

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 795 665**

51 Int. Cl.:

A23L 33/125 (2006.01)

A61K 31/702 (2006.01)

A61P 25/00 (2006.01)

A61P 25/28 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **14.09.2012** **E 12382356 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **11.03.2020** **EP 2708147**

54 Título: **Procedimientos para aumentar la funcionalidad cerebral utilizando 2-fucosil-lactosa**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
24.11.2020

73 Titular/es:

ABBOTT LABORATORIES (100.0%)
100 Abbott Park Road
Abbott Park, IL 60064-3500, US

72 Inventor/es:

VAZQUEZ HERNANDEZ, ENRIQUE;
RUEDA CABRERA, RICARDO;
BUCK, RACHAEL;
RAMIREZ GONZALES, MARIA y
BARRANCO PEREZ, ALEJANDRO

ES 2 795 665 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

Procedimientos para aumentar la funcionalidad cerebral utilizando 2-fucosil-lactosa

5 **CAMPO DE LA DESCRIPCIÓN**

La presente divulgación se refiere a oligosacáridos de leche humana y, en particular, a 2-fucosil-lactosa (2FL), para la mejora del aprendizaje y/o la memoria y la mejora de la adquisición, retención y recuperación de recuerdos en individuos. En algunas realizaciones, la 2FL puede utilizarse para inducir una mayor potenciación a largo plazo en la sinapsis neuronal del hipocampo.

ANTECEDENTES DE LA DIVULGACIÓN

El documento WO 2012/092160 describe el uso de composiciones nutricionales que incluyen oligosacáridos de leche humana que estimulan las células nerviosas entéricas del tracto gastrointestinal de un individuo. Además, la publicación describe la posibilidad de mejorar la cognición mediante el uso de las composiciones nutricionales. El documento WO 2012/092156 describe el uso de composiciones nutricionales que contienen oligosacáridos de leche humana que estimulan las células nerviosas entéricas del tracto gastrointestinal de un individuo. Esto puede reducir la inflamación y la incidencia de enfermedades inflamatorias en el tracto gastrointestinal, incluyendo la reducción de la incidencia de enterocolitis necrotizante. La publicación también señala que la 2-FL puede estimular las células nerviosas entéricas. El documento WO 2012/092155 describe el uso de composiciones nutricionales que contienen uno o más oligosacáridos de leche humana y, opcionalmente, otros ingredientes como oligosacáridos prebióticos para mejorar la función intestinal y la inmunidad de un individuo. La publicación también señala que la 2-FL es capaz de estimular las células nerviosas entéricas. La publicación WO 2010/115934 describe la preparación de 2'-O-fucosil-lactosa. La publicación señala generalmente que la 2-FL tiene una «amplia área de aplicación terapéutica», incluido, por ejemplo, el desarrollo del cerebro. Kunz C. et al. (1999) describe que la leche de elefante y la leche humana tienen una composición única y contienen gran cantidad de oligosacáridos neutros y ácidos derivados de la lactosa en comparación con otras especies, lo que puede reflejar la importancia relativa de estos componentes en, por ejemplo, la defensa del huésped o el desarrollo del cerebro neonatales. No obstante, no se describen los mecanismos específicos mediante los cuales los OLH regulan las funciones cerebrales y del sistema nervioso central.

La potenciación a largo plazo (PLP) es una mejora duradera en la transmisión de señales entre dos neuronas que es producto de la estimulación sincronizada de las neuronas. La PLP es uno de varios fenómenos que subyacen a la plasticidad sináptica, la capacidad de las sinapsis químicas de modificar su fuerza. A nivel celular, la PLP mejora la transmisión sináptica, ya que mejora la capacidad de dos neuronas, una presináptica y la otra, postsináptica, de comunicarse a través de una sinapsis. Por lo tanto, la PLP es un aumento persistente de la fuerza sináptica después de una estimulación de alta frecuencia de una sinapsis química.

Dado que se cree que el aprendizaje y la memoria, tanto la adquisición como la recuperación de recuerdos, se codifican mediante la modificación de la fuerza sináptica, la PLP se considera ampliamente uno de los principales mecanismos celulares que subyace a dichas funciones. La PLP puede dar explicación a muchos tipos de aprendizaje, desde el condicionamiento clásico relativamente simple presente en todos los animales hasta la cognición más compleja y de mayor nivel que se observa en los seres humanos.

El hipocampo es un componente importante del cerebro de los seres humanos y pertenece al sistema límbico. El hipocampo desempeña un papel importante en la consolidación de la memoria a corto plazo a la memoria a largo plazo y la navegación espacial. Dado que los distintos tipos de células neuronales están claramente organizados en capas en el hipocampo, este se ha utilizado con frecuencia como sistema modelo para el estudio de la neurofisiología y, en particular, para el estudio de la PLP.

Diversas enfermedades y afecciones afectan al hipocampo y sus funciones relacionadas, como la cognición, incluidos tanto el aprendizaje como la memoria. Por ejemplo, el estrés y las hormonas relacionadas con el estrés que se liberan en respuesta a este afectan al hipocampo de al menos tres maneras: en primer lugar, reduciendo la excitabilidad de algunas neuronas del hipocampo; en segundo lugar, inhibiendo la génesis de nuevas neuronas en el giro dentado; y en tercer lugar, causando la atrofia de las dendritas en las células piramidales de la región CA3. Actualmente, hay pruebas que indican que los seres humanos que experimentan estrés pueden ver afectada la función del hipocampo, incluidos el aprendizaje y la memoria, con efectos que pueden persistir durante toda la vida.

Por consiguiente, sería deseable proporcionar composiciones nutricionales que aporten componentes individuales que pueden inducir una mayor potenciación a largo plazo en la sinapsis neuronal del hipocampo, mejorando así el rendimiento cognitivo y, en particular, la adquisición, retención y recuperación de recuerdos que pueden contribuir a los procesos de aprendizaje y memoria. También sería beneficioso que las composiciones nutricionales pudieran

utilizarse en los primeros años de vida para maximizar los beneficios a lo largo de la vida.

Resumen de la descripción

- 5 La presente divulgación se refiere a procedimientos de mejora de la funcionalidad cerebral de un individuo, incluidos lactantes, niños, adultos y adultos mayores, utilizando oligosacáridos de leche humana (OLH) y, en particular, la 2-fucosil-lactosa por sí sola o en combinación con otros OLH. En particular, los procedimientos de la presente divulgación incluyen la administración de una composición nutricional que incluye 2-fucosil-lactosa a un individuo para inducir una mayor potenciación a largo plazo en la sinapsis neuronal del hipocampo, mejorando así el aprendizaje y la memoria, incluidas la adquisición, retención y recuperación de recuerdos en el individuo. Las composiciones y procedimientos nutricionales que se describen en la presente memoria pueden ser particularmente beneficiosos para los lactantes, en algunas realizaciones. La invención se define por las reivindicaciones.

- 15 La invención se refiere a una composición nutricional que comprende 2-fucosil-lactosa para su uso en la mejora del aprendizaje en un individuo sometido a estrés psicológico en los primeros años de vida, mediante la cual se mejora la respuesta de potenciación a largo plazo del hipocampo en el individuo.

- 20 Se ha descubierto inesperadamente que los oligosacáridos de leche humana, y en particular, la 2-fucosil-lactosa, por sí solos o en combinación con otro u otros OLH, pueden mejorar la respuesta de potenciación a largo plazo del hipocampo en un individuo, incluido un lactante. En particular, la administración de 2-fucosil-lactosa proporciona una potenciación mayor y más duradera del potencial postsináptico excitatorio de campo en la sinapsis del hipocampo CA3-CA1. Además, mediante la inducción de una mayor potenciación a largo plazo en la sinapsis neuronal del hipocampo, un individuo puede experimentar una mejora en el aprendizaje y la memoria, incluidas la adquisición, retención y recuperación de recuerdos.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

- 30 La figura 1 es un gráfico que representa los registros del potencial postsináptico excitatorio de campo monosináptico (fEPSP), tal como se analiza en el Ejemplo 1.

- La figura 2 es un gráfico que representa las curvas de entrada/salida evocadas en la sinapsis del hipocampo CA3-CA1 antes y después de la administración de 2FL a ratas alerta, tal como se analiza en el Ejemplo 2.

- 35 La figura 3 es un gráfico que representa la estimulación por pulsos pareados antes y después de la administración de 2FL a ratas alerta, tal como se analiza en el Ejemplo 2.

- La figura 4 es un gráfico que representa la PLP evocada experimentalmente antes y después de la administración de 2FL a ratas alerta, tal como se analiza en el Ejemplo 2.

