



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 283 979**

(51) Int. Cl.:

A23L 1/30 (2006.01)

A23L 1/29 (2006.01)

A23K 1/16 (2006.01)

A61K 31/685 (2006.01)

(12)

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

(86) Número de solicitud europea: **04708526 .1**

(86) Fecha de presentación : **05.02.2004**

(87) Número de publicación de la solicitud: **1589834**

(87) Fecha de publicación de la solicitud: **02.11.2005**

(54) Título: **Composición enteral para la prevención y/o tratamiento de sepsis.**

(30) Prioridad: **05.02.2003 EP 03075356**

(73) Titular/es: **N.V. Nutricia
Erste Stationsstraat 186
2712 HM Zoetermeer, NL**

(45) Fecha de publicación de la mención BOPI:
01.11.2007

(72) Inventor/es: **Speelmans, Gelske;
Vriesema, Adrianus Johannes Maria;
Vreugdenhill, Anita Corinne Eugenie;
Buurman, Willem Andries;
Greve, Johannes Wilhelmus Maria;
Hofman, Zandrie;
Kivit, Inge y
Hageman, Robert Johan Joseph**

(45) Fecha de la publicación del folleto de la patente:
01.11.2007

(74) Agente: **Tomás Gil, Tesifonte Enrique**

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

Composición enteral para la prevención y/o tratamiento de sepsis.

5 Campo técnico de la invención

La presente invención se refiere a una composición enteral que contiene proteínas y lípidos, y al uso de la misma en la producción de una composición nutritiva para la prevención y/o tratamiento de endotoxemia, sepsis o bacteriemia.

10 Antecedentes de la invención

La sepsis es un trastorno que se produce cuando una cantidad relativamente grande de microorganismos o fragmentos de los mismos entran en el cuerpo. Está caracterizada como una enfermedad sistémica asociada a la presencia y persistencia de microorganismos patogénicos o sus toxinas en la sangre. Si endotoxinas, que son fragmentos bacterianos, están presentes en la sangre, a esta condición también se hace referencia como endotoxemia o shock endotóxico. Cuando los microorganismos que han entrado en la sangre son viables, a esta condición también se hace referencia como bacteriemia. La endotoxina, o lipopolisacárido (LPS), es un componente de la membrana celular externa de bacterias gram negativas. El ácido lipoteicólico (LTA) y el peptidoglicano (PG) son componentes de la membrana externa de bacterias gram positivas que también pueden dar lugar a sepsis. Los intestinos, especialmente el colon, son un depósito de LPS y bacterias gram negativas, tales como el habitante común *Escherichia coli*, pero también de LTA, PG y bacterias gram positivas. El LPS, así como el LTA y el PG pueden entrar en la circulación sistémica mediante translocación directa desde el intestino o mediante translocación de bacterias gram negativas y/o bacterias gram positivas a través de la pared intestinal.

La presencia de bacterias gram negativas y/o bacterias gram positivas y LPS y/o LTA en el intestino no es especialmente problemática para una persona saludable. No obstante, en personas o animales con función de barrera del intestino perjudicada, por ejemplo provocada por isquemia, cirugía, inflamación crónica, radioterapia, trauma, uso de ciertos medicamentos, tales como los AINEs o quimioterápicos, personas gravemente enfermas, tales como personas bajo supervisión intensiva, o personas infectadas por patógenos invasivos, LPS, LTA, bacterias gram positivas y/o bacterias gram negativas pueden cruzar la pared intestinal y alcanzar la circulación. Una vez que estas bacterias han entrado en el sistema, son liberados LPS y/o LTA, lo que se debe principalmente a una elevada actividad del sistema fagocítico (o esparramiento por las bacterias). Este proceso de infección puede producirse también a través de los pulmones (o durante infecciones) o a través de partes periféricas del cuerpo (por ejemplo, después de traumas provocados por accidentes, o durante decúbito, durante las últimas fases de algunos trastornos del embarazo (síndrome HELLP) o durante transfusiones).

La liberación de LPS y/o LTA en el cuerpo puede llevar a una respuesta de fase aguda y sepsis si el LPS y/o LTA no es neutralizado adecuadamente. Tal neutralización inadecuada puede suceder en animales/personas con una función inmune en peligro, como es a menudo el caso tras desnutrición, ayunos, cirugía, condiciones isquémicas, herida por quemaduras graves, infección crónica, terapia de cáncer, función del hígado o del bazo defectuosa, con personas gravemente enfermas, y también con personas que tienen que recuperarse directamente después de cirugía severa.

