



República Federativa do Brasil  
Ministério do Desenvolvimento, Indústria  
e do Comércio Exterior  
Instituto Nacional da Propriedade Industrial.

(21) **PI0617175-3 A2**

(22) Data de Depósito: 02/10/2006  
(43) Data da Publicação: 12/07/2011  
(RPI 2114)



**(51) Int.Cl.:**  
A61P 25/28 2006.01  
A23K 1/18 2006.01  
A23K 1/16 2006.01

(54) Título: **COMPOSIÇÕES, BEM COMO USO DE ÁCIDOS GRAXOS POLI-INSATURADOS DE CADEIA LONGA (LCPUFA) NA PREPARAÇÃO DAS MESMAS, PARA MELHORA DA FUNÇÃO COGNITIVA**

(57) Resumo: COMPOSIÇÕES, BEM COMO USO DE ÁCIDOS GRAXOS POLI-INSATURADOS DE CADEIA LONGA (LCPUFA) NA PREPARAÇÃO DAS MESMAS, PARA MELHORA DA FUNÇÃO COGNITIVA. A presente invenção refere-se a composições e métodos para aumento da função cognitiva em animais. As composições e métodos utilizam ácidos graxos poli-insaturados de cadeia longa.

(30) Prioridade Unionista: 30/09/2005 US 60/722,788

(73) Titular(es): NESTEC S.A

(72) Inventor(es): Arleigh J. Reynolds, Mark K. Waldron

(74) Procurador(es): Dannemann, Siemsen, Bigler & Ipanema Moreira

(86) Pedido Internacional: PCT US2006038287 de 02/10/2006

(87) Publicação Internacional: WO 2007/041418 de 12/04/2007

**Relatório Descritivo da Patente de Invenção para "COMPOSIÇÕES, BEM COMO USO DE ÁCIDOS GRAXOS POLI-INSATURADOS DE CADEIA LONGA (LCPUFA) NA PREPARAÇÃO DAS MESMAS, PARA MELHORA DA FUNÇÃO COGNITIVA".**

**5    Campo da Invenção**

A presente invenção refere-se à nutrição de mamífero e seus efeitos sobre a função cognitiva. Em particular, a presente invenção utiliza ácidos graxos poli-insaturados de cadeia longa, administrados durante a gestação através da dieta materna, ou pós-parto a partir do leite materno ou  
10    diretamente através da dieta enquanto os animais adultos, para melhorar a resolução de problemas, retenção de memória e estabilidade mental.

**Antecedentes da Invenção**

Várias publicações, incluindo patentes, pedidos publicados, artigos técnicos e artigos acadêmicos são citados ao longo do relatório descritivo. Cada uma dessas publicações citadas é incorporada aqui a título de referência, em sua totalidade. Citações integrais a publicações não citadas integralmente no relatório descritivo são mostradas no final do relatório descritivo.  
15   

Ambas as classes (n-3) e (n-6) de ácidos graxos poli-insaturados de cadeia longa (LCPUFA) são importantes em desenvolvimento perinatal. Grande evidência indica que os ácidos graxos (n-3) são de importância particular no desenvolvimento do sistema nervoso central (CNS). Em primatas, o desenvolvimento neural começa no terceiro trimestre de gestação, atinge o pico por volta do momento do nascimento e continua por cerca de 18-24  
20    meses após o parto (Menard, C.R. e outros, 1998, Martinez, M., 1992). Embora diferenças sejam prováveis, acredita-se que este padrão de desenvolvimento seja verdadeiro dentre a maioria das espécies de mamífero (Bauer, J.E. e outros, 2004).  
25   

Durante este período desenvolvimental, ácidos graxos, tais como ácido araquidônico (AA) e ácido docosa-hexanoico (DHA), são rapidamente incorporados aos tecidos neurais (Sinclair, A.J., 1975, Greiner, R.C. e outros, 1997). Acúmulo de DHA acontece principalmente durante o final da  
30

gestação e no período pós-natal de desenvolvimento, embora enriquecimento de DHA em tecidos neurológicos continue pós-parto (Carnielli, V.P. e outros, 1998). DHA é principalmente encontrado nos fosfolípidos serina e etanolamina em tecidos retinal e neurológico.

5                   A incorporação de DHA suplementar no tecido neurológico foi investigada. Estudos *in vitro* mostraram que células neuronais retinais de rato incubadas com DHA tinham quatro a seis vezes mais DHA do que células incubadas com outros ácidos graxos (Rotstein, N.P. e outros, 1999). A adição de outros ácidos graxos neste estudo não teve nenhum efeito sobre a  
10                   alteração das composições de ácido graxo de membrana celular. O trabalho sugeriu que neurônios retinais têm mecanismos específicos para manuseamento de ácidos graxos de comprimento e dessaturação diferentes e a absorção seletiva de DHA. Na verdade, parece haver pelo menos um mecanismo através do qual DHA é seletivamente absorvido pelos tecidos neural e  
15                   retinal. Estudos em porcos mostraram que dietas suplementadas com DHA aumentam o acúmulo cerebral de DHA durante o período de crescimento pós-natal (Morris, S.A. e outros, 1999). Ainda, estudos *in vivo* mostraram que DHA suplementar é acumulado em tecidos neurológicos em porquinhos, galinhas e primatas não-humanos (Pawlosky, R.J. e outros, 1997, Green, P. e  
20                   outros, 1996). Por outro lado, uma deficiência de DHA mostrou ser prejudicial em espécies de laboratório. Por exemplo, ratos alimentados com dietas deficientes tinham memória e habilidade cognitiva menores (Moriguchi, T. e outros, 2000). Resultados similares foram observados em bebês humanos prematuros e em macacos *Rhesus* alimentados com dietas deficientes em  
25                   DHA (Carlson, S.E. e outros, 1993; e Neuringer, M. e outros, 1984).

                  As grandes quantidades de DHA encontradas no cérebro e na retina sugerem um papel funcional nesses tecidos (Litman, B.J. e outros, 2001). Em primatas não-humanos e bebês humanos, DHA suplementar foi mostrado aumentar a acuidade visual e habilidades cognitivas (Willats, P.,  
30                   2002; Uauy, R. e outros, 2003; Gil, A. e outros, 2003). Deficiência de ácidos graxos poli-insaturados (n-3) durante a fase desenvolvimental de tecidos neurais pode resultar em anormalidades funcionais irreversíveis.

Suplementação alimentar com DHA e AA também mostrou melhorar aprendizagem em ratos e macacos *rhesus* (Lothaller, M.A. e outros (1991), Greiner, R.S. e outros (1999) e Wainwright, P.E. e outros, (1999)). Ainda, crianças que foram alimentadas com fórmulas suplementadas com esses LCPUFA também mostraram acuidade visual aperfeiçoada e scores maiores em um teste de índice de desenvolvimento mental (MDI) do que um grupo comparável alimentado com a fórmula idêntica destituída de DHA e AA (Birch, E.E. e outros (2002)).

Nem todos os estudos que investigam os efeitos de suplementação de DHA e AA sobre o desenvolvimento do sistema nervoso central mostraram tais resultados positivos (Gibson, R.A. e outros, 1997)). Um exame mais atento das quantidades de AA e DHA alimentados, bem como o período de desenvolvimento do animal, pode explicar as diferenças entre esses estudos que mostraram um benefício de suplementação e aqueles que não. Parece haver uma janela de tempo durante o desenvolvimento inicial onde suplementação de LCPUFA é mais benéfica. Este tempo pode variar de espécie para espécie, dependendo de quando crescimento e desenvolvimento do CNS é mais rápido. (Connor, W.E. e outros (1990) e (Liu, C.C. e outros (1987)). Por exemplo, macacos *rhesus* mostraram um aumento significativo no teor de DHA de seu córtex cerebral após uma semana de suplementação. Concentrações de DHA cerebrais continuaram a aumentar por 12 semanas, ponto onde elas estabilizaram em 7 vezes o valor de pré-suplementação. (Connor, W.E. e outros (1990)). Parece então que a suplementação deve acontecer durante um momento quando o cérebro vai incorporar DHA e AA nas taxa e concentração máximas, e deve continuar por um período de tempo longo o suficiente para permitir saturação das membranas plasmáticas no tecido neurológico. Embora incorporação máxima de LCPUFA possa acontecer durante uma janela de tempo limitada, ingestões adequadas de LCPUFA podem ser requeridas durante a vida, conforme evidenciado pelo fato de que a meia-vida do DHA em cérebro de macaco *rhesus* parece ser apenas de 21 dias (Connor, W.E. e outros (1990)).

