARN por Nanodrop (Thermo Fisher Scientific). Se transcriben de forma inversa los aislamientos de ARN usando el kit de transcripción inversa de ADNc de alta capacidad (Applied Biosystems) para crear ADNc, con el que se valora la expresión génica mediante PCR cuantitativa.

Para PCR-TI cuantitativa, se obtienen ensayos de expresión génica de TaqMAN específicos de Applied Biosystems, que incluyen ensayos de expresión para MUC-2 (Hs00159374_m1), TFF3 (Hs00173625_m1), RELMB (Hs00395669_m1), CHST5 (Hs00375495_m1), GAL3ST2 (Hs00223271_m1) y GUSB (Hs99999908_m1). Se practica la PCR instantánea cuantitativa usando la mezcla maestra de PCR TaqMAN (Applied Biosystems). Se ejecutan las reacciones por duplicado en una placa de 384 pocillos usando el sistema de PCR 7900HT Fast Real-Time de Applied Biosystems. Se analizan los resultados usando el software SDS 2.3 y se calculan mediante el procedimiento de delta de delta de Ct. Se normalizan todas las muestras a la expresión de Gus-β y se calcula la inducción en veces frente a controles no tratados. Se expresa la expresión génica como aumento en veces en comparación con células de control libres de GOS. Se repite el experimento tres veces. Los datos representan medias + EEM (n= 3 placas por experimento). Se indican las diferencias estadísticas por diferentes letras (P< 0,05).

Las Figuras 2A-2E representan los resultados combinados de tres experimentos duplicados. Específicamente, la Figura 2B indica un aumento dependiente de la dosis de la expresión de TFF3, con una inducción modesta (~3 veces) señalada a los niveles de tratamiento de 1 mg/ml y 5 mg/ml y aumentos más pronunciados (10-12 veces) a 8 mg/ml y mayores. De forma similar, los niveles de expresión de MUC-2 (Figura 2A), RELMb (Figura 2C) y CHST5 (Figura 2D) están afectados solo modestamente o nada por niveles de GOS de 1-5 mg/ml, pero son notablemente elevados (5-6 veces para MUC-2, 3-4 veces para RELMb y 8-14 veces para CHST5) en respuesta al tratamiento con GOS a niveles de 8 mg/ml o mayores. En contraposición, la expresión génica de GAL3ST2 (Figura 2E) no se influye significativamente a ninguna dosis. Como tal, puede concluirse que el impacto de GOS sobre la expresión de varios genes implicados en la respuesta de curación del tracto gastrointestinal es dependiente de la dosis.

60 **EJEMPLO 22**

En este Ejemplo, se analiza la capacidad de GOS de promover la capacidad de los probióticos de inducir la

expresión de TFF3 y otras células caliciformes que promueven la curación gastrointestinal.

Se prueba GOS con respecto a su impacto sobre la capacidad de los probióticos de inducir la expresión de MUC-2, TFF3, RELMb, CHST5 y GAL3ST2 en el modelo de cultivo en células LS174T humanas de células caliciformes. Se obtiene la línea celular de cáncer colorrectal LS174T humana de la American Type Culture Collection (ATCC). Se mantienen las células LS174T en medio esencial mínimo (MEM) suplementado con 10 % de Fetalplex (Gemini Biosciences), 1,5 g/l de Na₂CO₃, 10 ml/l de solución de penicilina G-estreptomicina (Gemini Bio-products) a 37 °C en 5 % de CO₂. Se obtiene GOS (Purimine GO-P90) de GTC Nutrition (Westchester, IL) y se disuelve en agua de pureza de cultivo celular a la concentración requerida. Se esteriliza por filtración posteriormente la solución y se usa para estudios de cultivo celular. Se mide el nivel de endotoxinas de la solución de GOS por el kit de ensayo LAL (Gen Script) y se encuentra que es menor de 0,5 UE/ml (unidades de endotoxina/ml).

Se hacen crecer cultivos del probiótico *Bifidobacterium lactis* en sMRS suplementado con cisteína 0,5 g/l en presencia de 1 % de glucosa o 1 % de GOS. Se mide la DO del cultivo a 600 nm y, en fase estacionaria, se recoge el sobrenadante de cultivo después de centrifugación a 4000 rpm durante 5 min. Se esteriliza por filtración posteriormente el sobrenadante de cultivo y se liofiliza. El producto liofilizado se denomina en la presente memoria la fracción "posbiótica". Se filtran medios de cultivo bacteriano que contienen 1 % de GOS o 1 % de glucosa, pero no inoculados con *Bifidobacterium lactis*, se liofilizan y se usan como controles para las fracciones posbióticas. Se añaden entonces las fracciones posbióticas y fracciones de control a MEM para representar "posbióticos" y medios de control, respectivamente. Se tratan las células LS174T con posbióticos y medios de control durante 72 horas.