- 40 La figura 5 es un gráfico que representa los niveles de AChE después de la administración de DHA y 2FL en comparación con un control, tal como se analiza en el Ejemplo 3.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA DIVULGACIÓN

- 45 La invención se refiere a una composición nutricional que comprende 2-fucosil-lactosa para su uso en la mejora del aprendizaje en un individuo sometido a estrés psicológico en los primeros años de vida, mediante la cual se mejora la respuesta de potenciación a largo plazo del hipocampo en el individuo.

- 50 La presente divulgación se refiere a procedimientos para la inducción de una mayor potenciación a largo plazo en la sinapsis neuronal del hipocampo a fin de aumentar la funcionalidad del cerebro. Los presentes procedimientos incluyen, en general, la administración de una composición nutricional que incluye 2-fucosil-lactosa a un individuo para la mejora del aprendizaje y la memoria. Los procedimientos pueden resultar útiles para mantener un sistema nervioso central saludable y tener repercusiones en la mejora del funcionamiento y/o el rendimiento cognitivo de un individuo. Las composiciones y procedimientos que se describen en la presente memoria pueden proporcionar un medio fácil y eficaz de aumentar la funcionalidad cerebral de un individuo, incluido un lactante.

- Estas y otras características de las composiciones y procedimientos, así como algunas de las muchas variaciones y adiciones opcionales, se describen con detalle de aquí en adelante.

- 60 Los términos «estrés psicológico agudo» y «estrés agudo», como se usan en la presente memoria, a menos que se especifique lo contrario, se emplean indistintamente para referirse a una afección psicológica (por ejemplo, sensación de tensión, presión, ansiedad, sentirse abrumado, irritabilidad, nerviosismo, inseguridad, depresión, pánico,

agotamiento) que surge en respuesta a un acontecimiento aterrador o traumático. Un «acontecimiento aterrador» o «acontecimiento traumático» es una experiencia que hace que el individuo experimente miedo, estrés o dolor perturbadores o inesperados.

- 5 Los términos «estrés temprano» o «estrés en los primeros años de vida», como se usan en la presente memoria, a menos que se especifique lo contrario, se utilizan indistintamente para referirse a la experiencia de estrés en los primeros años de la vida de un individuo; es decir, durante el periodo comprendido entre el nacimiento y la adolescencia temprana. El término «adolescencia temprana» se refiere al periodo comprendido entre los 10 y los 14 años de vida.

- 10 Los términos «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.

- 15 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.

- 20 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.

- 30 El término «oligosacárido de leche humana» u «OLH», como se usan en la presente memoria, 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 ejemplares no limitantes incluyen la 2-fucosil-lactosa, la 3-fucosil-lactosa, la 3-sialil-lactosa, la 6-sialil-lactosa y la lacto-N-neo-tetraosa. Los precursores ejemplares de oligosacáridos de leche humana incluyen el ácido siálico y/o la fucosa.

- 35 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.

- 40 Los términos «formulación nutricional» o «composición nutricional», como se usan en la presente memoria, se emplean indistintamente y, a menos que se especifique lo contrario, se refieren a fórmulas sintéticas que incluyen líquidos nutricionales, polvos nutricionales, sólidos nutricionales, semisólidos nutricionales, semilíquidos nutricionales, suplementos nutricionales y cualquier otro producto alimenticio nutricional conocido en la técnica. Los polvos nutricionales pueden reconstituirse para formar un líquido nutritivo, todos los cuales comprenden una o más grasas, proteínas e hidratos de carbono y son aptos para el consumo oral por parte de un ser humano.

- 50 El término «líquido nutricional», como se usa en la presente memoria, a menos que se especifique otra cosa, hace referencia a productos 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.

- 55 El término «polvo nutricional», como se usa en la presente memoria, a menos que se especifique otra cosa, hace referencia a productos 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 «semisólido nutricional», como se usa en la presente memoria, a menos que se especifique otra cosa, hace referencia a productos nutricionales con propiedades intermedias, por ejemplo, rigidez, entre los sólidos y los líquidos. Algunos ejemplos de semisólidos incluyen los pudines, las gelatinas y las masas.

- 60 El término «semilíquido nutricional», como se usa en la presente memoria, a menos que se especifique otra cosa, hace referencia a productos nutricionales con propiedades intermedias, por ejemplo, propiedades de fluidez, entre los sólidos y los líquidos. Algunos ejemplos de semilíquidos incluyen los batidos espesos y geles líquidos.

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.

5

Los términos «que modulan» o «modulación» o «modular», como se usan en la presente memoria, a menos que se especifique lo contrario, hacen referencia al movimiento focalizado de una característica seleccionada.

El término «rendimiento cognitivo», como se usa en la presente memoria, a menos que se especifique lo contrario, hace referencia a las funciones de aprendizaje, pensamiento y memoria (es decir, la adquisición, retención y recuperación de recuerdos) del cerebro. Por consiguiente, el término «que mejora el rendimiento cognitivo», como se usa en la presente memoria, a menos que se especifique lo contrario, hace referencia a la mejora de las funciones de aprendizaje, pensamiento y/o memoria (adquisición, retención y recuperación de recuerdos) de un individuo.

15 El término «que mejora un deterioro cognitivo y/o disfunción cerebral», como se usa en la presente memoria, a menos que se especifique lo contrario, hace referencia al tratamiento, la prevención y/o la reducción de la incidencia o la gravedad del declive cognitivo asociado con el declive cognitivo relacionado con la edad o las enfermedades neurodegenerativas.

20 El término «declive cognitivo relacionado con la edad», como se usa en la presente memoria, a menos que se especifique lo contrario, hace referencia a un declive gradual de las funciones de aprendizaje, pensamiento y/o memoria que es una consecuencia normal del envejecimiento.

El término «enfermedad neurodegenerativa», como se usa en la presente memoria, a menos que se especifique lo contrario, hace referencia a la pérdida progresiva de estructura o función de las neuronas, incluida la muerte de neuronas, e incluye enfermedades como la enfermedad de Parkinson, la enfermedad de Alzheimer, la enfermedad de Huntington, la demencia, la esclerosis lateral amiotrófica, el accidente cerebrovascular y la esquizofrenia.

30 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.

40 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.

45 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 diversas realizaciones de las composiciones utilizadas en los procedimientos de la presente divulgación también pueden estar sustancialmente libres de cualquier ingrediente o característica opcional o seleccionada que se describa en la presente memoria, siempre que la composición restante siga conteniendo todos los ingredientes o características requeridos que se describen en la presente memoria. En este contexto, y a menos que se especifique lo contrario, el término «sustancialmente libre» significa que la composición nutricional seleccionada contiene menos de una cantidad funcional del ingrediente opcional, típicamente menos del 1 %, incluido menos del 0,5 %, incluido menos del 0,1 %, y también incluido el cero por ciento en peso de dicho ingrediente opcional o seleccionado.

55

Las composiciones 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 productos nutricionales.

60

Forma de producto

Las composiciones nutricionales utilizadas en los procedimientos de la presente divulgación incluyen un oligosacárido fucosilado de leche humana 2-fucosil-lactosa (2FL), y pueden formularse y administrarse en cualquier forma de producto oral conocida o de otro modo adecuada. Son adecuadas cualquier forma de producto líquida, semisólida, semilíquida 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, como también se definen en la presente memoria.

Las composiciones que se utilizan en los procedimientos de la presente divulgación se formulan deseablemente como formas de producto dietético, que se definen en la presente memoria como aquellas realizaciones que comprenden los ingredientes 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.

Las composiciones nutricionales pueden formularse con suficientes clases y cantidades de nutrientes para proporcionar una fuente de nutrición única, primaria o suplementaria, o para proporcionar un producto nutricional especializado para su uso en individuos aquejados de afecciones específicas o con un beneficio nutricional diana como se describe a continuación.

Algunos ejemplos ejemplares no limitantes de productos específicos que pueden ser adecuados para su uso según la presente divulgación incluyen las leches maternizadas en polvo para lactantes prematuros, las leches maternizadas en polvo para lactantes a término, los fortificantes de leche humana, las leches maternizadas pediátricas, las fórmulas nutricionales para adultos, las fórmulas nutricionales para adultos mayores, las fórmulas médicas, las fórmulas nutricionales para pacientes geriátricos, las fórmulas nutricionales para diabéticos y similares.

Líquidos nutricionales

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 su 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.

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

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 660 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.

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 1 ml, o incluso al menos 2 ml, o incluso al menos 5 ml, o incluso al menos 10 ml, o incluso al menos 25 ml, incluyendo intervalos de 1 ml a aproximadamente 300 ml, incluyendo de aproximadamente 4 ml a aproximadamente 250 ml, e incluyendo de aproximadamente 10 ml de aproximadamente 240 ml.