Tão importante quanto o momento e a duração de suplementa-

ção é a quantidade de cada tipo de LCPUFA provido na dieta do animal. Um estudo mostrou que crianças recebendo apenas suplementação com DHA sofreram um aumento significativo na concentração de DHA em suas membranas de célula sanguínea vermelha, embora nenhuma mudança significativa em seu score de MDI tenha sido observada com relação a crianças não-suplementadas (Gibson, R.A. e outros, (1997)). Estudos em crianças (Carlson, S.E. (1996)), ratos (Greiner, R.S. e outros (1999)) e macacos *rhesus* (Connor, W.E. e outros (1990)) mostraram que suplementação com DHA na ausência de suplementação de AA leva a um aumento nas concentrações no CNS e RBC de DHA com uma diminuição concomitante na concentração de AA dessas membranas. A maioria dos estudos que reconheceram um benefício de suplementação de DHA suplementaram AA ao mesmo tempo.

Apesar do conhecimento com relação aos benefícios de DHA e AA, e os benefícios de suplementação dietética de DHA e AA em seres humanos e certos mamíferos de laboratório, os benefícios de DHA e AA no desenvolvimento neurológico de animais domésticos e de companhia tais como cachorros e gatos permanecem muito inexplorados. Então, há uma necessidade na técnica de provisão de composições e métodos para dar os benefícios de DHA e AA, e LCPUFA geralmente, a esses tipos de animais, para melhorar sua função cognitiva e prover vantagens neurológicas relacionadas. Enriquecimento de dietas de reprodução/lactação e crescimento com LCPUFA pode prover animais com função cognitiva superior que se traduz em uma ligação animal-dono mais satisfatória. A presente invenção satisfaz esta necessidade.

## 25 Sumário da Invenção

Um aspecto da invenção refere-se a composições compreendendo um ou mais ácidos graxos poli-insaturados de cadeia longa (LCPUFA) em uma quantidade eficaz para melhorar a função cognitiva em um animal. Em várias modalidades, a composição é uma composição de alimento para animal ou um suplemento alimentar. Em várias modalidades, o animal é um animal de companhia, de preferência, um cachorro ou gato. Os LCPUFA podem incluir pelo menos um dentre ácido araquidônico, ácido eicosapenta-

enoico, ácido docosapentaenoico ou ácido docosa-hexanoico e pode estar presente em uma quantidade de pelo menos cerca de 0,1% a cerca de 10% em peso da composição, mais especificamente entre cerca de 0,4 a cerca de 5,0% em peso da composição e, mais especificamente ainda, entre cerca de 2% e cerca de 2,5% em peso da composição.

Outro aspecto da invenção refere-se a um método para aumento da função cognitiva em um animal compreendendo administrar ao animal um ou mais LCPUFA em uma quantidade eficaz para aumentar a função cognitiva no animal. Neste aspecto da invenção, os LCPUFA podem incluir um ou mais dentre ácido araquidônico, ácido eicosapentaenoico, ácido docosapentaenoico ou ácido docosa-hexanoico. Em certas modalidades, o animal é um animal de companhia, de preferência um cachorro ou um gato.

Em uma modalidade, os LCPUFA são administrados ao animal durante a gestação. Em outra modalidade, os LCPUFA são administrados ao animal durante o período que se estende do parto até cerca de doze semanas após o parto. Em outra modalidade, os LCPUFA são administrados ao animal durante a gestação e durante o período que se estende do parto a cerca de doze semanas após o parto.

Em várias modalidades, os LCPUFA são administrados em uma composição de alimento para animal ou um suplemento alimentar. Em outra modalidade, os LCPUFA são administrados em leite de um animal lactante ao qual foram administrados um ou mais LCPUFA. Em outras modalidades, os LCPUFA são administrados em uma composição de alimento para animal ou suplemento alimentar e em leite de um animal lactante ao qual foram administrados um ou mais LCPUFA.

Os LCPUFA podem ser administrados ao animal em vários regimes. Em uma modalidade, os LCPUFA são administrados em uma base diária. Em outra modalidade, os LCPUFA são administrados ao animal como parte de um regime alimentar. Em modalidades específicas, a duração do regime alimentar varia do parto até cerca de 12 semanas de idade.

Outras características e vantagens da invenção serão compreendidas a partir da descrição detalhada e exemplos que seguem.

### Descrição Detalhada das Modalidades Ilustrativas

O desenvolvimento neural apropriado de espécies de mamífero depende da presença de LCPUFA, especialmente DHA, durante desenvolvimento fetal e o período perinatal. DHA e AA são de importância particular com relação a isso porque eles demonstraram aumentar as habilidades cognitivas em certos primatas humanos e não-humanos e em animais de laboratório. De acordo com a presente invenção, foi demonstrado que ácidos graxos poli-insaturados de cadeia longa disponibilizados a animais prénatalmente através da dieta materna e pós-natalmente através da dieta do animal são eficazes na promoção de habilidades cognitivas aumentadas nos animais. Função cognitiva aumentada é conseguida quando LCPUFA são administrados aos animais indiretamente através de sua mãe durante a gestação, diretamente aos animais através de sua dieta ou administrados aos animais em suas combinações.

É então importante assegurar que LCPUFA tal como DHA e AA estejam em fornecimento pleno no sangue do mamífero fêmea durante a gestação e estejam em fornecimento pleno no sangue do animal neonatal durante todo o período perinatal e durante o desenvolvimento do animal jovem. Um meio de atingir este objetivo é através da dieta de ambos a fêmea grávida e seus recém-nascidos em desenvolvimento.

De nota particular com relação a isso é que LCPUFA da dieta podem ser providos ao animal recém-nascido através do leite da fêmea lactante. Em seres humanos, suplementação dietética com suplementos de farinha de peixe ou óleo de peixe resulta na deposição de ácidos graxos (n-3), especialmente DHA, no leite de peito. O teor de DHA de leite de peito humano é proporcional ao teor de DHA da dieta materna. Esta observação parece ser verdadeira para outros mamíferos, incluindo primatas não-humanos, ratos e cachorros. Um efeito de dose é observado entre o teor de DHA da dieta e o teor de DHA do leite de cachorros fêmeas lactantes (Bauer, J.E. e outros, 2004, *abstract*). Então, um meio de prover LCPUFA de dieta a animais neonatais e jovens, particularmente durante o período perinatal, é através do leite da fêmea lactante.

### Definições:

Vários termos com relação aos métodos e outros aspectos da presente invenção são usados em todo o relatório e reivindicações. Tais termos devem receber seu significado comum na técnica a menos que de  
5 outro modo indicado. Outros termos especificamente definidos devem ser considerados de uma maneira consistente com a definição provida aqui.

As abreviações que seguem podem ser usadas no relatório e exemplos: AA, ácido araquidônico; ANOVA, análise de variância; BW, peso do corpo; DHA, ácido docosa-hexanoico; DM, matéria seca; DPA, ácido do-  
10 cosapentaenoico; EPA, ácido eicosapentaenoico; LCPUFA, ácidos graxos poli-insaturados de cadeia longa.

"Quantidade eficaz" refere-se a uma quantidade de um composto, material ou composição, conforme aqui descrito, que é eficaz para atingir um resultado biológico particular. Tais resultados incluem, mas não estão  
15 limitados a, aumento da função cognitiva, melhora de habilidades de resolução de problemas, melhora da memória e estabilidade mental aperfeiçoada. Tal atividade eficaz pode ser conseguida, por exemplo, através da administração das composições da presente invenção ao animal.