Al final del periodo de incubación, se recogen las células LS174T y se suspenden en reactivo Trizol. Se aísla el ARN total usando el kit RNeasy Plus (Qiagen) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Se determinan la calidad y cantidad de los aislamientos de ARN por Nanodrop (Thermo Fisher Scientific). Se transcriben de forma inversa los aislamientos de ARN usando el kit de transcripción inversa de ADNc de alta capacidad (Applied Biosystems) para crear ADNc, con el que se valora la expresión génica mediante PCR instantánea cuantitativa. Se obtienen ensayos de expresión génica TaqMAN de Applied Biosystems, que incluye ensayos de expresión para MUC-2 (Hs00159374_ml), TFF3 (Hs00173625_ml), RELMB (Hs00395669_ml), CHST5 (Hs00375495_ml), GAL3ST2 (Hs00223271_ml) y GUSB (Hs99999908_ml). Se practica la PCR instantánea cuantitativa usando la mezcla maestra de PCR TaqMAN (Applied Biosystems). Se ejecutan las reacciones por duplicado en una placa de 384 pocillos usando el sistema de PCR 7900HT Fast Real-Time de Applied Biosystems. Se analizan los resultados usando el software SDS 2.3 y se calculan mediante el procedimiento de delta de delta de Ct. Se normalizan todas las muestras a la expresión de Gus-β y se calcula la inducción en veces frente a controles no tratados. Se expresa la expresión génica como aumento en veces en comparación con células de control libres de GOS. Se repite el experimento tres veces. Los datos representan medias + EEM (n= 2-3 placas por experimento). Se indican las diferencias estadísticas por diferentes letras (P< 0,05).

La Figura 3A ilustra el impacto del tratamiento con la fracción posbiótica de *Bifidobacterium lactis* + glucosa frente a la fracción de control sobre la expresión de productos de células caliciformes que promueven la curación gastrointestinal en cultivos de células LS174T. La fracción posbiótica de *Bifidobacterium lactis* + glucosa no afecta a los niveles de expresión de MUC-2, RELMb o CHST5. La expresión de TFF3, sin embargo, se reduce en 2/3 por esta fracción posbiótica. La Figura 3B ilustra el impacto del tratamiento con la fracción posbiótica de *Bifidobacterium lactis* + GOS sobre la expresión de productos de células caliciformes que promueven la curación gastrointestinal en cultivos de células LS174T. La fracción posbiótica reduce significativamente la expresión de MUC-2 (2 veces), RELMb (3 veces), CHST5 (1,5 veces) y no disminuye la expresión de TFF3.

Estos resultados indican que la incubación del probiótico *Bifidobacterium lactis* con GOS da como resultado la producción de un sobrenadante "posbiótico" que induce la expresión de genes que pueden promover la curación gastrointestinal. Esta fracción posbiótica es un modelo de los productos que produciría un probiótico tal como *Bifidobacterium lactis* cuando se expone a GOS en el lumen del tracto gastrointestinal de un lactante. Por lo tanto, estos datos indican que las leches maternizadas alimentadas a lactantes que incluyen GOS en combinación con *Bifidobacterium lactis* proporcionan mayor protección gastrointestinal que aquellas leches dadas con GOS o *Bifidobacterium lactis* solos.

55 **EJEMPLO 23**

En este Ejemplo, se analiza la capacidad de GOS de promover la capacidad de los probióticos de inducir la expresión de TFF3 y otras células caliciformes.

60 Se prueba GOS con respecto a su impacto sobre la capacidad de los probióticos de inducir la expresión de MUC-2, TFF3, RELMb, CHST5 y GAL3ST2 en el modelo de cultivo en células LS174T humanas de células caliciformes. Se

obtiene la línea celular de cáncer colorrectal LS174T humana de la American Type Culture Collection (ATCC). Se mantienen las células LS174T en medio esencial mínimo (MEM) suplementado con 10 % de Fetalplex (Gemini Biosciences), 1,5 g/l de Na₂CO₃, 10 ml/l de solución de penicilina G-estreptomicina (Gemini Bio-products) a 37 °C en 5 % de CO₂. Se obtiene GOS (Purimine GO-P90) de GTC Nutrition (Westchester, IL) y se disuelve en agua de 5 pureza de cultivo celular a la concentración requerida. Se esteriliza por filtración posteriormente la solución y se usa para estudios de cultivo celular. Se mide el nivel de endotoxinas de la solución de GOS por el kit de ensayo LAL (Gen Script) y se encuentra que es menor de 0,5 UE/ml (unidades de endotoxina/ml).