La respuesta de fase aguda puede ser determinada midiendo niveles de proteína C-reactiva en sangre. La proteína C-reactiva es una proteína de fase aguda en el hombre y un componente importante del sistema inmunitario innato. La proteína C-reactiva activa la vía clásica de complemento, la cual es uno de sus mecanismos principales en la provisión de defensa huésped. Se ha reconocido recientemente que la proteína C-reactiva interactúa con las células del sistema inmunitario mediante el enlace con receptores Fc gamma. Así, puede llenar el espacio entre inmunidad innata e inmunidad adaptativa y proporcionar una respuesta antibacteriana temprana, efectiva. Además, puesto que protege contra la respuesta inflamatoria perjudicial a lipopolisacáridos y citoquinas, puede evitar los efectos secundarios letales de productos bacterianos. Se puede determinar el riesgo de sepsis midiendo *in vivo* la síntesis de proteínas en células del sistema inmunitario tales como linfocitos T como se describe en Januszczewicz *et al.* Clin. Nutr. 2001, 20(2), 181-182.

La sepsis puede conducir a fallo múltiple de órganos o incluso la muerte. Por lo tanto, es de gran importancia encontrar un método para tratar, y especialmente evitar la sepsis. Se han propuesto varios enfoques en la técnica anterior para aliviar los síntomas o prevenir o tratar la sepsis.

Se ha dado un enfoque en la WO-A-98/32428, la cual describe el uso de la colina en una alimentación enteral para la reducción y/o prevención de la mortalidad y lesión inducidas por endotoxinas. La cantidad administrada es de 1'5 a 20 g. al día. La colina es administrada como tartrato de colina.

Otro enfoque ha hecho uso de fosfolípidos tales como los dados en la US 5,434,183 que describe fosfolípidos que contienen ácidos grasos w-3 DHA y EPA en combinación con aceite vegetal y/o aceite marino para efectos antiinflamatorios y/o inmunosupresores en el tratamiento de la artritis reumatoide y la sepsis. Esto posibilita la obtención de un nivel muy bajo de colesterol del suero y triglicéridos del suero.

WO-A-96/04916 describe preparaciones de inyección intravenosa libres de proteínas y péptidos que contienen al menos un fosfolípido en combinación con ácido colánico o sal de ácido colánico para la profilaxis y terapia de condiciones relativas a las endotoxinas. Opcionalmente, se puede añadir un lípido neutro.

ES 2 283 979 T3

JP-A-05320043 describe un depurador de lipopolisacáridos compuesto de fosfolípidos, en especial fosfatidilcolina, colesterol y ácidos grasos saturados, en especial ácido mirístico. Estos componentes son convertidos en liposomas que son usados en una solución para administración intravenosa para la prevención o tratamiento de isquemia o lesiones tisulares después de la isquemia. Una relación de concentración adecuada de colesterol a fosfatidilcolina a ácido mirístico es 5- 10:5-10:1-5.

US 4,474,773 también describe la administración de la combinación de fosfolípidos, triglicéridos, y colesterol para tratar, entre otras, disfunciones del sistema inmunitario, realizándose de manera ventajosa la administración según la US 4,474,773 de forma intravenosa.

El inconveniente de estas composiciones de la técnica anterior para tratar la sepsis es que las formulaciones son complejas, por ejemplo, un liposoma. Otro inconveniente es que se pretende administración parenteral, lo cual supone un riesgo mayor para el paciente. Por lo tanto, hay una necesidad de una preparación segura, efectiva, relativamente sencilla para la prevención y tratamiento de la sepsis.

WO-A-03/009704, con una fecha de la publicación de 6 de febrero de 2003, describe el uso de fosfolípidos, triglicéridos y colesterol como una alimentación enteral para la prevención y/o tratamiento de la sepsis, donde se mencionan concentraciones de colesterol de al menos 0'5% en peso de la composición, y donde se ejemplifican relaciones de fosfolípidos a triglicéridos de 0'32 a 0'80. El colesterol está relacionado a menudo con daños a las arterias sanguíneas y se cree que su presencia en un producto reduce la aceptación del mismo del consumidor.