O termo "função cognitiva" refere-se à atividade fisiológica especial, normal ou apropriada do cérebro, incluindo, sem limitação, estabilidade  
20 mental, habilidades de memória/lembrança, habilidades de resolução de problemas, habilidades de raciocínio, habilidades de pensamento, habilidades de julgamento, capacidade de aprendizagem, percepção, intuição e consciência. "Função cognitiva aumentada" refere-se a um aperfeiçoamento  
25 na atividade fisiológica especial, normal ou apropriada do cérebro, incluindo, sem limitação, estabilidade mental, habilidades de memória/lembrança, habilidades de resolução de problemas, habilidades de raciocínio, habilidades de pensamento, habilidades de julgamento, capacidade de aprendizagem, percepção, intuição, e consciência, conforme medido através de quaisquer meios adequados na técnica.  
30

Conforme aqui usado, "ácidos graxos poli-insaturados de cadeia longa" ou "LCPUFA" referem-se a qualquer ácido monocarboxílico tendo

pelo menos 20 átomos de carbono e pelo menos duas ligações duplas. Exemplos não-limitantes de LCPUFA incluem ácidos graxos (n-6) tais como ácido araquidônico e ácidos graxos (n-3) tais como ácido eicosapentaenoico, ácido docosapentaenoico e ácido docosa-hexanoico.

5                   A presente invenção refere-se a qualquer animal, de preferência um mamífero, e, com mais preferência, animais de companhia. Um "animal de companhia" é qualquer animal domesticado e inclui, sem limitação, gatos, cachorros, coelhos, porquinhos-da-índia, furões, hamsters, camundongos, gerbils, cavalos, vacas, cabras, ovelha, burros, porcos e similar. Cachorros e  
10                   gatos são mais preferidos, e cachorros são exemplificados aqui.

                  Conforme aqui usado, o termo "alimento para animal" ou "composição alimentícia para animal" significa uma composição que é pretendida para ingestão por um animal e, de preferência, por um animal de companhia. Um "alimento para animal completo e nutricionalmente equilibrado" é um que  
15                   contém todos os nutrientes requeridos conhecidos em quantidades e proporções apropriadas com base em recomendações de autoridades reconhecidas no campo de nutrição de animal de companhia e, então, é capaz de servir como uma fonte única de ingestão de dieta para manter a vida ou promover produção, sem a adição de fontes nutricionais suplementares. Composições alimentícias para animal nutricionalmente equilibradas são amplamente  
20                   conhecidas e amplamente usadas na técnica.

                  Conforme aqui usado, um "suplemento alimentar" é um produto que pretende ser ingerido em adição à dieta normal de um animal.

#### Composições:

25                   Uma modalidade da invenção refere-se a composições compreendendo um ou mais LCPUFA em uma quantidade eficaz para o aumento da função cognitiva em animais. Os LCPUFA podem estar presentes na composição como um ingrediente ou aditivo. Em uma modalidade preferida, a composição compreende ácidos graxos (n-3) tais como EPA, DPA e, com  
30                   mais preferência, DHA. Em outra modalidade preferida, a composição compreende ácidos graxos (n-6) tal como AA. Em uma modalidade mais preferida, a composição compreende combinações de ácido graxos (n-3) e (n-6),

com mais preferência DHA e AA. As composições enriquecem o plasma sanguíneo com LCPUFA em animais aos quais a composição é administrada, e enriquecem o leite de um animal lactante com LCPUFA em animais lactantes aos quais a composição é administrada.

5                Em uma modalidade preferida, as composições da invenção são composições alimentícias para animal. Essas vão incluir vantajosamente alimentos destinados a fornecer as exigências de dieta necessárias, bem como guloseimas (por exemplo, biscoitos) ou outros suplementos alimentares. Opcionalmente, as composições alimentícias para animal podem ser  
10                uma composição seca (por exemplo, farelo (*kibble*)), composição semiúmida, composição úmida ou qualquer mistura delas. Em outra modalidade preferida, a composição é um suplemento alimentar, tal como um molho, água para beber, bebida, iogurte, pó, grânulo, pasta, suspensão, produto para mastigação, petisco, guloseima, lanche, pélete, pílula, cápsula, comprimido  
15                ou qualquer outra forma de distribuição. Em uma modalidade detalhada, o suplemento alimentar pode compreender uma alta concentração de LCPUFA ou DHA e AA de modo que o suplemento pode ser administrado ao animal em pequenas quantidades, ou em alternativa, pode ser diluído antes da administração a um animal. O suplemento alimentar pode requerer mistura  
20                com água antes da administração ao animal.

                 A composição pode ser refrigerada ou congelada. Os LCPUFA podem ser pré-misturados com os outros componentes da composição para prover as quantidades benéficas necessárias, podem ser revestidos sobre uma composição de alimento para animal ou podem ser adicionados à com-  
25                posição antes de oferecê-la ao animal, por exemplo, usando um pó ou uma mistura salpicada.

                 As composições da invenção compreendem LCPUFA em uma quantidade eficaz para aumentar a função cognitiva em um animal ao qual a composição foi administrada. Para alimentos de animais, a quantidade de  
30                LCPUFA (n-3) como uma porcentagem da composição está na faixa de cerca de 0,1% a cerca de 10%, em certas modalidades, até 5% em outras modalidades e cerca de 2,0% em modalidades específicas, da composição em

uma base de matéria seca, embora uma porcentagem maior possa ser fornecida. Em várias modalidades, a quantidade é cerca de 0,1%, 0,2%, 0,3%, 0,4%, 0,5%, 0,6%, 0,7%, 0,8%, 0,9%, 1,0%, 1,1%, 1,2%, 1,3%, 1,4%, 1,5%, 1,6%, 1,7%, 1,8%, 1,9%, 2,0%, 2,1%, 2,2%, 2,3%, 2,4%, 2,5%, 2,6%, 2,7%, 2,8%, 2,9%, 3,0%, 3,1%, 3,2%, 3,3%, 3,4%, 3,5%, 3,6%, 3,7%, 3,8%, 3,9%, 4,0%, 4,1%, 4,2%, 4,3%, 4,4%, 4,5%, 4,6%, 4,7%, 4,8%, 4,9%, 5,0% ou mais da composição em uma base de matéria seca. A quantidade de LCPUFA (n-6) como uma porcentagem da composição está na faixa de cerca de 0,1% a cerca de 10% em certas modalidades, até 5% em outras modalidades e cerca de 2,0% em modalidades específicas da composição em uma base de matéria seca, embora uma porcentagem maior possa ser fornecida. Em várias modalidades, a quantidade é cerca de 0,1%, 0,2%, 0,3%, 0,4%, 0,5%, 0,6%, 0,7%, 0,8%, 0,9%, 1,0%, 1,1%, 1,2%, 1,3%, 1,4%, 1,5%, 1,6%, 1,7%, 1,8%, 1,9%, 2,0%, 2,1%, 2,2%, 2,3%, 2,4%, 2,5%, 2,6%, 2,7%, 2,8%, 2,9%, 3,0%, 3,1%, 3,2%, 3,3%, 3,4%, 3,5%, 3,6%, 3,7%, 3,8%, 3,9%, 4,0%, 4,1%, 4,2%, 4,3%, 4,4%, 4,5%, 4,6%, 4,7%, 4,8%, 4,9%, 5,0% ou mais da composição em uma base de matéria seca. Suplementos alimentares podem ser formulados para conter concentrações de LCPUFA várias vezes maiores, para serem cômodos para administração a um animal na forma de um comprimido, cápsula, concentrado líquido, ou outra forma de dosagem similar, ou serem diluídos antes da administração, tal como através de diluição em água, pulverização ou polvilhamento sobre um alimento para animal e outros modos de administração similares.

Em outra modalidade, a quantidade de LCPUFA na composição é uma função de uma quantidade requerida para estabelecer uma concentração específica de LCPUFA no soro sanguíneo do animal. A concentração especificada de LCPUFA no soro sanguíneo está na faixa de cerca de 0,1% a cerca de 25% de teor de ácido graxo total no soro sanguíneo. Em ainda outra modalidade, a quantidade de LCPUFA na composição é uma função de uma quantidade requerida para estabelecer uma concentração especificada de LCPUFA no leite do animal lactante. A concentração especificada de LCPUFA (n-3) no leite está na faixa de cerca de 0,1% a cerca de 7,0% de

teor de ácido graxo total no leite. A concentração especificada de LCPUFA (n-6) no leite está na faixa de cerca de 0,1% a cerca de 7,0% do teor de ácido graxo total no leite.