Se hacen crecer cultivos del probiótico *Bifidobacterium lactis* en sMRS suplementado con 0,5 g/l de cisteína en presencia de 1 % de glucosa o 1 % de GOS, mientras que se hacen crecer cultivos del probiótico *Lactobacillus acidophilus* en sMRS en presencia de 1 % de glucosa o 1 % de GOS. Se mide la DO del cultivo a 600 nm y, en fase estacionaria, se recoge el sobrenadante de cultivo después de centrifugación a 4000 rpm durante 5 min. Se esterilizan por filtración posteriormente los sobrenadantes de cultivo y se liofilizan. Los productos liofilizados se denominan en la presente memoria fracción "posbiótica". Se filtran medios de cultivo bacteriano que contienen 1 % de GOS o 1 % de glucosa, pero no inoculados con probiótico, se liofilizan y se usan como controles para las fracciones posbióticas. Se añaden entonces las fracciones posbióticas y fracciones de control a MEM para representar "posbióticos" y medios de control, respectivamente. Se tratan las células LS174T con posbióticos y medios de control durante 72 horas.

Al final del periodo de incubación, se recogen las células LS174T y se suspenden en reactivo Trizol. Se aísla el ARN total usando el kit RNeasy Plus (Qiagen) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Se determinan la calidad y cantidad de los aislamientos de ARN por Nanodrop (Thermo Fisher Scientific). Se transcriben de forma inversa los aislamientos de ARN usando el kit de transcripción inversa de ADNc de alta capacidad (Applied Biosystems) para crear ADNc, con el que se valora la expresión génica mediante PCR instantánea cuantitativa. Se obtienen ensayos de expresión génica de TaqMAN específicos de Applied Biosystems, que incluyen ensayos de expresión para MUC-2 (Hs00159374_m1), TFF3 (Hs00173625_m1), RELMB (Hs00395669_m1), CHST5 (Hs00375495_m1), GAL3ST2 (Hs00223271_m1) y GUSB (Hs99999908_m1). Se practica la PCR instantánea cuantitativa usando la mezcla maestra de PCR TaqMAN (Applied Biosystems). Se ejecutan las reacciones por duplicado en una placa de 384 pocillos usando el sistema de PCR 7900HT Fast Real-Time de Applied Biosystems. Se analizan los resultados usando el software SDS 2.3 y se calculan mediante el procedimiento de delta de delta de Ct. Se normalizan todas las muestras a la expresión de Gus-β y se calcula la inducción en veces frente a controles no tratados. Se expresa la expresión génica como aumento en veces en comparación con células de control libres de GOS. Los datos representan medias + EEM (n= 3). Se indican las diferencias estadísticas por diferentes letras (P< 0,05).

Las Figuras 4A-4E reseñan el impacto del tratamiento con la fracción posbiótica de *B. lactis* o la fracción posbiótica de *L. acidophilus* frente a fracciones de control sobre la expresión de productos de células caliciformes que promueven la curación gastrointestinal en cultivos de células LS174T. El tratamiento de esas células con la fracción posbiótica de *L. acidophilus* aumenta significativamente la expresión de MUC2 y RELMb, pero solo a una dosis alta. El posbiótico de *L. acidophilus* no afecta a la expresión de TFF3, CHST5 o GAL3ST2. El tratamiento de células LS174T con la fracción posbiótica de *B. lactis* aumenta significativamente la expresión de TFF3, RELMb y CHST5, pero solo a la dosis máxima. La expresión de MUC-2 y GAL3ST2 no aumenta significativamente por tratamiento con esa fracción posbiótica.

Estos resultados indican que la incubación del probiótico de *B. lactis* o *L. acidophilus* con GOS da como resultado la producción de un sobrenadante "posbiótico" que induce la expresión de genes que pueden promover la curación gastrointestinal. Esta fracción posbiótica es un modelo de los productos que produciría un probiótico tal como *B. lactis* o *L. acidophilus* cuando se expone a GOS en el lumen del tracto gastrointestinal de un lactante. Por lo tanto, estos datos indican que las leches alimentadas a lactantes que incluyen GOS y *B. lactis* o GOS y *L. acidophilus* proporcionan mayor protección gastrointestinal que aquellas leches dadas con *B. lactis*, *L. acidophilus* o GOS solo.