En la DE-A-19.644.518 se describen mezclas de fosfolípidos y triglicéridos con relaciones de 0'25 - 0'67, tales mezclas pueden ser aplicadas como una alimentación enteral. Como una fuente lipídica se requieren aquí ácido araquidónico y/o ácido docosahexaénico, cuyos ácidos grasos poliinsaturados son en general inestables.

WO-A-90/15609 describe el uso de fosfolípidos, preferiblemente una fosfatidilcolina esencialmente pura que contenga sólo ácidos grasos omega-6, contra infecciones bacterianas, pero no menciona la endotoxemia y la sepsis. El efecto antimicrobiano está dirigido a la destrucción de bacterias por macrófagos, resultando la destrucción en una liberación masiva de endotoxinas que es indeseable para la prevención de la sepsis.

Ahora se ha descubierto que la sepsis, la bacteriemia y/o la endotoxemia pueden ser prevenidas y/o tratadas eficazmente mediante una composición enteral que comprenda proteínas y lípidos, conteniendo la fracción lipídica fosfolípidos y triglicéridos en una relación específica.

La presente invención se basa en el descubrimiento que el LPS y/o el LTA son destoxicificados en la circulación mediante la incorporación a lipoproteínas tales como LDL (lipoproteína de baja densidad), VLDL (lipoproteína de muy baja densidad), quilomicrones y HDL (lipoproteína de alta densidad), en particular quilomicrones. Los inventores creen que los quilomicrones desempeñan un papel importante en la absorción y transporte de sustancias lipofílicas en general, tales como componentes alimenticios y toxinas (por ejemplo, LPS y/o LTA), los cuales pueden entrar en el cuerpo a través del intestino, pero los cuales también pueden formarse en caso de eliminación de restos de células bacterianas muertas en partes del cuerpo. Los quilomicrones son liberados en el tejido linfoide asociado al intestino (TLAI) y absorben LPS y/o LTA que son liberados tras tisis de bacterias en los enterocitos y, en particular, en los ganglios linfáticos. Los quilomicrones son transportados de los ganglios linfáticos a través del *ductus thoracicus* (conducto torácico) al *angulus venosus sinister*, el cual transporta los quilomicrones, y otras lipoproteínas, al corazón, el cual los transporta entonces al sistema retículo endotelial (en particular el bazo) y al hígado (células Kupffer). Así, los quilomicrones también pueden ser usados como vehículo para la entrega en el hígado de sustancias liposolubles, previniendo de esta forma pérdidas que pueden producirse a partir de una mala absorción.

El mantenimiento del nivel natural de quilomicrones, no sólo en el plasma sanguíneo, sino especialmente en TLAI, por ejemplo, por una parte relativamente grande de la longitud del intestino y durante un periodo de tiempo prolongado, asegura que la mayoría del LPS y/o LTA que es liberada en diversos lugares del cuerpo, por ejemplo en el intestino o los pulmones, pueda ser neutralizada, disminuyendo sustancialmente el riesgo de que se produzcan localmente niveles elevados de LPS y/o LTA.

En vista de estos descubrimientos, es por lo tanto esencial según la invención administrar la combinación de proteínas y lípidos, comprendiendo los lípidos fosfolípidos, y triglicéridos, como composición enteral y no como está prescrito por la técnica anterior como una composición intravenosa. La combinación de proteínas y dichos lípidos es digerida en el intestino, asegurando una liberación relativamente constante de quilomicrones durante un periodo de tiempo prolongado en el TLAI, puesto que el producto se digiere de manera relativamente lenta. Además, la combinación de fosfolípidos y triglicéridos tiene la ventaja que los ingredientes usados no necesitan pretratamientos específicos tales como la formación de liposomas, lo cual resulta en un producto eficaz con un precio de coste relativamente bajo. Asimismo, la administración enteral de la composición es sencilla y segura.

En comparación con la US 4,474,773, la cual proporciona la administración intravenosa de fosfolípidos, triglicéridos y colesterol, ahora se ha descubierto, como se explica arriba, que la administración enteral favorece la formación de quilomicrones en el TLAI, proporcionando de ese modo prevención eficaz y/o tratamiento de la sepsis. Con respecto a esto, se cree que la enseñanza de la US 4,474,773 sería perjudicial para tal prevención y/o tratamiento. De hecho, la US 4,474,773 proporciona la estimulación del sistema inmunitario mediante el aumento de la producción de