Sólidos nutricionales

Los sólidos nutricionales pueden estar en cualquier forma sólida, pero están típicamente en forma de composiciones
 5 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
 10 «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
 15 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, 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
 20 realizaciones, el polvo reconstituido puede tener una densidad calórica de aproximadamente 50-100 kcal/l a
 aproximadamente 660 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.

Procedimientos para inducir una mayor potenciación a largo plazo (PLP)

25 Los procedimientos de la presente divulgación emplean composiciones nutricionales que contienen oligosacáridos
 fucosilados de leche humana y, en particular, composiciones nutricionales que contienen 2-fucosil-lactosa (2FL), para
 inducir una mayor potenciación a largo plazo (PLP) en la sinapsis neuronal del hipocampo en un individuo. Como se
 ha señalado, la mejora de la PLP aumenta la funcionalidad cerebral de un individuo y, en particular, mejora el
 30 rendimiento cognitivo. En particular, la administración de 2FL puede mejorar la cognición general al producir una
 acción secuencial en la adquisición retención y recuperación de recuerdos que contribuye a las funciones cognitivas
 del aprendizaje, el pensamiento y la memoria.

Además, en algunas realizaciones, las composiciones nutricionales pueden utilizarse para mejorar un deterioro
 35 cognitivo y/o una disfunción cerebral que pueden estar asociados con el declive cognitivo relacionado con la edad o
 el declive cognitivo asociado a una enfermedad neurodegenerativa. En particular, las afecciones relacionadas con la
 edad, como la enfermedad de Alzheimer, tienen un impacto severo en muchos tipos de cognición, pero incluso el
 envejecimiento normal y saludable se asocia a un declive gradual en algunos tipos de memoria, incluidas la memoria
 episódica y la memoria de trabajo. Dado que se cree que el hipocampo desempeña un papel central en la memoria,
 40 la posibilidad de que los declives relacionados con la edad puedan estar causados por el deterioro del hipocampo ha
 despertado un interés considerable. Concretamente, se ha informado de una relación fiable entre el tamaño del
 hipocampo y el rendimiento de la memoria; es decir, no todas las personas de edad avanzada muestran una
 contracción del hipocampo, pero las que la sufren tienden a obtener peores resultados en algunas tareas de memoria.
 También hay informes que indican que las tareas de memoria tienden a producir una menor activación del hipocampo
 45 en las personas de edad avanzada que en los sujetos jóvenes. Además, en las ratas, donde es posible realizar estudios
 detallados de la fisiología celular, se ha descubierto que el envejecimiento altera la conectividad sináptica de varias
 maneras. Las sinapsis funcionales se pierden en el giro dentado y la región CA1, y se produce una reducción de las
 respuestas mediadas por los receptores NMDA. Estos cambios pueden explicar los déficits en la inducción y el
 mantenimiento de la potenciación a largo plazo. También existen declives relacionados con la edad en la expresión
 50 hipocampal de varios genes asociados con la plasticidad sináptica. Otras afecciones relacionadas que se ven
 afectadas por la función hipocampal son la enfermedad de Huntington, la enfermedad de Parkinson, la demencia, la
 esclerosis lateral amiotrófica, el accidente cerebrovascular y/o la esquizofrenia. En consecuencia, al mejorar la
 actividad hipocampal, los procedimientos de la presente divulgación pueden utilizarse para
 reducir/prevenir/controlar/tratar el deterioro cognitivo y/o la disfunción cerebral asociados a estas enfermedades y
 55 afecciones.

Aunque en algunas realizaciones, los procedimientos de la presente divulgación pueden estar dirigidos a personas
 que padecen una enfermedad o afección neurodegenerativa, o una enfermedad o afección relacionada con una
 enfermedad o afección neurodegenerativa, los procedimientos de la presente divulgación, tal como se describen en la
 60 presente memoria, también están destinados, en algunas realizaciones, a incluir el uso de dichos procedimientos en
 personas «de riesgo», incluidas las personas que no están afectadas por o que no padecen enfermedades o
 afecciones neurodegenerativas como las descritas anteriormente, a fin de prevenir, reducir al mínimo o retrasar el

desarrollo de dichas enfermedades o afecciones a lo largo del tiempo. Para tales fines de prevención, los procedimientos de la presente divulgación incluyen preferentemente la administración continua y diaria de las composiciones que se describen en la presente memoria. Dichos procedimientos preventivos pueden dirigirse a adultos u otras personas, en particular a adultos mayores (de 50 años o más), que son susceptibles de desarrollar enfermedades neurodegenerativas debido a factores hereditarios, ambientales y similares.

- Además, los procedimientos de la presente divulgación pueden utilizarse para reducir/prevenir/controlar/tratar el deterioro cognitivo y/o la disfunción cerebral asociados al estrés psicológico. Particularmente, como se señaló anteriormente, el estrés y las hormonas que se liberan en respuesta a este (por ejemplo, corticosterona, cortisol, etc.) afectan al hipocampo reduciendo la excitabilidad de algunas neuronas del hipocampo, inhibiendo la génesis de nuevas neuronas en el giro dentado y causando la atrofia de las dendritas en las células piramidales de la región CA3. Además, existen pruebas de que el estrés experimentado poco después del nacimiento (es decir, el estrés temprano), puede afectar a la función hipocampal de maneras que pueden persistir durante toda la vida.
- 10 La 2-fucosil-lactosa (2FL) puede administrarse a un subconjunto de individuos que necesiten inducir una mayor PLP y/o mejorar el aprendizaje y la memoria. Algunos individuos con necesidad específica de una mayor PLP y/o de una mejora del aprendizaje y la memoria pueden incluir lactantes, pacientes pediátricos, adolescentes o adultos que experimentan estrés psicológico agudo o acontecimientos estresantes (lactantes, pacientes pediátricos, adolescentes o adultos susceptibles o con un riesgo elevado de experimentar estrés psicológico agudo o acontecimientos estresantes), lactantes, pacientes pediátricos, adolescentes o adultos que experimentaron estrés psicológico agudo en los primeros años de vida, lactantes no amamantados, lactantes, pacientes pediátricos, adolescentes o adultos con depresión crónica (lactantes, pacientes pediátricos, adolescentes o adultos susceptibles o con un riesgo elevado de padecer depresión crónica), lactantes, pacientes pediátricos, adolescentes o adultos afectados por el síndrome de estrés postraumático (lactantes, pacientes pediátricos, adolescentes o adultos susceptibles o con un riesgo elevado de padecer síndrome de estrés postraumático), lactantes, pacientes pediátricos, adolescentes o adultos afectados por enfermedades o afecciones neurodegenerativas como la enfermedad de Alzheimer, la enfermedad de Huntington o la enfermedad de Parkinson, demencia, esclerosis lateral amiotrófica, accidente cerebrovascular y/o esquizofrenia (lactantes, pacientes pediátricos, adolescentes o adultos susceptibles o con un riesgo elevado de padecer enfermedades o afecciones neurodegenerativas), adultos afectados por un declive cognitivo relacionado con la edad (adultos susceptibles o con un riesgo elevado de padecer un declive cognitivo relacionado con la edad), y similares. Los lactantes prematuros, lactantes, pacientes pediátricos, adolescentes, adultos y adultos mayores pueden ser susceptibles o tener un riesgo elevado de padecer las enfermedades o afecciones anteriormente mencionadas debido a sus antecedentes familiares, edad, entorno y/o estilo de vida. Según lo anterior, debido a que algunos de las realizaciones de procedimientos de la presente divulgación están dirigidas a subconjuntos o subclases específicos de individuos identificados (es decir, el subconjunto o subclase de individuos «con necesidad» de ayuda para tratar una o más afecciones específicas que se señalan en la presente memoria), no todos los individuos estarán dentro del subconjunto o subclase de individuos que se describe en la presente memoria para ciertas enfermedades o afecciones.

- El individuo consume deseablemente al menos una ración de la composición nutricional 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. Los procedimientos de la presente divulgación se aplican preferentemente a diario, donde la administración diaria se mantiene de forma continuada durante al menos 3 días, incluidos al menos 5 días, incluido al menos 1 mes, incluidas al menos 4 semanas, incluidas al menos 8 semanas, incluidas al menos 2 meses, incluidos al menos 6 meses, deseablemente durante al menos 18-24 meses, deseablemente como suplemento dietético diario, continuado y a largo plazo.

50 **2-fucosil-lactosa (2FL)**

- Los procedimientos de la presente divulgación para la inducción de PLP hipocampal utilizan composiciones que incluyen 2-fucosil-lactosa (2FL). La 2FL utilizada en la composición puede aislarse o enriquecerse a partir de leche(s) secretada(s) por mamíferos, incluidos, pero sin limitarse a: especies humanas, bovinas, ovinas, porcinas o caprinas.
- 55 La 2FL también puede producirse mediante fermentación microbiana, procesos enzimáticos, síntesis química o combinaciones de los mismos.