50

REIVINDICACIONES

1. Una composición nutricional que comprende un galactoligosacárido para uso en un procedimiento de potenciación de la respuesta de curación del tracto gastrointestinal para tratar una lesión en el tracto gastrointestinal de un individuo.
5
2. La composición nutricional de la reivindicación 1, donde el individuo ha sufrido lesión del tracto gastrointestinal del individuo como resultado de al menos uno de terapia antibiótica, radioterapia, quimioterapia, cirugía, infección entérica, enfermedad intestinal inflamatoria, colitis, obstrucción intestinal y estrés crónico.
10
3. La composición nutricional para uso de la reivindicación 1, donde la composición nutricional comprende además al menos un probiótico.
4. La composición nutricional para uso de la reivindicación 1, donde la composición nutricional se selecciona de entre el grupo consistente en un fortificante de leche humana, una leche maternizada, una leche pediátrica, una leche de continuación y una composición nutricional para adultos.
15
5. La composición nutricional para uso de la reivindicación 4, donde la composición nutricional comprende el galactosacárido a una concentración de 8 kg/1000 kg de composición nutricional a 160 kg/1000 kg de composición nutricional.
20
6. La composición nutricional para uso de la reivindicación 1, donde la composición nutricional comprende el galactosacárido a una concentración de 164 kg/8.165 kg (18.000 libras) a aproximadamente 818 kg/8.165 kg (18.000 libras) de la composición nutricional.
25
7. La composición nutricional para uso de la reivindicación 1, donde la composición nutricional comprende además al menos un oligosacárido de leche humana.
8. Una composición nutricional que comprende un galactosacárido para uso en un procedimiento de potenciación de la expresión de una o más proteínas asociadas a mucina para tratar una lesión en el tracto gastrointestinal de un individuo.
30
9. Una composición nutricional de acuerdo con la reivindicación 8, donde potenciar la expresión de una o más proteínas asociadas a mucina reduce la incidencia de inflamación del tracto gastrointestinal de un individuo.
35
10. La composición nutricional para uso de la reivindicación 8, donde la composición nutricional comprende además al menos un probiótico.
11. La composición nutricional para uso de la reivindicación 8, donde la composición nutricional se selecciona de entre el grupo consistente en un fortificante de leche humana, una leche maternizada, una leche pediátrica, una leche de continuación y una composición nutricional para adultos.
40
12. La composición nutricional para uso de la reivindicación 8, donde la composición nutricional comprende el galactosacárido a una concentración de 8 kg/1000 kg de composición nutricional a 160 kg/1000 kg de composición nutricional.
45
13. La composición nutricional para uso de la reivindicación 8, donde la composición nutricional comprende el galactosacárido a una concentración de 164 kg/8.165 kg (18.000 libras) de la composición nutricional a 818 kg/8.165 kg (18.000 libras) de la composición nutricional.
50