linfocitos. No obstante, un problema que se da con esta estimulación es que son producidas citoquinas, cuyos componentes están involucrados en la respuesta proinflamatoria que subyace a la sepsis. (Intensive Care Med. 2000; 26 Supl. 1:S124-8, Immunomodulatory therapy in sepsis, Kox WJ *et al.*). Esto es confirmado además por Inflamm. Res. 1998 Mayo; 47(5):201-10, "The inflammatory basis of trauma/shock associated multiple organ failure", Yao YM *et al.*, que describe que la activación del sistema inmunitario puede producir una inflamación generalizada conduciendo finalmente a inflamación sostenida y daños múltiples en órganos. Por consiguiente, aunque siguiendo la enseñanza de la US 4,474,773, se proporcionaría una estimulación del sistema inmunitario, no obstante esto sería perjudicial para el tratamiento y/o prevención de la sepsis.

Wang X.D. *et al* describe en Scand. J. Gastroenterol 1994:1117-1121 que la administración enteral de fosfolípidos reducía de manera significante la incidencia de translocación bacteriana después del 90% de hepatectomías en ratas. Éstos describen que la translocación bacteriana bajo ciertas condiciones puede provocar sepsis o bacteriemia. Entonces, se concluye que la disminución de la translocación bacteriana es probablemente el resultado de fosfolípidos nutriendo la mucosa intestinal y manteniendo la barrera intestinal o mediante la prevención de la función de barrera como surfactante mucoso. No obstante, este artículo no menciona los quilomicrones, mucho menos su relación con la prevención o tratamiento de la sepsis.

Otro enfoque más ha sido proporcionado por la WO-A-01/19356 (o su equivalente EP-A-1.090.636), la cual prescribe la administración enteral de la combinación de triglicéridos y lípidos de cadena media para prevenir la sepsis, exemplificando relaciones de fosfolípidos a triglicéridos de menos de 1. No se ha observado que los triglicéridos de cadena media sean eficaces en la neutralización de LPS ni en la formación de quilomicrones.

En las composiciones que comprenden fosfolípidos y triglicéridos para la prevención de la sepsis según la WO-A-03/009704, DE-A-19.644.518 y WO-A-01/19356, la relación de estos componentes es tal que se obtiene un exceso de triglicéridos sobre fosfolípidos en la composición. Tales productos no sufren problemas de inestabilidad como se observan para productos con tales relaciones elevadas de fosfolípidos a triglicéridos como en la presente invención.

Resumen de la invención

Según un aspecto de la invención, se proporciona el uso de una composición que comprende proteínas y lípidos, los lípidos comprendiendo fosfolípidos y triglicéridos en una relación de peso de fosfolípidos a triglicéridos mayor que 1'0, y donde la composición comprende menos del 0'5% en peso de colesterol o precursores del mismo, para la producción de una composición nutritiva para el tratamiento y/o la prevención de endotoxemia, sepsis, o bacteriemia por administración enteral.

Según otro aspecto de la invención, se proporciona una composición enteral que comprende:

a)- al menos el 1% en peso de proteínas y/o péptidos,

b)- al menos el 3'5% en peso de lípidos, comprendiendo los lípidos fosfolípidos y triglicéridos en una relación de peso de fosfolípidos a triglicéridos mayor que 1'0, y donde la composición comprende menos del 0'5% en peso de colesterol o precursores del mismo, donde dichos fosfolípidos están presentes en una cantidad de como máximo el 78% en peso de la fracción lipídica, y donde los triglicéridos contienen al menos el 50% en peso de ácidos grasos de cadena larga.

Estas composiciones con una relación de fosfolípidos a triglicéridos mayor que 1 pueden hacerse estables usando i) ciertas combinaciones de fosfolípidos, II) la presencia de ácidos orgánicos y/o iii) control del pH durante la preparación. Asimismo, se ha descubierto que cuando el colesterol está presente por debajo del 0'5% en peso en la composición según la invención, la estabilidad de la composición se mejora más.

Descripción detallada de la invención

Los lípidos son ingredientes esenciales de la presente invención. Normalmente, la cantidad de lípidos presente en la composición de la invención es de al menos el 3'5% en peso de la composición, preferiblemente al menos el 4% en peso de la composición, más preferiblemente de al menos el 6% en peso de la composición. Preferiblemente, los lípidos están presentes hasta un nivel del 50% en peso de la composición, más preferiblemente hasta un nivel del 20% en peso de la composición.