- La 2FL está presente en las composiciones en una cantidad (mg de 2FL por mL de composición) de al menos 0,001 mg/mL, incluyendo al menos 0,01 mg/mL, incluyendo de 0,001 mg/mL a aproximadamente 20 mg/mL, incluyendo de aproximadamente 0,01 mg/mL a aproximadamente 20 mg/mL, incluyendo de 0,001 mg/mL a aproximadamente 10 mg/mL, incluyendo de aproximadamente 0,01 mg/mL a aproximadamente 10 mg/mL, incluyendo de 0,001 mg/mL a aproximadamente 5 mg/mL, incluyendo de aproximadamente 0,01 mg/mL a aproximadamente

5 mg/mL, incluyendo de 0,001 mg/mL a aproximadamente 1 mg/mL, incluyendo de 0,001 mg/mL a aproximadamente 0,23 mg/mL, incluyendo de aproximadamente 0,01 mg/mL a aproximadamente 0,23 mg/mL de 2FL en la composición. Típicamente, la cantidad de 2FL presente en la composición dependerá de las cantidades de otros componentes en las composiciones, incluidas las cantidades de cualquier otro oligosacárido opcional de leche humana, como se describe a continuación.

En una realización específica, cuando la composición es un polvo nutricional, la concentración de 2FL en el polvo nutricional es de aproximadamente 0,0005 % a aproximadamente 5 %, incluyendo de aproximadamente 0,01 % a aproximadamente 1 % (en peso del polvo nutricional).

En otra realización específica, cuando el producto es un líquido nutricional listo para usar, la concentración de 2FL en el líquido nutricional listo para usar es de aproximadamente 0,0001 % a aproximadamente 0,50 %, incluyendo de aproximadamente 0,001 % a aproximadamente 0,15 %, incluyendo de aproximadamente 0,01 % a aproximadamente 0,10 %, e incluyendo además de aproximadamente 0,01 % a aproximadamente 0,03 % (en peso del líquido nutricional listo para usar).

En otra realización específica, cuando el producto es un líquido nutricional concentrado, la concentración de 2FL en el líquido nutricional concentrado es de aproximadamente 0,0002 % a aproximadamente 0,60 %, incluyendo de aproximadamente 0,002 % a aproximadamente 0,30 %, incluyendo de aproximadamente 0,02 % a aproximadamente 0,20 %, e incluyendo además de aproximadamente 0,02 % a aproximadamente 0,06 % (en peso del líquido nutricional concentrado).

Oligosacáridos de leche humana sialilados o fucosilados opcionales adicionales

Además de la 2FL anteriormente descrita, las composiciones pueden incluir opcionalmente oligosacáridos de leche humana sialilados o fucosilados adicionales. Los oligosacáridos de leche humana adicionales utilizados en la composición pueden aislarse o enriquecerse a partir de leche(s) secretada(s) por mamíferos, incluidos, pero sin limitarse a: especies humanas, bovinas, ovinas, porcinas o caprinas. Los oligosacáridos de la leche humana también pueden producirse mediante fermentación microbiana, procesos enzimáticos, síntesis química o combinaciones de los mismos.

Los oligosacáridos de leche humana sialilados adecuados para su uso opcional en las composiciones incluyen al menos un residuo de ácido siálico en la cadena de oligosacáridos. El oligosacárido de leche humana sialilado puede incluir también dos o más residuos de ácido siálico. Los ejemplos específicos no limitantes de oligosacáridos de leche humana sialilados para su uso en la presente divulgación incluyen oligosacáridos de sialilo, ácido siálico (es decir, ácido siálico libre, ácido siálico ligado a lípidos, ácido siálico ligado a proteínas), lactosialotetraosa, 3'-Sialil-3-fucosilactosa, Disialomonofucosilacto-N-neohexaosa, Monofucosilmonosilacto-N-octaosa (sialil Lea), Sialilacto-N-fucohexaosa II, Disialilacto-N-fucopentaosa II, Monofucosilililacto-N-tetraosa), oligosacáridos de sialil-fucosil, 2'-Sialilactosa, 2-Sialilactosamina, 3'-Sialilactosa, 3'-Sialilactosamina, 6'-Sialilactosa, 6'-Sialilactosamina, Sialilacto-N-neotetraosa c, Monosialilacto-N-hexaosa, Disialilacto-N-hexaosa I, Monosialilacto-N-neohexaosa I, Monosialilacto-N-neohexaosa II, Disialilacto-N-n-hexaosa, Disialilacto-N-tetraosa, Disialilacto-N-hexaosa II, Sialilacto-N-tetraosa a, Disialilacto-N-hexaosa I, Sialilacto-N-tetraosa b, sialil-lacto-N-tetraosa a, sialil-lacto-N-tetraosa b, sialil-lacto-N-tetraosa c, sialil-fucosil-lacto-N-tetraosa I, sialil-fucosil-lacto-N-tetraosa II, disialil-lacto-N-tetraosa y combinaciones de los mismos. Los oligosacáridos de leche humana sialilados particularmente deseables incluyen 3'Sialilactosa, 6'Sialilactosa y combinaciones de las mismas.

Los ejemplos específicos no limitantes de oligosacáridos de leche humana fucosilados opcionales adicionales para su uso en la presente divulgación incluyen oligosacáridos de fucosilo, lacto-N-fucopentosa I, lacto-N-fucopentosa II, 3'-fucosilactosa, Lacto-N-fucopentosa III, Lacto-N-difucohexaosa I, Lactodifucotetraosa, monofucosilacto-N-hexaosa II, lacto-N-hexaosa isomérica fucosilada (1), lacto-N-hexaosa isomérica fucosilada (3), lacto-N-hexaosa isomérica fucosilada (2), difucosil-para-lacto-N-neohexaosa, difucosil-para-lacto-N-hexaosa, difucosilacto-N-hexaosemonofucosilacto-neocatosa, monofucosilacto-N-ocatosa, difucosilacto-N-octaosa I, difucosilacto-N-octaosa II, difucosilacto-N-neocatosa II, difucosilacto-N-neocatosa I, lacto-N-fucopentosa V, lacto-N-decaosa, trifucosilacto-N-neocatosa, trifucosilacto-N-octasa, trifucosil-iso-lacto-N-octasa, lacto-N-difuco-hexaosa II y combinaciones de los mismos.

Otros ejemplos adecuados de oligosacáridos de leche humana que pueden incluirse en las composiciones para su uso en los procedimientos de la presente divulgación incluyen lacto-N-hexaosa, para-lacto-N-hexaosa, lacto-N-neohexaosa, para-lacto-N-neohexaosa, lacto-N-neocatosa, para-lacto-N-octanosa, iso-lacto-N-octaosa, lacto-N-octaosa y combinaciones de los mismos.

Los oligosacáridos de leche humana sialilados y fucosilados (incluida 2FL) pueden estar presentes en las

composiciones en una cantidad total de oligosacárido de leche humana en la composición (mg de oligosacáridos de leche humana por mL de composición) de al menos 0,001 mg/mL, incluyendo al menos 0,01 mg/mL, incluyendo de 0,001 mg/mL a aproximadamente 20 mg/mL, incluyendo de aproximadamente 0,01 mg/mL a aproximadamente 20 mg/mL, incluyendo de 0,001 mg/mL a aproximadamente 10 mg/mL, incluyendo de aproximadamente 0,01 mg/mL a aproximadamente 10 mg/mL, incluyendo de 0,001 mg/mL a aproximadamente 5 mg/mL, incluyendo de aproximadamente 0,01 mg/mL a aproximadamente 5 mg/mL, incluyendo de 0,001 mg/mL a aproximadamente 1 mg/mL, incluyendo de 0,001 mg/mL a aproximadamente 0,23 mg/mL, incluyendo de aproximadamente 0,01 mg/mL a aproximadamente 0,23 mg/mL de oligosacáridos de leche humana en total en la composición. Típicamente, la cantidad de oligosacárido de leche humana sialilado y/o oligosacárido de leche humana fucosilado específico (incluida 2FL) presente en la composición dependerá del oligosacárido de leche humana específico o de los oligosacáridos de leche humana presentes y de las cantidades de otros componentes en las composiciones, incluidas las cantidades de cualquier oligosacárido de leche humana opcional.

Macronutrientes

Las composiciones que incluyen 2FL pueden formularse para incluir al menos uno de grasa, proteína y carbohidrato. En muchas realizaciones, las composiciones incluirán 2FL con grasa, proteína y carbohidrato.

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 lactantes prematuros, leche maternizada, leche maternizada pediátrica, fórmula para adultos, fórmula médica, 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.

Para las leches maternizadas para lactantes y adultos, las concentraciones de carbohidrato 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; las concentraciones de grasa oscilan lo más típicamente de aproximadamente 1 % a aproximadamente 30 %, incluyendo de aproximadamente 2 % a aproximadamente 15 %, e incluyendo también de aproximadamente 3 % a aproximadamente 10 % en peso; 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.