As fontes de cada um dos LCPUFA pode ser qualquer fonte adequada, sintética ou natural. Fontes preferidas de LCPUFA incluem, sem limitação, cianobactérias e algas, tais como *Cryptothecodinium cohnii* e *Schizochytrium spp.*, e peixe, especialmente peixe de água fria tal como salmão, atum, cavala, arenque, perca do mar, robalo riscado, tubarão, halibute, peixe galo, sardinhas, camarão e moluscos, e seus óleos extraídos, ou os LCPU-  
FA podem ser sintetizados *de novo* de acordo com quaisquer meios adequados na técnica.

As composições da invenção podem compreender opcionalmente substâncias suplementares tais como minerais, vitaminas, sais, condimentos, corantes e conservantes. Exemplos não-limitantes de minerais suplementares incluem cálcio, fósforo, potássio, sódio, ferro, cloreto, boro, cobre, zinco, manganês, iodo, selênio e similar. Exemplos não-limitantes de vitaminas suplementares incluem vitamina A, várias vitaminas B, vitamina C, vitamina D, vitamina E e vitamina K. Suplementos alimentares adicionais podem ser também incluídos, por exemplo, niacina, ácido pantotênico, inulina, ácido fólico, biotina, aminoácidos e similar.

As composições da invenção podem compreender opcionalmente uma ou mais substâncias suplementares que promovem ou sustentam a saúde neurológica geral ou melhoram mais a função cognitiva. Tais substâncias incluem, sem limitação, fosfatidilserina, acetil-L-carnitina e extratos herbais tais como *Ginkgo biloba*, *Bacopa monniera*, *Convolvulus pluricaulis* e *Leucojum aestivum*.

Em várias modalidades, o alimento para animal ou composições para tratar animal da invenção podem compreender, em uma base de matéria seca, de a partir de cerca de 15% a cerca de 50% de proteína bruta, em peso da composição. O material de proteína bruta pode compreender proteínas vegetais tais como soja, semente de algodão e amendoim ou proteínas animais tais como caseína, albumina e proteína da carne. Exemplos não-

limitantes de proteína da carne úteis aqui incluem porco, cordeiro, equino, aves, peixe e suas misturas.

As composições podem ainda compreender, em uma base de matéria seca, de a partir de cerca de 5% a cerca de 40% de gordura, em  
5 peso da composição. As composições podem compreender ainda uma fonte de carboidrato. As composições podem compreender, em uma base de matéria seca, de a partir de cerca de 15% a cerca de 60% de carboidrato, em peso da composição. Exemplos não-limitantes de tais carboidratos incluem  
10 grãos ou cereais tais como arroz, milho, sorgo, alfafa, cevada, sojas, canola, aveias, trigo e suas misturas. As composições podem também opcionalmente compreender outros materiais tais como soro de leite seco e outros subprodutos de laticínio.

As composições podem também compreender pelo menos uma fonte de fibra. Uma variedade de fibras solúveis ou insolúveis pode ser utilizada, como será conhecido por aqueles versados na técnica. A fonte de fibra  
15 pode ser polpa de beterraba (de beterraba sacarina), goma arábica, goma Talha, *psilium*, farelo de arroz, goma de alfarroba, polpa de cítricos, pectina, fruto-oligossacarídeo adicional à oligofrutose de cadeia curta, mananoligofrutose, fibra de soja, arabinogalactano, galacto-oligossacarídeo, arabinoxilano  
20 ou suas misturas. Alternativamente, a fonte de fibra pode ser uma fibra fermentável. Foi descrito anteriormente que a fibra fermentável provê um benefício ao sistema imune de um animal de companhia. Fibra fermentável ou outras composições conhecidas daqueles versados na técnica que proveem uma composição prebiótica para aumentar o crescimento de micro-  
25 organismos probióticos dentro do intestino podem ser também incorporadas à composição para auxiliar no aumento do benefício provido pela presente invenção ao sistema imune de um animal. Adicionalmente, micro-organismos probióticos, tais como espécie *Lactobacillus* ou *Bifidobacterium*, por exemplo, podem ser adicionados à composição.

30 Em uma modalidade detalhada, a composição é um alimento para animal completo e nutricionalmente equilibrado. Neste contexto, o alimento para animal pode ser um alimento úmido, um alimento seco ou um

alimento de teor de umidade intermediário, como seria reconhecido por aqueles versados na técnica de formulação e fabricação de alimento para animal. "Alimento úmido" descreve alimento para animal que é tipicamente vendido em latas ou embalagens de folha de alumínio, e tem um teor de umidade tipicamente na faixa de cerca de 70% a cerca de 90%. "Alimento seco" descreve alimento para animal que é de uma composição similar a do alimento úmido, mas contém um teor de umidade limitado, tipicamente na faixa de cerca de 5% a cerca de 15% e então é apresentado, por exemplo, como farelos tipo biscoito. As composições e suplementos alimentares podem ser especialmente formulados para animais adultos ou para animais mais velhos ou jovens, por exemplo, uma formulação para "ração para cachorrinho", "ração para gatinho" ou "sênior". Em geral, formulações especializadas vão compreender necessidades de energia e nutricionais apropriadas para animais em estágios diferentes de desenvolvimento ou idade.

Certos aspectos da invenção são preferivelmente usados em combinação com um alimento completo e equilibrado (por exemplo, conforme descrito no *National Research Council, 1985, Nutritional Requirements for Dog, National Academy Press, Washington D.C.* ou *Association of American Feed Control Officials, Official Publication, 1996*). Isto é, composições compreendendo LCPUFA ou DHA e AA de acordo com certos aspectos da presente invenção são de preferência usadas com um alimento comercial de alta qualidade. Conforme aqui usado, "alimento comercial de alta qualidade" refere-se a uma dieta fabricada para produzir a digestibilidade dos nutrientes-chave de 80% ou mais, conforme descrito nas, por exemplo, recomendações do *National Research Council* acima para cachorros, ou nas orientações mostradas pela *Association of American Feed Control Officials*. Padrões de nutriente altos similares seriam usados para outros animais.

O versado na técnica vai compreender como determinar a quantidade apropriada de LCPUFA ou DHA e AA a ser adicionada a uma dada composição. Tais fatores que podem ser levados em consideração incluem o tipo de composição (por exemplo, composição para alimento para animal versus suplemento alimentar), o consumo médio de tipos específicos de

composições por animais diferentes e as condições de fabricação sob as quais a composição é preparada. De preferência, as concentrações de LC-PUFA ou DHA e AA a serem adicionadas à composição são calculadas com base nas necessidades de energia e nutriente do animal. De acordo com

5 certos aspectos da invenção, os LCPUFA ou DHA e AA podem ser adicionados em qualquer momento durante a fabricação e/ou processamento da composição. Isto inclui, sem limitação, como parte da formulação da composição de alimento para animal ou suplemento alimentar ou como um revestimento aplicado à composição de alimento para animal ou suplemento ali-

10 mentar.

As composições podem ser feitas de acordo com qualquer método adequado na técnica tal como, por exemplo, aqueles descritos em *Waltham Book of Dog and Cat Nutrition*, Ed. ATB Edney, Capítulo de A. Rainbird, intitulado "A Balanced Diet" nas páginas 57 a 74, Pergamon Press Oxford.

15

#### Métodos:

Outro aspecto da invenção refere-se a métodos para aumento da função cognitiva em um animal compreendendo administrar ao animal uma composição compreendendo um ou mais LCPUFA em uma quantidade

20 eficaz para aumentar a função cognitiva no animal. Em uma modalidade detalhada, a composição é uma composição alimentícia para animal ou um suplemento alimentar, conforme aqui exemplificado. Em uma modalidade detalhada adicional, os LCPUFA são um LCPUFA (n-3), incluindo, mas não limitado a, EPA, DPA e DHA. Em outra modalidade detalhada, os LCPUFA

25 são um LCPUFA (n-6), incluindo, mas não limitado a, AA. Em ainda outra modalidade detalhada, o LCPUFA é uma combinação de LCPUFA (n-3) e (n-6), incluindo, mas não limitado a, EPA, DPA, DHA e AA. Animais podem incluir quaisquer animais domesticados ou de companhia conforme acima descrito. Em certas modalidades, o animal é um animal de companhia tal

30 como um cachorro ou um gato. Em uma modalidade, o animal é um cachorro.