Un lípido esencial para el objetivo de la presente invención es un fosfolípido. Los fosfolípidos para uso aquí son seleccionados de la fosfatidilcolina, la fosfatidiletanolamina, el fosfatidilinositol, la fosfatidilsérina, el fosfatidilglicerol, el ácido fosfatídico, fuente de los mismos y mezclas de los mismos.

Como fuente de fosfolípidos, pueden usarse lisofosfolípidos, preparaciones enriquecidas en un fosfolípido particular o que contienen fosfolípidos (sintéticos) relativamente puros. Aunque tras el consumo de fosfolípidos sintéticos e incluso lisofosfolípidos, se forman quilomicrones *in vivo*, se prefiere usar fuentes naturales, en particular lecitina de soja y lecitina de huevo. De hecho, éstos son económicos y favorecidos por los consumidores, pero también se ha descubierto que es más estable en producto acabado.

ES 2 283 979 T3

Preferiblemente, los fosfolípidos son administrados como una mezcla de fosfolípidos, en particular comprendiendo fosfatidilcolina y uno o más de la fosfatidiletanolamina, el fosfatidilinositol, la fosfatidilsérina, el fosfatidilglicerol, y el ácido fosfatídico. Más preferiblemente, la composición contiene al menos fosfatidilcolina y fosfatidiletanolamina.

5 Las fuentes naturales comprenden normalmente mezclas de fosfolípidos. Por lo tanto, una lecitina de soja preferida para uso aquí como fuente natural de fosfolípidos contiene, basado en el contenido total de fosfolípidos, entre el 20 y el 40% en peso de fosfatidilcolina y entre el 20 y el 33% en peso de fosfatidiletanolamina. La cantidad de fosfolípidos cargados negativamente, que es la cantidad total de ácido fosfatídico y/o fosfatidilsérina y/o fosfatidilinositol y/o fosfatidilglicerol, presente en la lecitina de soja, es del 10 al 50% en peso.

10 Un extracto de fosfolípidos de huevo preferido para uso aquí como fuente natural de fosfolípidos comprende entre el 73 y el 82% en peso de fosfatidilcolina y entre el 15 y el 22% en peso de fosfatidiletanolamina. La cantidad de fosfolípidos cargados negativamente presente en la lecitina de huevo es menos del 2% en peso.

15 Normalmente, los fosfolípidos para el objetivo de la presente invención estarán presentes en una cantidad de entre el 23% y el 95%, preferiblemente de entre el 50% y el 95% y más preferiblemente mayor que el 50%, en peso de la fracción lipídica de la composición. Además, ahora también se ha descubierto que la presencia de un nivel elevado de fosfolípidos presente en la fracción lipídica de la composición de la invención mejoró más la prevención y/o el 20 tratamiento de la sepsis. Por consiguiente, se prefiere que se usen fosfolípidos o que estén presentes en un nivel de entre el 45% y el 78%, más preferiblemente de entre el 50% y el 69% en peso de la fracción lipídica de la composición; estando la fracción lipídica preferiblemente representada por la combinación de fosfolípidos y triglicéridos.

25 Para la estabilidad mejorada de la composición de la invención, en particular en cantidades elevadas de fosfolípidos, se prefiere que la composición de los fosfolípidos sea tal que la cantidad de fosfatidilcolina, cuando esté presente, sea menos que o igual al 72% de la cantidad total de fosfolípidos presente en la composición, preferiblemente menos del 50%, más preferiblemente menos del 35% en peso y, de la forma más preferible, menos del 25% en peso de la cantidad total de fosfolípidos presente en la composición. El porcentaje en peso de fosfatidiletanolamina, cuando está 30 presente está preferiblemente por debajo del 70%, más preferiblemente por debajo del 50% de la cantidad total de fosfolípidos presente en la composición. El porcentaje en peso de fosfolípidos cargados negativamente, cuando están presentes, que es la cantidad total de ácido fosfatídico y/o fosfatidilsérina y/o fosfatidilinositol y/o fosfatidilglicerol, está preferiblemente por encima del 5%, más preferiblemente por encima del 7%, de la manera más preferible por encima del 10%.