La cantidad de grasas, proteínas y/o carbohidratos 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 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 el producto nutricional es una leche maternizada en polvo para lactantes 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 lactantes prematuros o a término; el componente de 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 lactantes prematuros o a término; y el componente de carbohidrato 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 lactantes prematuros o a término.
- 10
- 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 está presente en una cantidad de aproximadamente 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.
- 20

- 25 La cantidad o concentración total de grasa, carbohidrato y proteína en las composiciones nutricionales en polvo que se utilizan en 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 el producto 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 «aproximadamente»).
- 30

% 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

- 35 Las composiciones nutricionales utilizadas en los procedimientos de la presente divulgación pueden incluir una fuente o fuentes de grasa. Las fuentes adecuadas de grasa para su uso en la presente memoria incluyen cualquier grasa o fuente de grasa que sea adecuada para su uso en un producto nutricional oral y que sea compatible con los elementos y rasgos esenciales de tales productos. Por ejemplo, en una realización específica, la grasa deriva de ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga y/o ácidos grasos de cadena corta.
- 40
- Los ejemplos no limitantes adicionales de grasas adecuadas o fuentes de las mismas para su uso en los productos nutricionales descritos 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.
- 45

Proteína

- 50 Las composiciones nutricionales utilizadas en los procedimientos de la presente divulgación pueden comprender

opcionalmente además proteína. Es adecuada para su uso en las composiciones nutricionales cualquier fuente de proteína que sea adecuada para su uso en composiciones nutricionales orales y que sea compatible con los elementos y rasgos de tales productos.

- 5 Los ejemplos no limitantes de proteínas adecuadas o fuentes de las mismas para su uso en los productos 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, guisante), 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, concentrados de proteína de guisante intacta, aislamientos de proteína de guisante intacta, concentrados de proteína de guisante hidrolizada, aislamientos de proteína de guisante hidrolizada, etc. En una realización específica, las composiciones nutricionales incluyen una fuente de proteína derivada de proteínas de leche de origen humano y/o bovino.

Carbohidrato

- Los productos nutricionales utilizados en los procedimientos de la presente divulgación pueden comprender opcionalmente además cualquier carbohidrato que sea adecuado para uso en un producto nutricional oral y que sea compatible con los elementos y rasgos de tales productos.

- Los ejemplos no limitantes de carbohidratos adecuados o fuentes de los mismos para uso en los productos nutricionales descritos 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 particularmente deseable la maltodextrina de bajo equivalente de dextrosa (DE).

Otros ingredientes opcionales

- Las composiciones nutricionales utilizadas en los procedimientos de la presente divulgación pueden comprender además otros componentes opcionales que pueden modificar las características físicas, químicas, estéticas o de procesamiento de los productos 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 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 conservantes, agentes emulsionantes, tampones, fructooligosacáridos, galactooligosacáridos, polidextrosa y otros prebióticos, probióticos 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, 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 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 el producto nutricional pueden oscilar de al menos 0,01 %, incluyendo de aproximadamente 0,1 % a aproximadamente 10 %, e incluyendo también de aproximadamente 1 % a aproximadamente 6 % en peso del producto nutricional. Las concentraciones de edulcorante artificial opcional pueden oscilar de al menos 0,01 %, incluyendo de aproximadamente 0,05 % a aproximadamente 5 %, incluyendo también de aproximadamente 0,1 % a aproximadamente 1,0 % en peso del producto nutricional.

- 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 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.

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 aproximadamente 3 %, incluyendo de aproximadamente 0,7 % a aproximadamente 1,5 % en peso de la composición nutricional.

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 A, vitamina D, vitamina E, vitamina K, tiamina, riboflavina, piridoxina, vitamina B₁₂, carotenoides (por ejemplo, betacaroteno, zeaxantina, luteína, licopeno), niacina, ácido fólico, ácido pantoténico, biotina, vitamina C, 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, cobre, sodio, potasio, molibdeno, cromo, cloruro y combinaciones de los mismos.

Procedimientos de fabricación

Las composiciones nutricionales utilizadas en los procedimientos 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 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 utilizadas en los procedimientos 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 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 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., 2FL, fructoligosacáridos, sacarosa, jarabe de maíz, etc.). Se 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 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.

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.

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.

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, 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.

EJEMPLOS

Los siguientes ejemplos ilustran realizaciones y/o rasgos específicos de las composiciones nutricionales y procedimientos utilizados en los 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.

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.

EJEMPLO 1

En este Ejemplo, se analizó el efecto de la 2-fucosil-lactosa en la respuesta de potenciación a largo plazo del hipocampo en ratones con estrés temprano y privación materna.

Inicialmente, las crías de ratón se sometieron a estrés temprano usando un modelo de separación materna. En particular, un día después del parto, las crías de ratón C57BL/6 se sexaron y agruparon en conjuntos de animales simulados (grupo de Control no estresado) o sometido a estrés por separación materna (MS, grupo estresado). Desde el día 2 hasta el día 14 después del parto, las crías del grupo sometido a estrés por separación materna se separaron de la madre y se mantuvieron aisladas durante un periodo de 4 horas al día, normalmente de 10:00 AM a 2:00 PM, en una taza con termostato. Durante el mismo periodo de tiempo, las crías del grupo simulado se manipularon diariamente durante cinco minutos para que alcanzaran el mismo grado de habituación a las manos de un investigador que las crías sometidas a estrés por separación materna.

Cada madre tuvo camadas de 4 machos y 2 hembras. A las hembras se les permitió quedarse con la madre, mientras que los machos se sometieron a privación materna para evitar estresar a la madre al retirarle todas las crías. Además, las crías del grupo sometido a estrés por separación materna se destetaron prematuramente y, de este modo, se retiraron permanentemente de la madre, el día 17 después del parto, mientras que las crías del grupo simulado no se destetaron hasta el día 21 después del parto. El día 22 después del parto, todas las crías del grupo sometido a estrés por separación materna se agruparon y se dividieron en dos grupos experimentales antes de comenzar la intervención nutricional. Los, en total, tres grupos se muestran en la siguiente tabla.

Grupo experimental	Condiciones experimentales
Grupo de control simulado	Ratones normales no sometidos a estrés por separación materna que reciben una dieta de AIN-93G y agua.
Grupo de control sometido a estrés por separación materna	Ratones sometidos a estrés por separación materna que reciben una dieta de AIN-93G y agua.
Grupo sometido a estrés por separación materna con 2-fucosilactosa	Ratones sometidos a estrés por separación materna que reciben una dieta de AIN-93G complementada con 2-fucosilactosa (~7 mg/día/ratón) y agua.

En la etapa de intervención nutricional, se alimentó a los ratones con dietas experimentales durante un periodo de ocho semanas. Transcurridas ocho semanas, se anestesiaron los ratones y se les implantaron electrodos estimulantes y de registro en el hipocampo. Específicamente, se siguieron las coordenadas estereotáxicas para implantar en los animales electrodos estimulantes dirigidos a la vía colateral-de comisura de Schaffer del hipocampo dorsal (2 mm lateral y 1,5 mm posterior a Bregma; 1,0-1,5 mm de profundidad desde la superficie cerebral). Además, se implantaron a los ratones electrodos de registro dirigidos al estrato radiatum ipsilateral bajo la zona CA1 (1,2 mm lateral y 2,2 mm

posterior a Bregma; 1,0-1,5 mm de profundidad desde la superficie cerebral). Se implantaron quirúrgicamente electrodos en la zona CA1 utilizando como guía el perfil de profundidad de potencial de campo evocado por pulsos pareados (20-50 ms de intervalo) presentados en la vía colateral ipsilateral de Schaffer. Se fijaron electrodos de registro en el lugar donde se registró un potencial postsináptico excitatorio de campo monosináptico (fEPSP) fiable.

- 5 Se fijó al cráneo un alambre de plata sin revestimiento de 0,1 mm a modo de tierra. Los alambres se conectaron a dos tomas de cuatro pines (disponibles en RS-Amidata, Madrid). El cable a tierra también se conectó al sistema de registro con un solo alambre. Las tomas se fijaron al cráneo con ayuda de dos pequeños tornillos y cemento dental.