As composições podem ser administradas ao animal através de

qualquer uma de uma variedade de vias alternativas de administração. Tais vias incluem, sem limitação, oral, intranasal, intravenosa, intramuscular, intragástrica, transpilórica, subcutânea, retal e similar. De preferência, as composições são administradas oralmente. Conforme aqui usado, o termo

5 "administração oral" ou "administrando oralmente" significa que o animal ingere ou um ser humano é orientado a alimentar, ou realmente alimenta, o animal com uma ou mais das composições da invenção descritas aqui.

Onde um ser humano for orientado a alimentar a composição, tal orientação pode ser aquela que instrui e/ou informa o ser humano de que o

10 uso da composição pode e/ou vai prover o benefício referido, por exemplo, o aumento da função cognitiva no animal. Tal orientação pode ser orientação oral (por exemplo, através de instrução oral a partir de, por exemplo, um médico, veterinário ou outro profissional de saúde, ou mídia de rádio ou televisão (isto é, anúncio), ou orientação escrita (por exemplo, através da orientação

15 escrita a partir de, por exemplo, um médico, veterinário ou outro profissional de saúde (por exemplo, receitas), profissional ou organização de venda (por exemplo, através de, por exemplo, brochuras de *marketing*, panfletos ou outra parafernália instrutiva), mídia escrita (por exemplo, *internet*, correio eletrônico ou outra mídia relacionada a computador) e/ou embalagem

20 associada à composição (por exemplo, um rótulo presente em um recipiente contendo a composição).

Administração pode ser feita em uma base conforme necessário ou conforme desejado, por exemplo, uma vez por mês, uma vez por semana, diariamente ou mais de uma vez por dia. Similarmente, administração

25 pode ser dia sim, dia não, semana ou mês, a cada três dias, semanas ou meses, a cada quatro dias, semanas ou meses e similar. Administração pode ser várias vezes por dia. Quando utilizada como um suplemento para necessidades dietéticas comuns, a composição pode ser administrada diretamente ao animal ou de outro modo contatada com ou misturada com ração

30 ou alimento diário. Quando utilizada como uma ração ou alimento diário, administração será conhecida por aqueles versados na técnica.

Administração pode ser também realizada como parte de um

regime alimentar no animal. Por exemplo, um regime alimentar pode compreender causar a ingestão regular pelo animal de uma composição compreendendo um ou mais LCPUFA, de preferência DHA e AA, em uma quantidade eficaz para aumentar a função cognitiva no animal. Ingestão regular  
5 pode ser uma vez por dia ou duas, três, quatro ou mais vezes por dia, em uma base diária. O objetivo de ingestão regular é prover o animal com a dose diária preferida de LCPUFA, conforme aqui exemplificado.

A dose diária de LCPUFA pode ser medida em termos de gramas de LCPUFA por kg de peso do corpo (BW) do animal ou em termos de  
10 uma porcentagem de necessidade calórica diária total do animal. A dosagem diária de LCPUFA pode variar de a partir de cerca de 0,01 g/kg a cerca de 2,0 g/kg de BW do animal. De preferência, a dose diária de LCPUFA é de a partir de cerca de 0,1 g/kg a cerca de 1,25 g/kg de BW do animal. Em uma modalidade exemplar, a dose diária de LCPUFA consistia em 0,11 g/kg de  
15 peso do corpo de DHA e 0,056 g/kg de peso do corpo de AA.

Na alternativa, a dose diária de LCPUFA pode variar de a partir de cerca de 0,1 a cerca de 15% da necessidade calórica diária total do animal. De preferência, a dosagem diária de LCPUFA é de a partir de cerca de 3% a cerca de 8% da necessidade calórica diária total do animal. Com mais  
20 preferência, a dose diária de LCPUFA é de a partir de cerca de 6 a cerca de 8% da necessidade calórica diária total do animal.

De acordo com os métodos da invenção, a administração do LCPUFA, incluindo administração como parte de um regime alimentar, pode durar um período de tempo variando da gestação até durante a vida adulta do  
25 animal. Em uma modalidade preferida, a duração da administração varia da gestação até cerca de 36 meses após o parto. Em uma modalidade mais preferida, a duração da administração varia da gestação até cerca de 30 meses após o parto. Em uma modalidade ainda mais preferida, a duração da administração varia da gestação até cerca de 24 meses após o parto. Em uma  
30 modalidade ainda mais preferida, a duração da administração varia da gestação até cerca de 18 meses após o parto. Em ainda uma modalidade mais preferida, a duração da administração varia da gestação até cerca de 12 meses

após o parto. Em uma modalidade ainda mais preferida, a duração da administração varia da gestação até cerca de 40 semanas após o parto. Em ainda uma modalidade mais preferida, a duração da administração varia da gestação até cerca de 35 semanas após o parto. Em ainda uma modalidade mais preferida, a duração da administração varia da gestação até cerca de 30 semanas após o parto. Em ainda uma modalidade mais preferida, a duração da administração varia da gestação até cerca de 25 semanas após o parto. Em ainda uma modalidade mais preferida, a duração da administração varia da gestação até cerca de 20 semanas após o parto. Em ainda uma modalidade mais preferida, a duração da administração varia da gestação até cerca de 18 semanas após o parto. Em ainda uma modalidade mais preferida, a duração da administração varia da gestação até cerca de 16 semanas após o parto. Em ainda uma modalidade mais preferida, a duração da administração varia da gestação até cerca de 14 semanas após o parto. Em ainda uma modalidade mais preferida, a duração da administração varia da gestação até cerca de 12 semanas após o parto. Em uma modalidade alternativa, a duração da administração varia da gestação até cerca de 10 semanas após o parto. Em outra modalidade alternativa, a duração da administração varia da gestação até cerca de 8 semanas após o parto. Em outra modalidade alternativa, a duração da administração varia da gestação até cerca de 6 semanas após o parto.

Em outra modalidade, o método da invenção compreende administração ao animal de leite de um animal lactante ao qual foram administrados um ou mais LCPUFA. O leite enriquecido com LCPUFA pode ser administrado a um animal a fim de aumentar a função cognitiva neste animal.

Os LCPUFA podem ser administrados ao animal lactante de acordo com os métodos da invenção descritos aqui. Em uma modalidade preferida, o animal lactante é administrado com uma composição compreendendo um ou mais LCPUFA. Em uma modalidade mais preferida, o animal lactante é administrado com uma composição compreendendo DHA e AA. A composição compreendendo um ou mais LCPUFA que é administrada ao animal lactante pode ser uma composição alimentícia para animal ou suplemento alimentar, conforme aqui exemplificado. A composição pode ser ad-

ministrada ao animal lactante antes da concepção, durante a gestação e após o parto durante o período de amamentação. O animal lactante pode ser a mãe do animal ao qual o leite é administrado. O leite pode ser administrado através da amamentação ou pode ser administrado após isolamento do animal lactante. O leite pode ser administrado em uma base conforme necessário ou conforme desejado ou como parte de um regime alimentar, conforme aqui descrito.

Em outra modalidade, o método da invenção compreende administrar LCPUFA ao animal durante a gestação, através da passagem do animal mãe ao qual foram administrados um ou mais LCPUFA. Em uma modalidade preferida, o animal mãe é administrado com uma composição compreendendo um ou mais LCPUFA. Em uma modalidade mais preferida, o animal mãe é administrado com uma composição compreendendo DHA e AA. A composição compreendendo um ou mais LCPUFA que é administrada ao animal mãe pode ser uma composição alimentícia para animal ou suplemento alimentar, conforme exemplificado aqui. A composição pode ser administrada ao animal mãe a partir do momento do cio até o parto.