35 Por consiguiente, para el objetivo de la invención, se prefiere no usar fosfolípido de huevo o lecitina de huevo puros como única fuente de fosfolípidos en vista de su contenido de fosfolípidos, contenido especialmente elevado de fosfatidilcolina, y contenido bajo de fosfolípidos cargados negativamente sino, en cambio, usar mezclas de fosfolípido de huevo o lecitina de huevo puros con cualquiera de los componentes siguientes o mezclas de los mismos: lecitina de soja o fosfolípidos de soja o lecitinas o fosfolípidos de otro origen, de modo que se obtienen una cantidad inferior 40 de fosfatidiletanolamina y fosfatidilcolina y una cantidad más elevada de fosfolípidos cargados negativamente que las encontradas en la lecitina de huevo.

45 Los ácidos grasos en los fosfolípidos en particular comprenden menos del 30% de ácido docosahexaenoíco y/o eicosapentaenoíco. Los fosfolípidos de la invención son en particular seleccionados del glicerol esterificado con ácidos grasos de cadena larga. Con ácidos grasos de cadena larga, se quiere decir ácidos grasos con al menos 18 átomos de carbono. La cantidad de ácidos grasos de cadena larga relacionada con la cantidad total de ácidos grasos en el fosfolípido, debería ser al menos el 50%, preferiblemente más del 60% y, de la forma más preferible, más del 70% en base molar. Los ácidos grasos de cadena larga preferidos son el ácido estearidónico, el ácido palmítico, el ácido oléico, el ácido α -linolénico, el ácido linoleico, el ácido gamma-linolénico, el ácido linoleico conjugado, el ácido docosahexaenoíco, el ácido eicosapentaenoíco, y el ácido araquidónico. La cantidad de ácido mirístico en la fracción 50 de fosfolípidos es preferiblemente inferior que el 40%, más preferiblemente inferior que el 25% en peso. Los ácidos grasos de cadena media que normalmente incluyen longitud de cadena en el intervalo de entre 6 y 12 átomos de carbono no son deseados para uso aquí como el componente principal del fosfolípido debido a su bajo rendimiento en la neutralización del LPS. Por consiguiente, se prefiere que la fracción de fosfolípidos contenga al menos el 50% en peso, más preferiblemente más que el 70% en peso y de la forma más preferible más que el 75% de acilos grasos de cadena larga.

60 Los fosfolípidos son administrados en una cantidad de 0'008 - 2'0 gramos, preferiblemente 0'01 - 2'0 gramos, más preferiblemente más de 0'035 gramos por kilogramo de peso corporal por dosis unitaria. Para los humanos, presuponiendo un peso corporal de 70 kg., esto resulta en aproximadamente entre 0'6 y 140 g. por dosis unitaria, preferiblemente aproximadamente entre 0'7 y 140 g. por dosis unitaria, más preferiblemente más de 2'5 g. por dosis unitaria. Los fosfolípidos son administrados en dosis al menos una vez cada 24 horas, pero preferiblemente cada 2-12, más preferiblemente cada 3-8 horas, o incluso de manera continua. Enunciado de otro modo, el número de dosis por 65 24 horas cuando no son administradas de manera continua está dentro del intervalo de 2 a 12, preferiblemente de 2 a 7, con respecto a esto la dosis diaria es 0'008 - 2'0 gramos, preferiblemente 0'01 - 2'0 gramos, más preferiblemente más de 0'035 gramos por kilogramo de peso corporal. Cuando es de manera continua, la cantidad administrada de manera continua durante 24 horas constituye una dosis.

ES 2 283 979 T3

La presente invención es particularmente adecuada cuando se usa alimentación por tubo a corto plazo. Por consiguiente, para una composición nutritiva enteral completa y teniendo en cuenta un consumo de 2.000 kcal, una dosis diaria de fosfolípidos para alimentación por tubo a corto plazo es 12-140 g., preferiblemente 12-100 g., más preferiblemente 12-75 g., incluso más preferiblemente 16-75 g., y de la forma más preferible 30-75 g. 16-60 g. de fosfolípidos al 5 día es especialmente preferida para una alimentación por tubo a corto plazo. Una alimentación por tubo típica en consecuencia contiene 12-140 g. de fosfolípidos, preferiblemente 12-100 g., más preferiblemente 12-75 g., incluso más preferiblemente 16-75 g. y de la forma más preferible 30-75 g. por 2.000 kcal. 16-60 g. por 2.000 kcal es especialmente preferida.