- Los registros se realizaron utilizando amplificadores diferenciales Grass P511 con un ancho de banda de 0,1 Hz - 10 kHz (Grass-Telefactor, West Warwick, Rhode Island, E.E. U.U.). Los potenciales de campo sináptico en la zona CA1 se evocaron mediante un pulso pareado (de 40 ms de intervalo) de 100 μ s, cuadrado, bifásico (negativo-positivo) aplicado a las colaterales de Schaffer. Las intensidades de estímulo oscilaron entre los 50 y los 350 μ A. Para cada animal, la intensidad de estímulo se fijó muy por debajo del umbral para evocar un pico poblacional, normalmente al 30-40 % de la intensidad necesaria para evocar una respuesta máxima de fEPSP. Un criterio adicional para la selección de la intensidad de estímulo especificaba que un segundo estímulo, presentado 20-50 ms después de un pulso de condicionamiento, evocara un potencial de campo sináptico mayor (>20 %).

- Para evocar la PLP, a cada animal se le presentaron cinco trenes de impulsos de 200 Hz, 100 μ s a una velocidad de 1/s. Estos trenes se presentaron seis veces en total, a intervalos de un minuto. Los pulsos cuadrados bifásicos de 100 μ s utilizados para evocar la PLP se aplicaron a la misma intensidad utilizada para evocar los registros de referencia. Los registros de referencia se recogieron durante 15 minutos, en los que los estímulos pareados se presentaron cada 20 s. Después, se volvieron a registrar las fEPSP durante 30 minutos. Se realizaron registros adicionales durante 15 minutos cada día a lo largo de los tres días siguientes. En la figura 1 se muestran los resultados.
- 25 Como se muestra en la figura 1, el grupo alimentado con 2FL mostró una mayor y más duradera potenciación de los potenciales postsinápticos excitatorios de campo evocados en la sinapsis hipocampal CA3-CA1 cuando en comparación con los grupos de control ($p < 0,05$).

EJEMPLO 2

- 30 En este Ejemplo, se analizó el efecto de la 2FL sobre la PLP de la sinapsis hipocampal CA3-CA1 en ratas alerta.

Animales y grupos

- 35 Un total de cuatro ratas Sprague Dawley macho, cada una de 2 meses de edad y con un peso de 150-200 g, se introdujeron en jaulas individuales con comida y agua *ad libitum*. Las ratas se mantuvieron con un ciclo de 12/12 horas de luz/oscuridad a una temperatura ambiente ($22 \pm 1^\circ\text{C}$) y humedad ($50 \pm 7\%$) constantes. Todas las pruebas se realizaron durante el ciclo de luz.

40 Procedimientos quirúrgicos y de implantación de electrodos

- Las ratas se anestesiaron con 0,8%-3% de isoflurano (disponible en AstraZeneca, Madrid) administrado a través de una mascarilla casera. El halotano se administró desde un vaporizador calibrado Fluotec 5 (disponible en Fluotec-Ohmeda, Tewksbury, Massachusetts, E.E. U.U.) a un caudal de oxígeno de 1-4 L/min. Una vez anestesiados, a las ratas se les implantaron electrodos estimulantes y de registro en el hipocampo. Específicamente, se siguieron las coordenadas estereotáxicas para implantar en las ratas tres electrodos estimulantes (hechos de alambres de tungsteno recubiertos de teflón de 50 μ m disponibles en Advent Research Materials Ltd., Eynsham, Inglaterra) dirigidos a la vía colateral-de comisura derecha (contralateral) de Schaffer del hipocampo dorsal (3,5 mm lateral y 3,2 mm posterior a Bregma). Además, se implantaron a las ratas cuatro electrodos de registro (hechos de alambres de tungsteno recubiertos de teflón de 50 μ m, disponibles en Advent Research Materials Ltd., Eynsham, Inglaterra) dirigidos al estrato radiatum ipsilateral bajo la zona CA1 (2,5 mm laterales y 3,6 mm posteriores a Bregma). Se implantaron quirúrgicamente electrodos en la zona CA1 utilizando como guía el perfil de profundidad de potencial de campo evocado por pulsos pareados (20-50 ms de intervalo) presentados en la vía colateral ipsilateral de Schaffer. Se fijaron electrodos de registro en el lugar donde se registró un potencial postsináptico excitatorio de campo monosináptico (fEPSP) fiable. Se fijó al cráneo un alambre de plata sin revestimiento de 0,1 mm a modo de tierra. Los alambres se conectaron a dos tomas (disponibles en RS-Amidata, Madrid). El cable a tierra también se conectó al sistema de registro con un solo alambre. Las tomas se fijaron al cráneo con ayuda de dos pequeños tornillos y cemento dental.
- 60 Los registros se realizaron utilizando amplificadores diferenciales Grass P511 con un ancho de banda de 0,1 Hz - 10 kHz (Grass-Telefactor, West Warwick, Rhode Island, E.E. U.U.). Los potenciales de campo sináptico en la zona CA1 se evocaron mediante un pulso pareado (de 40 ms de intervalo) de 100 μ s, cuadrado, bifásico (negativo-positivo)

aplicado a las colaterales de Schaffer. Las intensidades de estímulo oscilaron entre los 50 y los 350 μ A. Para cada rata, la intensidad de estímulo se fijó muy por debajo del umbral para evocar un pico poblacional, normalmente al 30-40 % de la intensidad necesaria para evocar una respuesta máxima de fEPSP. Un criterio adicional para la selección de la intensidad de estímulo especificaba que un segundo estímulo, presentado 20-50 ms después de un pulso de condicionamiento, evocara un potencial de campo sináptico mayor (>20 %).

Curvas de entrada/salida y prueba de pulsos pareados

Para las curvas de entrada/salida, se utilizaron pulsos simples de intensidades crecientes (normalmente, de 0,02 a 0,4 mA en pendientes de 0,02 mA). Cada estímulo se repitió 5 veces. El intervalo de tiempo entre las presentaciones de estímulos sucesivos fue de >20 segundos para evitar los efectos posteriores del par de estímulos precedente.

Para la prueba de pulsos pareados, se seleccionó una intensidad de estímulo (en mA) de aproximadamente el 35 % del total necesario para alcanzar los valores asintóticos del estudio de entrada/salida. Los estímulos de pulsos pareados se presentaron a intervalos de 10, 20, 40, 100, 200 y 500 ms. Cada par de estímulos se repitió cinco veces. El intervalo de tiempo entre las presentaciones de estímulos sucesivos fue de >20 segundos para evitar los efectos posteriores del par de estímulos precedente.

Se determinaron los valores de control de las curvas de entrada/salida y la facilitación de pulsos pareados en las cuatro ratas. A continuación, se administró oralmente 1 g/kg de 2FL disuelta en gelatina a las ratas. Tanto las pruebas de entrada/salida como las de pulsos pareados se repitieron 90 y 180 minutos después de la administración de 2FL.

Inducción de PLP en ratas despiertas

Para evocar la PLP, a cada rata se le presentaron cinco trenes de impulsos de 200 Hz, 100 ms a una velocidad de 1/s. Estos trenes se presentaron 6 veces en total, a intervalos de un minuto. Los pulsos cuadrados bifásicos de 100 μ s utilizados para evocar la PLP se aplicaron a la misma intensidad utilizada para evocar los registros de referencia. Los registros de referencia se recogieron durante 15 minutos, en los que los estímulos pareados se presentaron cada 20 segundos. Después, se volvieron a registrar las fEPSP durante 30 minutos. Se realizaron registros adicionales durante 20 minutos al día siguiente.

Resultados

Como se muestra en la figura 2, el uso de pulsos simples de intensidades crecientes evocó una fEPSP de amplitud creciente. Específicamente, la amplitud de las fEPSP evocadas en la sinapsis CA3-CA1 fue significativamente mayor 90 y 180 minutos después de la administración de 2FL.

Como se muestra en la figura 3, la prueba de pulsos pareados indicó una facilitación significativa ($P < 0,05$) al segundo pulso a intervalos breves (10, 20, 40 ms), pero no prolongados (>100 ms). Aunque los valores de facilitación evocados a los 40 ms de intervalos entre pulsos fueron menores antes que después de la administración de 2FL, no se encontraron diferencias significativas entre las tres sesiones de registro.

Las dos sesiones de registro realizadas tras la estimulación de alta frecuencia de la sinapsis hipocampal CA3-CA1 evocaron una PLP significativa (consulte la figura 4). Además, la PLP evocada después de 15 días de administración diaria de 1 g/kg de 2FL presentó fEPSPs significativamente mayores que los valores de control.

Según estos resultados, parece que la administración de 2FL tiene un efecto facilitador en las curvas de entrada y salida, y principalmente en la PLP evocada en la sinapsis hipocampal CA3-CA1.

50 EJEMPLO 3

En este Ejemplo, se analizó el efecto de la 2FL en la acetilcolinesterasa (AChE) en embriones de pez cebra.

Los embriones de pez cebra se criaron en agua durante 96 horas post-fecundación, cuando se produce la eclosión. A continuación, las larvas se transfirieron a una placa de cultivo de 24 pocillos y se incubaron durante 24 horas a 26° C en una dilución de 74,73 mg de 2FL por litro. En el ensayo se incluyó un control negativo (agua) y un control positivo para AChE (100 mg de ácido docosahexaenoico/litro).