Em ainda outra modalidade, os LCPUFA são administrados ao animal ambos durante a gestação e após o parto de acordo com os detalhes mostrados acima.

A quantidade de composição utilizada nas várias modalidades dos métodos da invenção pode ser dependente de uma variedade de fatores, incluindo a saúde, condição e/ou idade do animal, a qualidade da composição alimentícia para animal ou suplemento alimentar e espécie, tamanho ou raça do animal.

Determinação da melhora de funções cognitivas tais como resolução de problema, memória e estabilidade mental dos animais conseguida através da prática dos métodos da invenção pode ser feita através de qualquer meio adequado na técnica. Exemplos de meios adequados são mostrados nos exemplos que seguem.

Os exemplos que seguem são providos para descrever a invenção em mais detalhes. Os exemplos pretendem ilustrar, não limitar, a invenção.

### Exemplo 1

#### Efeito de Suplementação Alimentar com LCPUFA sobre o Desempenho Cognitivo em Cachorrinhos

Animais e dietas. Os cachorros eram cruzamentos de raças  
5 *Husky-Pointer*. Cachorros fêmeas foram mantidos em canis internos-  
externos do acasalamento até 3 semanas pós-parto. Neste momento cada  
fêmea e seus filhotes foram mudados para um cercado de 4 por 5 metros  
com uma casa grande. Os cachorrinhos foram mantidos com suas mães até  
10 10 semanas de idade e foram alojados em grupo em seu cercadinho até o  
final do estudo. A partir do parto para a frente, todos os cachorrinhos foram  
cuidados por 20-45 minutos 1-2 vezes por dia. De 4 semanas de idade até o  
final do estudo, cada filhote tinha andado 804,67 m a 1,6 km (  $\frac{1}{2}$  a 1 milha)  
por dia, como um grupo.

Cinco fêmeas grávidas foram alimentadas com dieta de gali-  
15 nha e arroz Purina ProPlan Performance (Nestle-Purina Pet Care Co., St.  
Louis, MO) durante a gestação e a lactação. Os animais foram alimenta-  
dos para manter um score de condição do corpo ótimo (5/10) durante a  
gestação e a lactação. Alimento foi oferecido duas vezes por dia. Cachor-  
rinhos de 5 ninhadas foram separados o mais uniformemente possível em  
20 termos de sexo e designados para um dos dois grupos de tratamento de  
dieta: "A" (placebo de óleo de milho) e "B" (suplementação com DHA e  
AA). Um total de 20 cachorrinhos foi designado para cada grupo. Aos ca-  
chorrinhos foi oferecida dieta basal molhada duas vezes por dia come-  
çando em 3 semanas de idade. Suplementos foram administrados como  
25 uma porcentagem de ingestão de gordura alimentar (2% para DHA, 1%  
para AA e 3% para óleo de milho) uma vez por dia com a alimentação da  
manhã. O Grupo B recebeu suplementos diários de DHA e AA a 1% e 2%  
de teor de ácido graxo total de sua dieta basal (dieta de galinha e arroz  
Purina Pro Plan Performance). Os cachorrinhos foram pesados semanal-  
30 mente, os pesos registrados e a dosagem dos suplementos ajustada a-  
propriadamente. Eles foram tratados e levados para caminhadas para as-  
segurar socialização apropriada.

Teste da função cognitiva. Teste comportamental começou em 8 semanas de idade com o teste de choro e grito. Neste teste, a estabilidade mental é avaliada através de isolamento do cachorrinho em uma gaiola e medição de quanto tempo ele leva para chorar uma vez e então gritar ou chorar 3 vezes em sucessão. No teste do choro e grito, houve uma inclinação numérica para os cachorros suplementados para score melhor (levaram mais tempo para chorar ou gritar), sugerindo melhor estabilidade mental. Esses dados são sumarizados na Tabela 1.

**Tabela 1. Tempos Médios (Segundos) para o Teste de Choro e Grito**

|                                  | Tempo para chorar | Tempo para gritar |
|----------------------------------|-------------------|-------------------|
| Tratamento A (óleo de milho)     | 18,5              | 35                |
| Tratamento B (DHA e AA)          | 32                | 51                |
| Controle de valor p = tratamento | 0,41              | 0,17              |

Em 10 semanas de vida, as habilidades de resolução de problema dos cachorrinhos foram avaliadas por meio de um labirinto em U. Neste teste, os cachorrinhos são postos dentro de uma barreira em formato de U fechada de modo que eles podem ver seu tratador e uma bacia de comida através de uma tela de arame localizada na ponta do labirinto. Para sair do labirinto, ele deve afastar-se de seu tratador e passar por trás do labirinto. O tempo para realizar isto é medido. São dados 3 minutos para os cachorrinhos resolverem o labirinto antes de serem tirados do teste. Este processo é repetido 5 vezes por seção e os cachorrinhos são testados em duas sessões diferentes com uma semana de intervalo. Os resultados são sumarizados na Tabela 2.

**Tabela 2. Tempos Médios para Labirinto em U (Segundos)**

|              | Teste 1 | Teste 2 |
|--------------|---------|---------|
| Tratamento A | 27,0    | 17,3    |
| Tratamento B | 31,3    | 14,3    |

Em 12 semanas de idade resolução de problema e memória foram testadas em um labirinto longo. Neste teste, os cachorrinhos foram postos em um labirinto retangular longo tendo 6 portões. Um cachorrinho foi posto em uma extremidade do labirinto enquanto o treinador ficou de pé no

extremo e o chamou para vir para uma bacia de comida. Para chegar ao treinador, o cachorrinho tinha que encontrar e passar através do lado aberto de cada portão. Cada cachorrinho realizou o mesmo padrão, mas o padrão foi alternado entre cachorrinhos sucessivos de modo que o olfato não poderia ser usado para resolver o problema. O tempo para resolver o labirinto e o número de erros foram registrados para cada série. Cada sessão consistia em 3 séries através do labirinto. Os cachorrinhos foram testados uma vez por semana por um total de 3 sessões. Nenhuma diferença entre grupos de tratamento foi encontrada para o primeiro teste. No segundo teste, os tempos de série médios, medianos e mínimos foram significativamente menores ( $p < 0,05$ ) para os cachorrinhos do grupo de tratamento (B). Os números médio e mínimo de erros foram direcionalmente ( $p < 0,10$ ) menores para os cachorrinhos do tratamento B. Os cachorros tratados com DHA/AA tiveram melhor desempenho na segunda série do labirinto longo. Essas constatações sugerem que a memória foi aumentada pela suplementação de DHA/AA. Esses dados são sumarizados na Tabela 3.

**Tabela 3. Valores para Labirinto longo**

|                            | Teste 1            | Teste 1 | Teste 2            | Teste 2 |
|----------------------------|--------------------|---------|--------------------|---------|
|                            | Tempo da série (s) | Erros   | Tempo da série (s) | Erros   |
| Média de séries repetidas  |                    |         |                    |         |
| Tratamento A               | 74,8               | 4,2     | 55,3               | 4,2     |
| Tratamento B               | 94,2               | 4,3     | 43,7               | 2,8     |
| Valor p de A=B             | 0,51               | 0,73    | 0,03               | 0,15    |
| Média de séries repetidas  |                    |         |                    |         |
| Tratamento A               | 79,0               | 4,0     | 53,3               | 4,0     |
| Tratamento B               | 87,5               | 4,5     | 40,5               | 3,0     |
| Valor p de A=B             | 0,56               | 0,79    | 0,03               | 0,07    |
| Mínimo de séries repetidas |                    |         |                    |         |
| Tratamento A               | 52,5               | 3,0     | 37,5               | 2,0     |
| Tratamento B               | 57                 | 3,0     | 25,0               | 1,0     |
| valor p de A=B             | 0,33               | 0,33    | 0,05               | 0,08    |

Em 15 semanas de vida, os cachorrinhos foram testados quanto à associação de pista em um labirinto em T. Neste teste, cachorrinhos observavam enquanto uma campainha era suspensa e mantida em frente a uma das duas entradas cada uma coberta por uma cortina. Após a campainha ser tocada, ela é removida e o cachorrinho deve esperar 30 segundos antes de entrar na câmara onde o cachorrinho pode escolher um lado para entrar. Previamente, foi mostrado ao cachorrinho que o lado onde a campainha foi tocada leva à saída do labirinto e comida, enquanto o outro lado é sem saída. No labirinto em T, os testes consistiam em 10 séries e todos os cachorrinhos foram testados para 2 testes em semanas sucessivas. Adicionalmente, quaisquer filhotes que não tivessem feito 7 de 10 escolhas corretas após 2 testes continuaram até que 7 de 10 escolhas corretas fossem feitas dentro de um teste. Até 4 testes no labirinto em T foram conduzidos. Quaisquer diferenças entre grupos de tratamento foram encontradas para o primeiro teste. No segundo teste, o tempo de série médio foi direcionalmente ( $p < 0,10$ ) menor para os cachorrinhos do tratamento A. A taxa de erro correspondente foi numericamente menor. O tempo de série médio também foi numericamente menor para os cachorrinhos do tratamento A. Esses dados são sumarizados na Tabela 4.