10 Cuando la composición se usa como suplemento, y teniendo en cuenta un consumo de 200-600 ml. y un contenido lipídico de aproximadamente el 10%, una dosificación diaria de fosfolípidos para un suplemento es preferiblemente 2'3-56 g., más preferiblemente 5-50 g. Cuando la composición se usa como suplemento y se tiene en cuenta un consumo de 200-600 ml. y un contenido lipídico de aproximadamente el 5%, una dosificación diaria de fosfolípidos para un suplemento es preferiblemente de entre 2'3 y 28 g., más preferiblemente 5-25 g.

15 Otro lípido esencial para el objetivo de la presente invención es un triglicérido. Los triglicéridos de la invención son en particular seleccionados de glicerol esterificado con ácidos grasos de cadena larga. Con ácidos grasos de cadena larga, se quiere decir ácidos grasos con al menos 18 átomos de carbono. La cantidad de ácidos grasos de cadena larga relacionada con la cantidad total de ácidos grasos en el triglicérido, debería ser al menos el 50%, preferiblemente más del 60%, y de la forma más preferible más del 70% en base molar para observar formación importante de quilomicrones *in vivo*. Ácidos grasos de cadena larga preferidos son el ácido estearidónico, el ácido oléico, el ácido α -linolénico, el ácido linoleico, el ácido gamma-linolénico, el ácido linoleico conjugado, el ácido docosahexaenóico, el ácido eicosapentaenóico, y el ácido araquidónico. Más preferiblemente, se usan ácidos grados poliinsaturados, los cuales resultan en quilomicrones más eficaces, es decir, en quilomicrones que son más adecuados para depurar LPS y/o LTA. La cantidad de ácido mirístico en la fracción de triglicéridos es preferiblemente inferior que el 40%, más preferiblemente inferior que el 25% en peso. Triglicéridos de cadena media que normalmente incluyen longitud de cadena de ácido graso en el intervalo de 6 a 12 átomos de carbono no son deseados para uso aquí como el componente principal de los triglicéridos debido a su bajo rendimiento en la neutralización de LPS, así como su bajo rendimiento en la formación de quilomicrones. Por consiguiente, se prefiere que la fracción de triglicéridos contenga al menos el 50% en peso, más preferiblemente más que el 70% en peso, y de la forma más preferible más que el 75% de triglicéridos grasos de cadena larga. Los ácidos grasos en los triglicéridos en particular comprenden menos que el 30% de ácido docosahexaenóico y/o ácido eicosapentaenóico.

35 Preferiblemente, la cantidad de ácido α -linolénico en la fracción de fosfolípidos y de triglicéridos no supera el 4'5% de la energía de la composición alimenticia total, mientras que la cantidad de ácido linoleico no supera el 10% de la energía de la composición total.

Ejemplos de triglicéridos son aceites vegetales tales como el aceite de soja, aceite de canola, aceite de maíz, aceite 40 de oliva, aceite de girasol, aceite de sésamo, aceite de alazor, aceite de germe de trigo, aceite araquídico, aceite de onagra, aceites de origen animal tales como el aceite de huevo, o mezclas de los mismos, pero también son adecuados los aceites marinos, tales como el aceite de pescado y el aceite de alga, mezclados opcionalmente con uno o más aceites vegetales.

45 Normalmente, triglicéridos para el objetivo de la presente invención estarán presentes en la fracción lipídica de la composición de la invención en una cantidad de al menos el 7% a menos del 77% en peso. Además, se prefiere cuando está presente fosfolípido en una cantidad elevada de la fracción lipídica que un nivel del 7% al 50% en peso de triglicéridos se use o esté presente en la fracción lipídica de la composición de la invención.

50 La dosis diaria de triglicéridos es de 0'01 a 1'5 g/kg de peso corporal. Esto resulta en administración de aproximadamente 0'7 a 105 g., preferiblemente de aproximadamente 0'7 a 90 g. de triglicéridos para una persona enferma de 70 kg. de peso corporal. Esto se da en dosis separadas (1 a 12, preferiblemente 2 a 7, por 24 h.) o en una base continua (considerada como una dosis). El régimen de dosis y la cantidad de triglicéridos es elegida de tal manera que la cantidad por dosis unitaria es 0'01 a 1'5 g/kg de peso corporal.