FIG. 1A

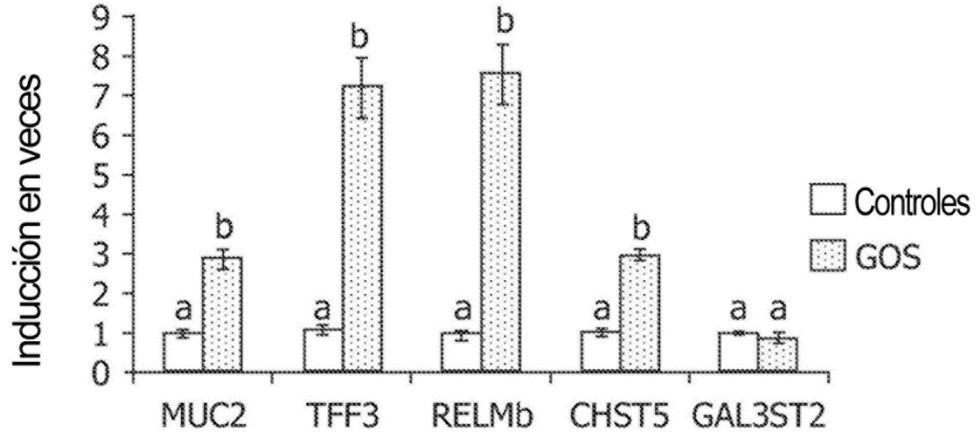


FIG. 1B

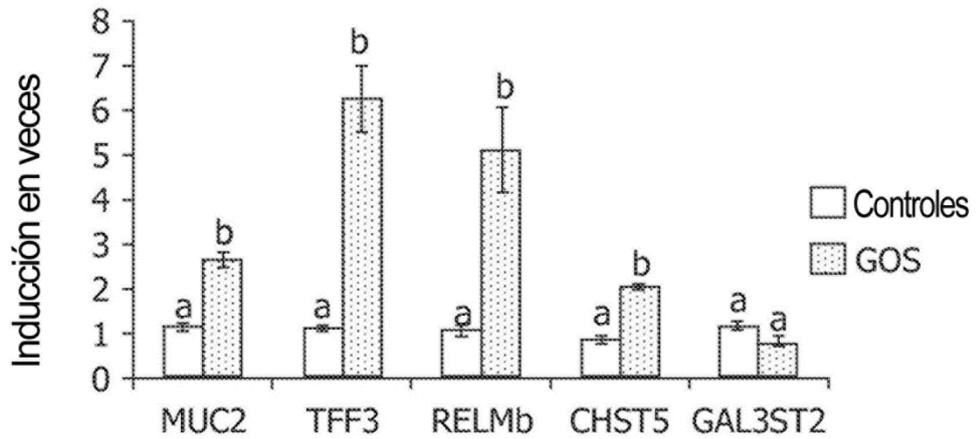


FIG. 1C

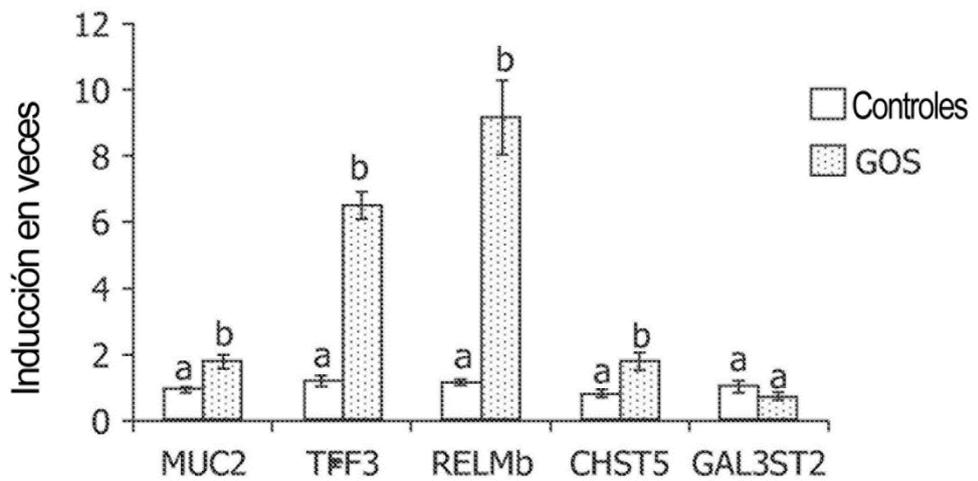


FIG. 2A