20 Tabela 4. Valores para Labirinto em T

|                         | Teste 1        | Teste 2 | Teste 1        | Teste 2 |
|-------------------------|----------------|---------|----------------|---------|
|                         | Tempo da série | Erros   | Tempo da série | Erros   |
| Séries médias repetidas |                |         |                |         |
| Tratamento A            | 11,5           | 5       | 3,85           | 0,3     |
| Tratamento B            | 11,2           | 5       | 5,75           | 0,5     |
| Valor p de A=B          | 0,85           | 0,95    | 0,85           | 0,12    |
| Séries médias repetidas |                |         |                |         |
| Tratamento A            | 7              |         | 2,75           |         |
| Tratamento B            | 5              |         | 3,50           |         |
| Valor de p A=B          | 0,7            |         | 0,30           |         |

Para o labirinto longo e o labirinto em T, várias respostas foram

derivadas das séries múltiplas. Tempo de série e taxa de erro médias, medianas e mínimas foram usadas como respostas no labirinto longo. O tempo de série e taxa de erro médios e o tempo de série mediano foram usados como respostas no labirinto em T. A distribuição da maioria das respostas mostrou desvio significativo de uma distribuição normal. Diferenças entre grupos de tratamento para cada resposta foram testadas através de análise não-paramétrica de variância realizada nas classificações dos dados após registro das diferenças na distribuição de filhotes dentro dos grupos de tratamento.

Testes bioquímicos. Amostras de sangue foram coletadas de todos os filhotes em idades de 8 e 16 semanas. Amostras de sangue foram centrifugadas a 10.00 X G e plasma removido. As células vermelhas foram lavadas 3 vezes com solução salina isotônica e então armazenadas em frascos. Todas as amostras de tecido (leite, plasma e células sanguíneas vermelhas) foram postas em frascos liberáveis e cobertas em gás nitrogênio antes do armazenamento a -70°C até análise.

Os valores para análise de ácido graxo do plasma para amostras coletadas em 8 e 16 semanas são apresentados nas Tabelas 5 e 6, respectivamente. Valores de DHA no plasma foram quase 4 vezes mais altos nos cachorros do grupo de tratamento B do que no grupo de tratamento A para amostras tomadas em ambas 8 e 16 semanas de idade. Não havia quaisquer diferenças significantes em valores de AA, LA, DPA ou EPA entre os grupos de tratamento para qualquer período de tempo.

Tabela 5. Análise de Ácido Graxo de Plasma Sanguíneo Coletado em 8 Semanas de Idade (% Relativa de ácidos graxos totais)

|                | LA    | AA    | EPA     | DPA   | DHA       |
|----------------|-------|-------|---------|-------|-----------|
| Tratamento A   | 24,6  | 16,77 | 0,18    | 0,356 | 1,25      |
| Tratamento B   | 22,8  | 17,23 | 0,33    | 0,325 | 4,78      |
| Valor p de A=B | 0,026 | 0,278 | < 0,001 | 0,235 | < 0,00001 |

**Tabela 6. Análise de Ácido Graxo de Plasma Sanguíneo Coletado em 16 Semanas de Idade (% Relativa de ácidos graxos totais)**

|                | LA    | AA    | EPA     | DPA   | DHA     |
|----------------|-------|-------|---------|-------|---------|
| Tratamento A   | 22,48 | 16,76 | 0,179   | 0,555 | 0,74    |
| Tratamento B   | 20,99 | 17,07 | 0,290   | 0,676 | 3,58    |
| Valor p de A=B | 0,005 | 0,313 | <0,0001 | 0,009 | <0,0001 |

Os valores de ácido graxo de membrana obtidos de RBC's coletadas em 16 semanas de idade são apresentados na Tabela 7. Como foi verificado com análise de ácido graxo no plasma, valores de DHA da membrana RBC foram significativamente maiores nos cachorros do grupo de tratamento B do que no grupo de tratamento A. A diferença entre grupos de tratamento na concentração de DHA da membrana RBC foi mais de duas vezes aquela observada em amostras de plasma.

**Tabela 7. Teor de Ácido Graxo da Membrana RBC em 16 Semanas de Idade (% Relativa de ácidos graxos totais)**

|                | LA     | AA     | EPA       | DPA   | DHA       |
|----------------|--------|--------|-----------|-------|-----------|
| Tratamento A   | 11,617 | 21,316 | 0,139     | 0,42  | 0,346     |
| Tratamento B   | 10,812 | 22,735 | 0,226     | 0,344 | 2,65      |
| Valor p de A=B | 0,012  | 0,053  | < 0,00001 | 0,004 | < 0,00001 |

#### Referências:

1. Bauer, J.E., Heinemann, K.M., Bigley, K.E., Lees, G.E. e Waldron, M.K. (2004) Maternal Diet Alpha-Linolenic Acid During Gestation and Lactation Does Not Increase Canine Milk Docosahexaenoic Acid, *J. Nutr.* 134, 2035S-2038S.
2. Bauer, J.E., Heinemann, K.M., Bigley, K.E. e Waldron, M.K. (2004) Enrichment of canine milk with n-3 LCPUFA is dose-dependent on gestation/lactation diet. ABSTRACT 6<sup>th</sup> Congress of ISSFAL, Brighton, UK.
3. Birch, E.E., Garfield, S., Hoffman, D.R., Uauy, R. e Birch, D.G. (2000) A randomized controlled trial of early dietary supply of long-chain polyunsaturated fatty acids and mental development in term infants. *Dev. Med. Child Neurol.* 42, 174-178.
4. Carlson, S.E., Werkman, S.H., Rhodes, P.G. e Tolley, E.A. (1993) Vi-

- sual-acuity development in healthy preterm infants: Effect of marine-oil supplementation, *Am. J. Clin. Nutr.* 58, 35-42.
5. Carlson, S.E. (1996) Arachidonic acid status of human infants: influence of gestational age at birth and diets with very long chain n-3 and n-6 fatty acids. *J. Nutr.* 126(4 Suppl), 1092S-8.
  6. Connor, W.E., Neuringer, M. e Lin, D. (1990) Dietary effects on brain fatty acid composition: the reversibility of n-3 fatty acid deficiency and turnover of docosahexaenoic acid in the brain, erythrocytes, and plasma of rhesus monkeys. *J. Lipid Res.* 31, 237- 241.
  7. Gibson, R.A., Neumann, M.A. e Makrides, M. (1997) Effect of increasing breast milk docosahexaenoic acid on plasma and erythrocyte phospholipid fatty acids and neural indices of exclusively breast fed infants. *Eur. J. Clin. Nutr.* 51, 578-82.
  8. Gil, A., Ramirez, M. e Gil, M. (2003) Role of long-chain polyunsaturated fatty acids in infant nutrition, *Eur. J. Clin. Nutr.* 57, S31-57.
  9. Green, P. e Yavin, E. (1996) Fatty acid composition of late embryonic and early postnatal rat brain. *Lipids* 31, S859-865.
  10. Greiner, R.C., Winter, J., Nathanielsz, P.W. e Brenna, J.T. (1997) Brain Docosahexaenoate Accretion in Fetal Baboons: Bioequivalence of Dietary Alpha-Linolenic and Docosahexaenoic Acids, *Pediatr Res* 42, 826-834.
  11. Greiner, R.S., Moriguchi, T., Hutton, A., Slotnick, B.M. e Salem, N. (1999) Rats with low levels of brain docosahexaenoic acid show impaired performance in olfactory-based and spatial learning tasks. *Lipids* 34 Suppl, S239-43.
  12. Litman, B.J., Niu, S.L., Polozova, A. e Mitchell, D.C. (2001) The Role of Docosahexaenoic Acid Containing Phospholipids in Modulating G Protein-Coupled Signaling Pathways, *J Molec Neurosci* 16, 237-242.
  13. Liu C.C., Carlson, S.E., Rhodes, P.G. e Rao, V.S. (1987) Meydrech Increase in plasma phospholipid docosahexaenoic and eicosapentaenoic acids as a reflection of their intake and mode of administration. *Pediatr. Res.* 22, 292-6.