Después de la incubación, se homogeneizaron y centrifugaron las larvas. Se determinaron los niveles de AChE y el contenido total de proteínas en los sobrenadantes resultantes. Se realizaron dos ensayos independientes por triplicado. Los datos específicos de actividad de AChE se remitieron al control y se sometieron a un análisis de la varianza. Se utilizaron pruebas post hoc de Bonferroni para las comparaciones.

Como se muestra en la figura 5, la 2FL indujo un aumento significativo de los niveles de AChE en comparación con el control negativo y tuvo una respuesta similar al control positivo.

5 EJEMPLOS 4-8

Los ejemplos 4-8 ilustran emulsiones nutricionales listas para usar en los procedimientos de la presente descripción, cuyos ingredientes se enumeran en la siguiente tabla. 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. 4	Ej. 5	Ej. 6	Ej. 7	Ej. 8
Agua	C.S.	C.S.	C.S.	C.S.	C.S.
Leche desnatada condensada	86,64	86,64	86,64	86,64	86,64
Lactosa	54,80	54,80	54,80	54,80	54,80
Aceite de cártamo rico en oleico	14,10	14,10	14,10	14,10	14,10
Aceite de soja	10,6	10,6	10,6	10,6	10,6
Aceite de coco	10,1	10,1	10,1	10,1	10,1
2-fucosil-lactosa (2FL)	0,0948	0,090	0,085	9,479	9,005
Galactooligosacáridos (GOS)	8,63	8,63	8,63	8,63	8,63
Concentrado de proteína de suero	6,40	6,40	6,40	6,40	6,40
Citrato de potasio	478,9 g	478,9 g	478,9 g	478,9 g	478,9 g
Carbonato Cálcico	448,28 g	448,28 g	448,28 g	448,28 g	448,28 g
Lecitina de soja	355,74 g	355,74 g	355,74 g	355,74 g	355,74 g
Estabilizador	355,74 g	355,74 g	355,74 g	355,74 g	355,74 g
Aceite de ARA	368,01 g	368,01 g	368,01 g	368,01 g	368,01 g
Premezcla de nucleótido/cloruro	293,26 g	293,26 g	293,26 g	293,26 g	293,26 g
Cloruro potásico	226,45 g	226,45 g	226,45 g	226,45 g	226,45 g
Ácido ascórbico	445,94 g	445,94 g	445,94 g	445,94 g	445,94 g
Premezcla de vitaminas y minerales	142,88 g	142,88 g	142,88 g	142,88 g	142,88 g
Aceite de DHA	137,8 g	137,8 g	137,8 g	137,8 g	137,8 g
Carragenano	180,0 g	180,0 g	180,0 g	180,0 g	180,0 g
Cloruro de magnesio	55,0 g	55,0 g	55,0 g	55,0 g	55,0 g
Sulfato ferroso	58,0 g	58,0 g	58,0 g	58,0 g	58,0 g
Cloruro de colina	53,9 g	53,9 g	53,9 g	53,9 g	53,9 g
Premezcla de vitaminas A, D ₃ , E, K ₁	47,4 g	47,4 g	47,4 g	47,4 g	47,4 g
Ácido cítrico	29,77 g	29,77 g	29,77 g	29,77 g	29,77 g
Premezcla de carotenoides mixtos	26,40 g	26,40 g	26,40 g	26,40 g	26,40 g
Cloruro sódico	AN	AN	AN	AN	AN
L-carnitina	3,31 g	3,31 g	3,31 g	3,31 g	3,31 g
Fosfato tricálcico	15,65 g	15,65 g	15,65 g	15,65 g	15,65 g
Fosfato de potasio monobásico	13,67 g	13,67 g	13,67 g	13,67 g	13,67 g
Riboflavina	2,42 g	2,42 g	2,42 g	2,42 g	2,42 g
Hidróxido de potasio	AN	AN	AN	AN	AN
AN= según sea necesario					

EJEMPLOS 9-13

Los ejemplos 9-13 ilustran emulsiones nutricionales listas para usar en los procedimientos de la presente descripción, cuyos ingredientes se enumeran en la siguiente tabla. Todas las cantidades de ingrediente se enumeran como 5 kilogramos por lote de 1000 kilogramos de producto, a menos que se especifique otra cosa.

Ingrediente	Ej. 9	Ej. 10	Ej. 11	Ej. 12	Ej. 13
Agua	C.S.	C.S.	C.S.	C.S.	C.S.
Leche desnatada condensada	86,64	86,64	86,64	86,64	86,64
Lactosa	54,80	54,80	54,80	54,80	54,80
Aceite de cártamo rico en oleico	14,10	14,10	14,10	14,10	14,10
Aceite de soja	10,6	10,6	10,6	10,6	10,6
Aceite de coco	10,1	10,1	10,1	10,1	10,1
Mezcla de OLH	0,0948	0,0901	0,0853	9,479	9,0047
6-sialil-lactosa (6SL)	0,0316	0,0300	0,0284	0	0
2-fucosil-lactosa (2FL)	0,0316	0,0300	0,0284	3,159	3,002
Lacto-N-neotetraosa (LNnT)	0,0316	0,0300	0,0284	0	0
Galactooligosacáridos (GOS)	8,63	8,63	8,63	8,63	8,63
Concentrado de proteína de suero	6,40	6,40	6,40	6,40	6,40
Citrato de potasio	478,9 g	478,9 g	478,9 g	478,9 g	478,9 g
Carbonato Cálcico	448,28 g	448,28 g	448,28 g	448,28 g	448,28 g
Lecitina de soja	355,74 g	355,74 g	355,74 g	355,74 g	355,74 g
Estabilizador	355,74 g	355,74 g	355,74 g	355,74 g	355,74 g
Aceite de ARA	368,01 g	368,01 g	368,01 g	368,01 g	368,01 g
Premezcla de nucleótido/cloruro	293,26 g	293,26 g	293,26 g	293,26 g	293,26 g
Cloruro potásico	226,45 g	226,45 g	226,45 g	226,45 g	226,45 g
Ácido ascórbico	445,94 g	445,94 g	445,94 g	445,94 g	445,94 g
Premezcla de vitaminas y minerales	142,88 g	142,88 g	142,88 g	142,88 g	142,88 g
Aceite de DHA	137,8 g	137,8 g	137,8 g	137,8 g	137,8 g
Carragenano	180,0 g	180,0 g	180,0 g	180,0 g	180,0 g
Cloruro de magnesio	55,0 g	55,0 g	55,0 g	55,0 g	55,0 g
Sulfato ferroso	58,0 g	58,0 g	58,0 g	58,0 g	58,0 g
Cloruro de colina	53,9 g	53,9 g	53,9 g	53,9 g	53,9 g
Premezcla de vitaminas A, D ₃ , E, K ₁	47,40 g	47,40 g	47,40 g	47,40 g	47,40 g
Ácido cítrico	29,77 g	29,77 g	29,77 g	29,77 g	29,77 g
Premezcla de carotenoides mixtos	26,40 g	26,40 g	26,40 g	26,40 g	26,40 g
Cloruro sódico	AN	AN	AN	AN	AN
L-carnitina	3,31 g	3,31 g	3,31 g	3,31 g	3,31 g
Fosfato tricálcico	15,65 g	15,65 g	15,65 g	15,65 g	15,65 g
Fosfato de potasio monobásico	13,67 g	13,67 g	13,67 g	13,67 g	13,67 g
Riboflavina	2,42 g	2,42 g	2,42 g	2,42 g	2,42 g
Hidróxido de potasio	AN	AN	AN	AN	AN
AN= según sea necesario					