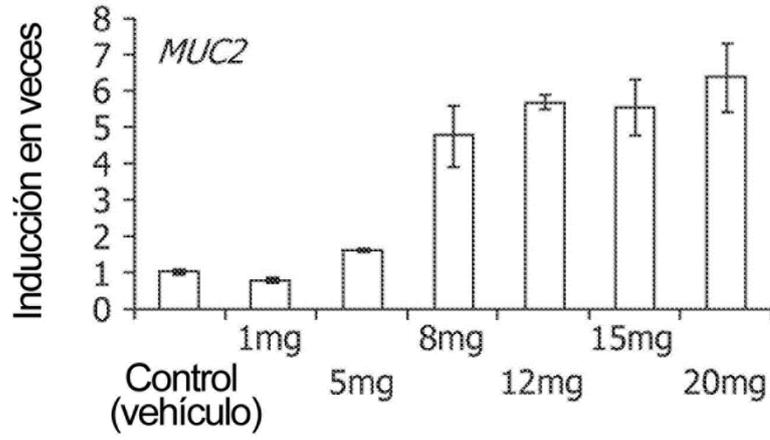


FIG. 2B

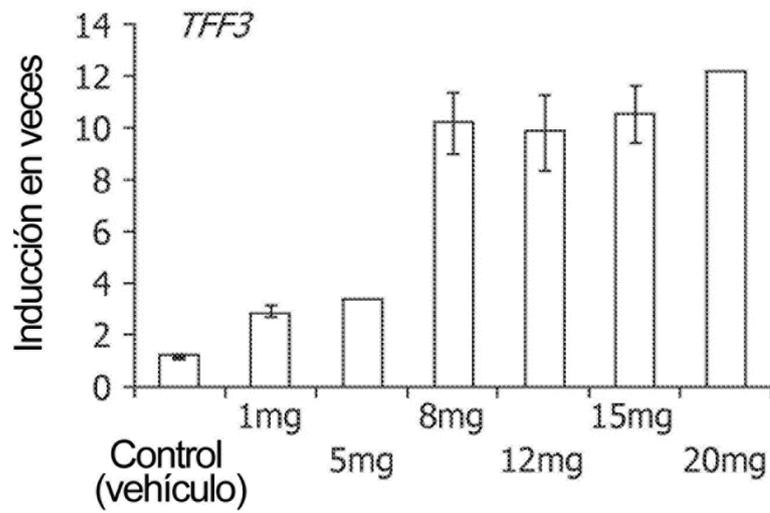


FIG. 2C

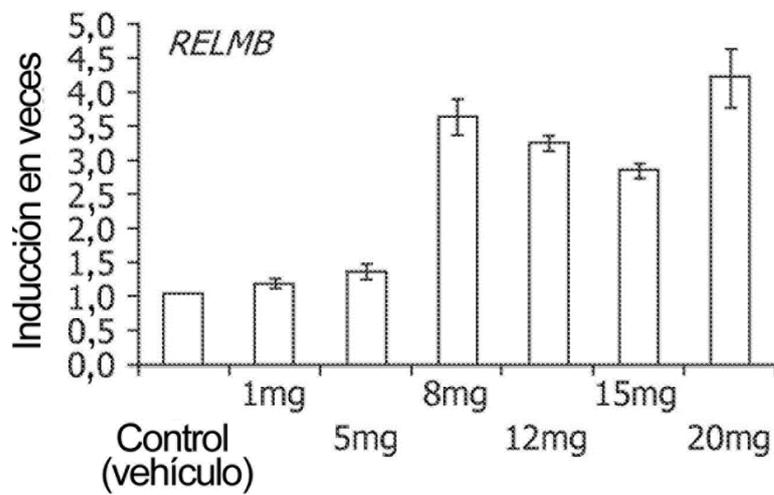


FIG. 2D

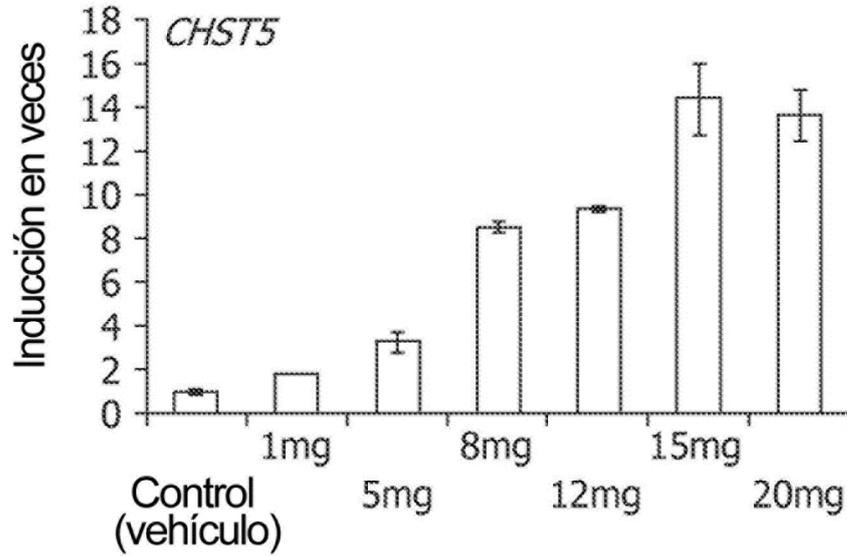