14. Lothaller, M.A. e Widhalm, K. (1991) Are omega-3-fatty acids essential for newborn infants? (Sind omega-3-Fettsauren fur das Neugeborene essentiell?) *Infusionstherapie* 18, 280-282.
15. Martinez, M. (1992) Tissue Levels of Polyunsaturated Fatty Acids During Early Human Development, *J Pediatr* 120, S129-138.
16. Menard, C.R., Goodman, K.J., Corso, T.N., Brenna, J.T. e Cunnane, S.C. (1998) Recycling of Carbon Into Lipids Synthesized *de Novo* is a Quantitatively Important Pathway of Alpha-[U-13C]Linolenate Utilization in the Developing Rat Brain, *J Neurochem* 71, 2151-2158.
17. Neuringer, M., Conner, W.E., Van Paten, C. e Barstow, L. (1984) Dietary omega-3 fatty acid deficiency and visual loss in infant rhesus monkeys, *J. Clin. Invest.* 73, 272-76.
18. Pawlosky R.J., Denkins, Y., Ward, G. e outros (1997) Retinal and brain accretion of long-chain polyunsaturated fatty acids in developing felines: The effects of corn-based maternal diets. *Am. J. Nutr.* 665, 465-472.
19. Rotstein, N.P., Avelano, M.I. e Politi, L.E. (1999) Essentiality of docosahexaenoic acid in retina photoreceptor cell development. *Lipids* 34, S115.
20. Sinclair, A.J. (1975) Long Chain Polyunsaturated Fatty Acids in the Mammalian Brain, *Proc. Nutr. Soc.* 34, 287-291.
21. Uauy, R., Hoffman, D.R., Mena, P., Llanos, A. e Birch, E.E. (2003) Term infant studies of DHA and ARA supplementation on neurodevelopment: results of randomized controlled trials, *J. Pediatr.* 143, 17-25.
22. Wainwright, P.E., Xing, H.C., Ward, G.R., Huang, Y.S./ Bobik, E., Auestad, N. e Montalto, M. (1999) Water maze performance is unaffected in artificially reared rats fed diets supplemented with arachidonic acid and docosahexaenoic acid. *J Nutr.* 129, 1079-1089.
23. Willats, P. (2000) Long chain polyunsaturated fatty acids improve cognitive development. *J. Fam. Health Care.* 12, 5.
24. Kelley, R.L., Lepine, A.J., Burr, J.R. (2004) Effect of dietary fish oil on puppy trainability. *Proc. International Society for the Study of Fatty A-*

*cids and Lipids*, June 28 - July 1, 2004, Brighton, UK (Abst. 1-5).

A presente invenção não é limitada às modalidades descritas e exemplificadas acima, mas é capaz de variação e modificação dentro do escopo das reivindicações apensas.

## REIVINDICAÇÕES

1. Composição, caracterizada pelo fato de que compreende um ou mais ácidos graxos poli-insaturados de cadeia longa (LCPUFA) em uma quantidade eficaz para melhorar a função cognitiva em um animal.

5                   2. Composição de acordo com a reivindicação 1, caracterizada pelo fato de que a composição é uma composição alimentícia para animal ou um suplemento alimentar.

                    3. Composição de acordo com a reivindicação 1, caracterizada pelo fato de que os LCPUFA incluem pelo menos um dentre ácido araquidônico, ácido linolêico, ácido eicosapentaenoico, ácido docosapentaenoico ou ácido docosaexaenóico.

                    4. Composição de acordo com a reivindicação 1, caracterizada pelo fato de que os LCPUFA incluem pelo menos um LCPUFA n-6 e pelo menos um LCPUFA n-3.

15                   5. Composição de acordo com a reivindicação 1, caracterizada pelo fato de que os LCPUFA estão presentes em uma quantidade de pelo menos cerca de 0,1% a cerca de 10% em peso da composição; opcionalmente em que os LCPUFA estão presentes em uma quantidade de pelo menos 0,4% a cerca de 5,0% em peso da composição.

20                   6. Composição de acordo com a reivindicação 1, caracterizada pelo fato de que o animal é um animal de companhia, opcionalmente em que o animal de companhia é um cachorro ou gato.

                    7. Composição de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 6, caracterizada pelo fato de que é para o uso para a melhora da função cognitiva do animal.

25                   8. Uso de um ou mais LCPUFA, caracterizado pelo fato de que é na preparação de uma composição para melhorar a função cognitiva em um animal.

                    9. Uso de acordo com a reivindicação 8, caracterizado pelo fato de que os LCPUFA são administrados ao animal durante a gestação.

30                   10. Uso de acordo com a reivindicação 8, caracterizado pelo fato de que os LCPUFA são administrados ao animal durante o período que

vai do parto até cerca de doze semanas após o parto.

11. Uso de acordo com a reivindicação 8, caracterizado pelo fato de que os LCPUFA são administrados ao animal durante a gestação e durante o período que vai do parto até cerca de doze semanas após o parto.

5 12. Uso de acordo com a reivindicação 8, caracterizado pelo fato de que os LCPUFA são administrados em uma composição alimentícia de animal ou um suplemento alimentar.

13. Uso de acordo com a reivindicação 8, caracterizado pelo fato de que os LCPUFA são administrados em leite de um animal lactante ao  
10 qual foram administrados um ou mais LCPUFA.

14. Uso de acordo com a reivindicação 8, caracterizado pelo fato de que os LCPUFA são administrados em uma composição alimentícia de animal ou suplemento alimentar e em leite de um animal lactante ao qual foram administrados um ou mais LCPUFA.

15 15. Uso de acordo com a reivindicação 8, caracterizado pelo fato de que inclui um ou mais dentre ácido araquidônico, ácido eicosapentaenoico, ácido docosapentaenoico ou ácido docosa-hexanoico.

16. Uso de acordo com a reivindicação 8, caracterizado pelo fato de que os LCPUFA incluem pelo menos um LCPUFA n-6 e pelo menos  
20 um LCPUFA n-3.

17. Uso de acordo com a reivindicação 8, caracterizado pelo fato de que o animal é um animal de companhia, opcionalmente em que o animal de companhia é um cachorro ou gato.

18. Uso de acordo com a reivindicação 8, caracterizado pelo fato de que os LCPUFA são administrados ao animal em uma base diária.  
25

19. Uso de acordo com a reivindicação 8, caracterizado pelo fato de que os LCPUFA são administrados ao animal como parte de um regime alimentar; onde a duração do regime alimentar varia do parto até cerca de 12 semanas de idade.

30 20. Uso de acordo com a reivindicação 8, caracterizado pelo fato de que os LCPUFA administrados ao animal compreendem de cerca de 0,1% a cerca de 15% da necessidade calórica diária total do animal.

REC 612/25-3

## RESUMO

Patente de Invenção: **"COMPOSIÇÕES, BEM COMO USO DE ÁCIDOS GRAXOS POLI-INSATURADOS DE CADEIA LONGA (LCPUFA) NA PREPARAÇÃO DAS MESMAS, PARA MELHORA DA FUNÇÃO COGNITIVA".**

5

A presente invenção refere-se a composições e métodos para aumento da função cognitiva em animais. As composições e métodos utilizam ácidos graxos poli-insaturados de cadeia longa.