REIVINDICACIONES

1. Una composición nutricional que comprende 2-fucosil-lactosa para su uso en la mejora del aprendizaje en un individuo sometido a estrés psicológico en los primeros años de vida, mediante la cual se mejora la respuesta de potenciación a largo plazo del hipocampo en el individuo.
2. La composición nutricional según la reivindicación 1, donde el estrés psicológico es estrés psicológico agudo.
- 10 3. La composición nutricional según la reivindicación 1, donde la administración de la composición nutricional al individuo trata un deterioro resultante de una reducción de la excitabilidad de las neuronas del hipocampo.
4. La composición nutricional para el uso según cualquiera de las reivindicaciones 1-3, donde el individuo es un lactante.
- 15 5. La composición nutricional para su uso según cualquiera de las reivindicaciones 1-4, donde la administración de la composición nutricional al individuo da lugar a uno o más de uno de: mejora de la adquisición y recuperación de recuerdos en el individuo.
- 20 6. La composición nutricional para su uso según cualquiera de las reivindicaciones 1-5, donde la administración de la composición nutricional al individuo da lugar a un aumento de la funcionalidad cerebral en el individuo.
7. La composición nutricional para su uso según cualquiera de las reivindicaciones 1-6, donde la composición nutricional es un líquido y comprende de 0,001 mg/mL a 20 mg/mL de 2-fucosil-lactosa.
- 25 8. La composición nutricional para su uso según cualquiera de las reivindicaciones 1-7, donde la composición nutricional es un líquido y comprende de 0,001 mg/mL a 10 mg/mL de 2-fucosil-lactosa.
9. La composición nutricional para su uso según cualquiera de las reivindicaciones 1-8, donde la composición nutricional es un líquido y comprende de 0,001 mg/mL a 5 mg/mL de 2-fucosil-lactosa.
- 30 10. La composición nutricional para su uso según cualquiera de las reivindicaciones 1-6, donde la composición nutricional es un polvo y comprende de 0,0005 % to 5 % en peso del polvo de 2-fucosil-lactosa.
- 35 11. La composición nutricional para su uso según cualquiera de las reivindicaciones 1-6, donde la composición nutricional es un polvo y comprende de 0,01% to 1% en peso del polvo de 2-fucosil-lactosa.
12. La composición nutricional para su uso según cualquiera de las reivindicaciones 1-11, donde la composición nutricional comprende, además, al menos un compuesto seleccionado del grupo compuesto de grasa, proteína y carbohidrato.
- 40 13. La composición nutricional para el uso según cualquiera de las reivindicaciones 1-12, donde la composición nutricional es una leche maternizada para lactantes.

FIG. 1

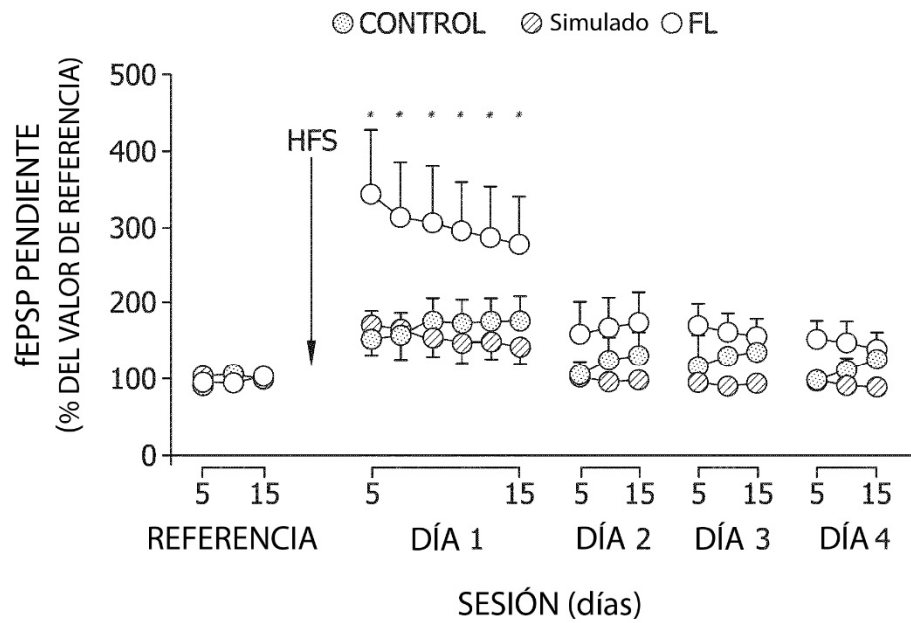


FIG. 2

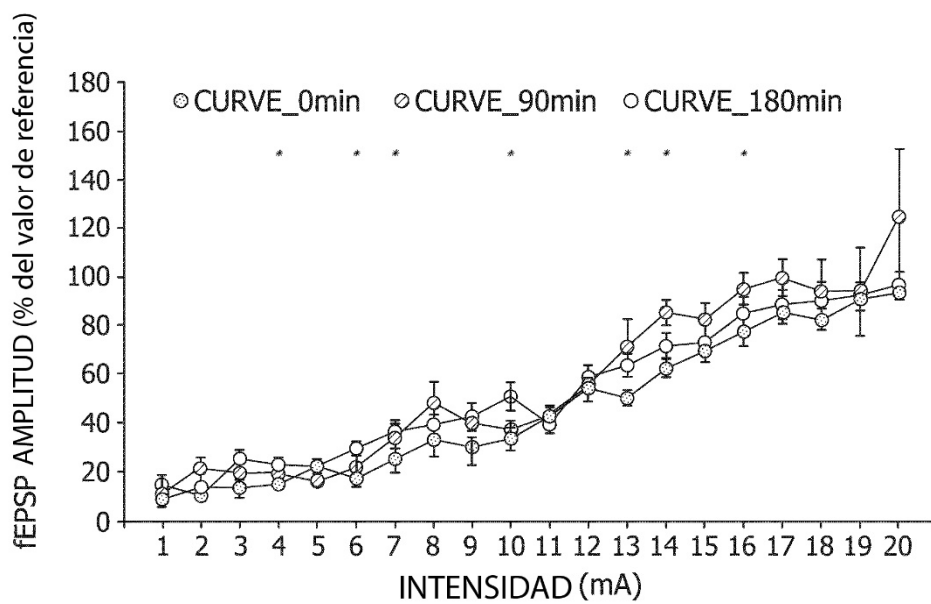


FIG. 3

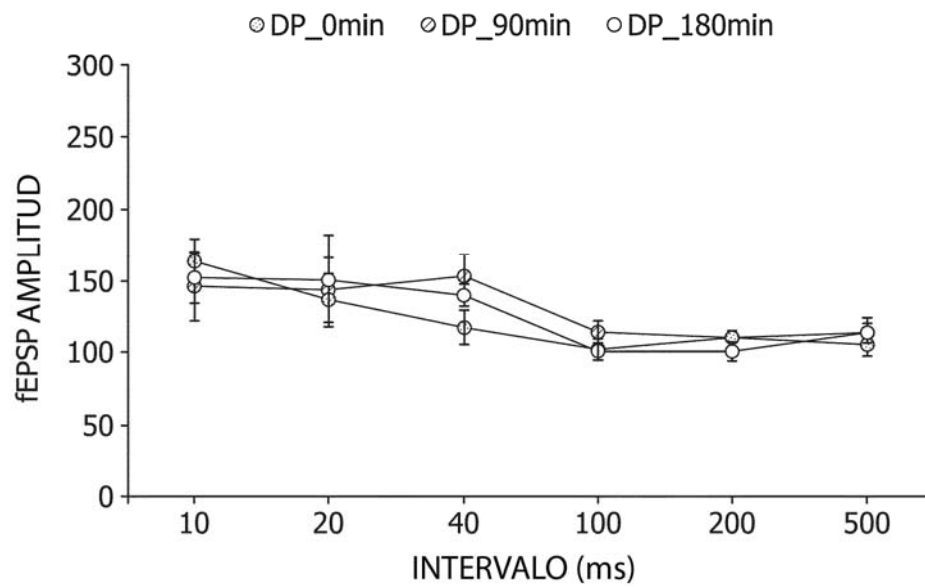


FIG. 4

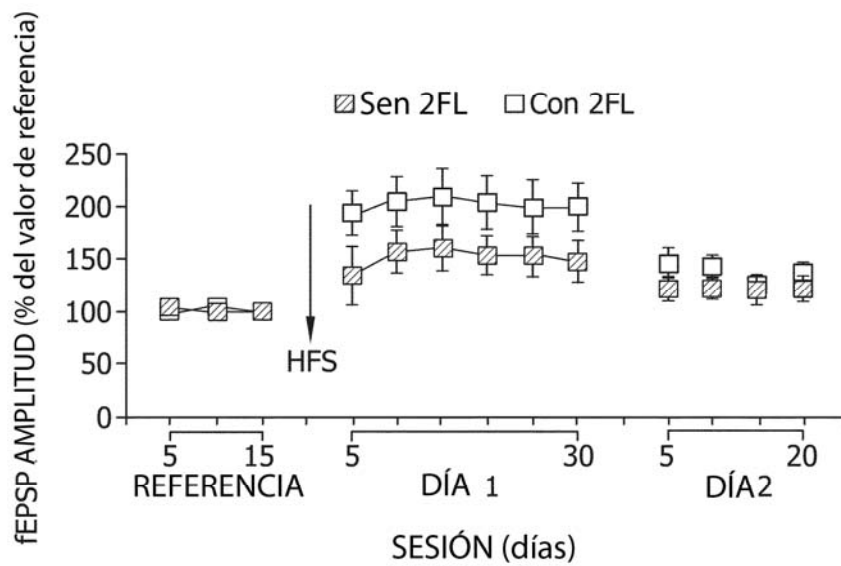


FIG. 5