FIG. 2E

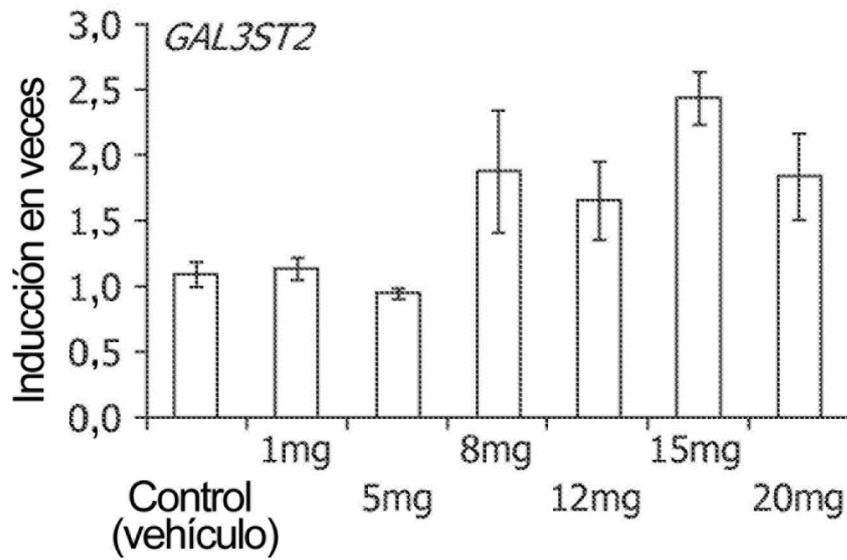


FIG. 3A

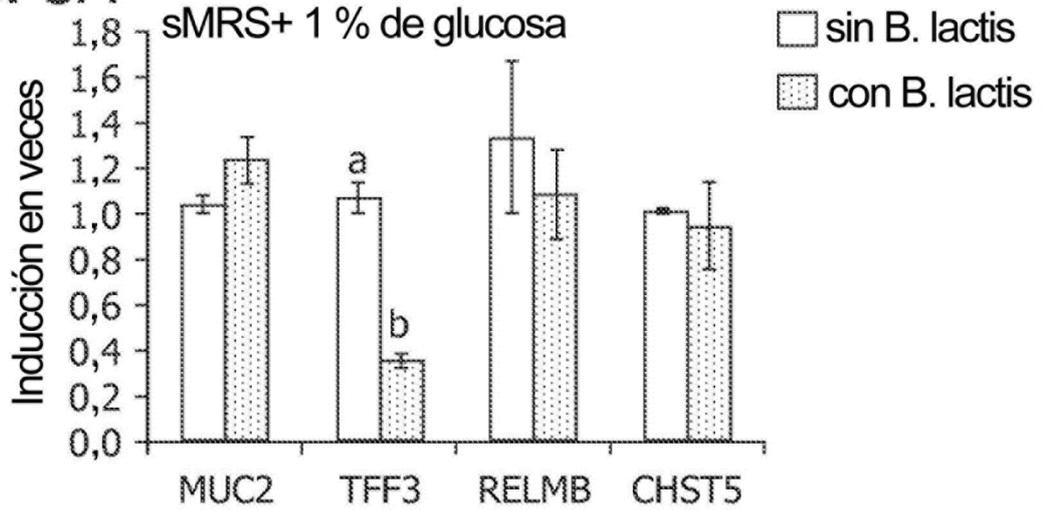


FIG. 3B

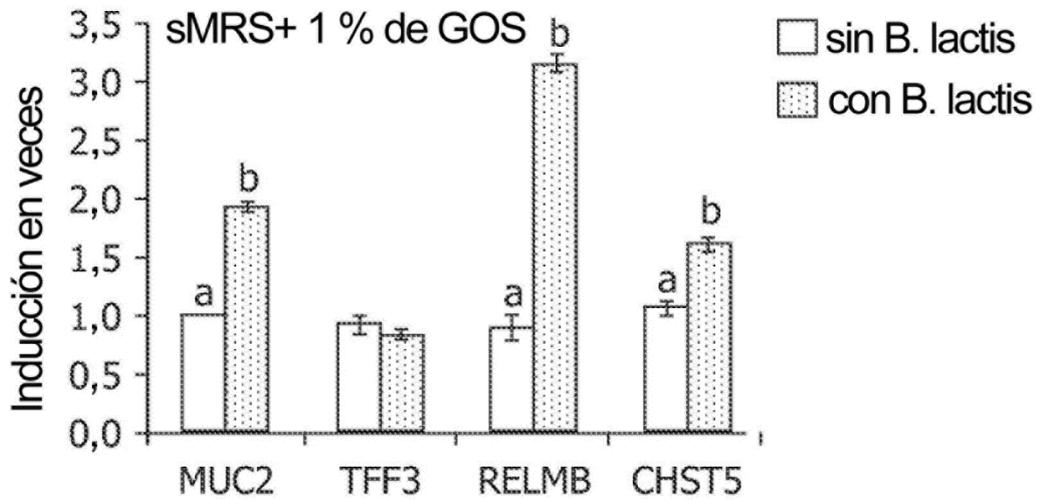


FIG. 4A

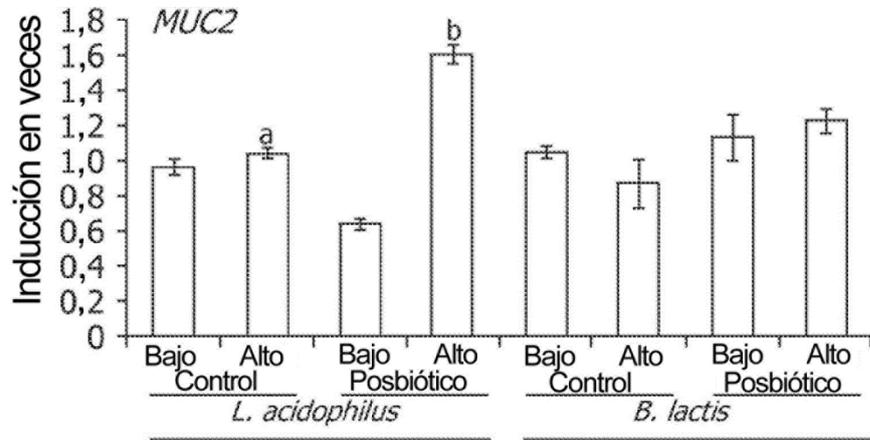


FIG. 4B

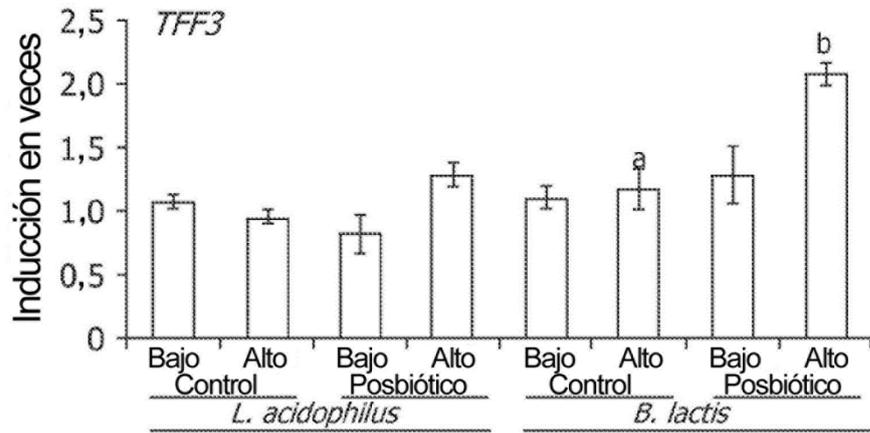


FIG. 4C

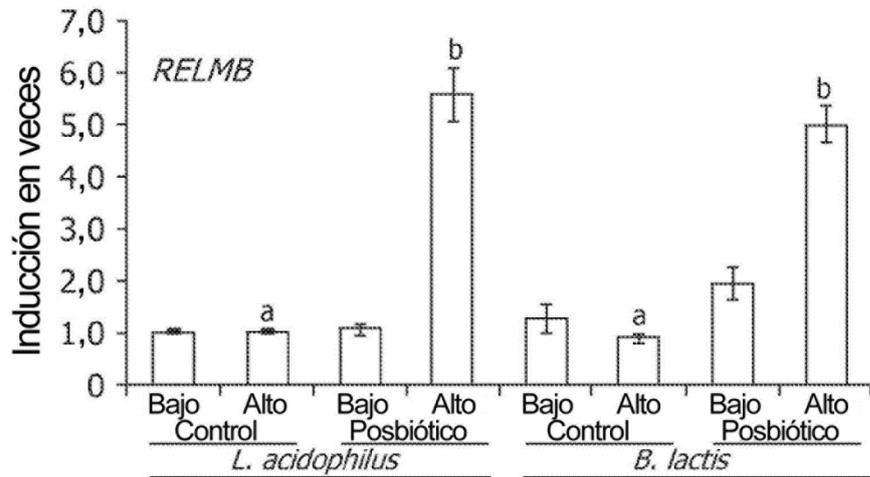


FIG. 4D

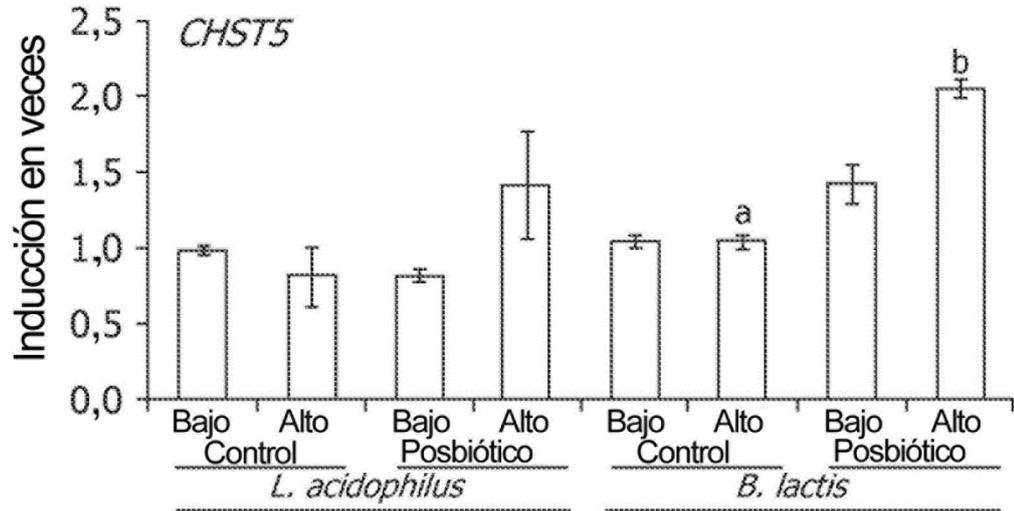


FIG. 4E