55 La dosis diaria de fosfolípidos y triglicéridos es elegida de manera que resulta en un realmacenamiento de las lipoproteínas de niveles bajos a niveles observados en personas saludables bien alimentadas o incluso en una mejora de los niveles en un breve periodo de tiempo al 120% o incluso por encima del 150%, comparado con una persona saludable y/o para mejorar la relación fosfolípidos/lipoproteínas en la sangre. Preferiblemente, la dosificación diaria de triglicéridos es de 0'01 a 1'5 g/kg de peso corporal. De hecho, se cree que se prefiere tener una relación de peso que sea elevada en favor de los fosfolípidos. Los quilomicrones (y otras lipoproteínas) que contienen una cantidad elevada de fosfolípidos tendrán una mayor capacidad en la neutralización de endotoxinas. Además, una cantidad elevada de fosfolípidos ayudará en la absorción de triglicéridos.

65 Los componentes de la composición de la invención están presentes en su forma natural o como ingredientes separados. Esto significa que los liposomas no están previstos por la invención.

En la composición de la invención, la proporción de peso de fosfolípidos a triglicéridos es mayor que 1, más preferiblemente mayor que 1'5, e incluso más preferiblemente mayor que 2.

ES 2 283 979 T3

Como fuente para la combinación de fosfolípidos y triglicéridos de la invención, también pueden usarse huevos tales como huevo en la forma de aceite de huevo o polvo de huevo. Los huevos, en particular la fracción lipídica de los mismos, ya contienen los componentes deseados. Dependiendo del uso final de la composición y del tipo de extracto lipídico que sea usado, todos o algunos de los componentes (fosfolípidos y triglicéridos) necesitan ser complementados

- 5 para caer dentro de los intervalos indicados, de tal forma que la dieta de los pacientes contenga las cantidades correctas de estos componentes. Es especialmente ventajoso si se usan huevos de animales con una mezcla lipídica específica en su alimentación, tales huevos tienen un contenido aumentado de ácido α -linolénico, ácido linoleico conjugado y ácido docosahexaenoico. Como se ha mencionado anteriormente, se mezcla fosfolípido de huevo o lecitina de huevo puros con cualquiera de los siguientes componentes o mezclas de los mismos: lecitina de soja o fosfolípidos de soja o lecitinas o fosfolípidos de otro origen, de forma que se obtiene una cantidad inferior de fosfatidiletanolamina y fosfatidilcolina y una cantidad mayor de fosfolípidos cargados negativamente que las encontradas en lecitina de huevo.
- 10

Aun otro componente esencial de la invención es una proteína. La adición de una proteína a la combinación lipídica permitirá la formación de una composición de nutrición completa. La administración de una composición de nutrición completa es un requisito importante para pacientes con enfermedades o pacientes en cuidados intensivos, puesto que permitirá la entrega de todos los macronutrientes necesarios, así como micronutrientes en una composición. Preferiblemente, la proteína es seleccionada de proteína láctea, proteína de lactosuero, proteína de caseína, proteína de soja, proteína de huevo, y mezclas de estas proteínas. La proteína puede estar en la forma de proteína intacta o puede estar (parcialmente) hidrolizada. También pueden usarse otras proteínas tales como arroz de trigo, guisante y proteínas de avena, o sus hidrolizados, o mezclas de las mismas. Además, si se desea, la fuente proteínica puede incluir aminoácidos libres.

La proteína puede ser proporcionada de manera ventajosa por huevos. De hecho, además de que contiene los componentes adecuados de la invención, los huevos también tienen la ventaja que contienen proteínas beneficiosas. La fracción proteínica de huevos contiene inmunoglobulinas que pueden interactuar con bacterias. La presencia de inmunoglobulinas, en particular IgY, junto con los componentes de la invención en el intestino, proporciona un sistema muy eficaz, el cual impide que bacterias transloquen a través de la pared intestinal.

Se prefiere que estas inmunoglobulinas, en particular IgY, hayan sido hechas adecuadas para enlazar específicamente con aquellas cepas bacterianas que formen el mayor riesgo para provocar sepsis. Tales inmunoglobulinas pueden ser inducidas en pájaros y transferidas a huevos según métodos conocidos en la técnica. Un producto particularmente adecuado para ser usado según la invención es, por lo tanto, huevo hiperinmunitizado, el cual puede usarse como tal después de una pasteurización ligera, lo cual mantiene las inmunoglobulinas predominantemente en estado no desnaturalizado y activo.

35 Preferiblemente, al menos el 30% en peso del material proteínico está constituido de proteínas y/o péptidos que tienen un peso molecular de al menos 0'3 kDa, más preferiblemente de al menos 0'5 kDa, de la manera más preferible de al menos 1 kDa, y aun más preferiblemente de al menos 2 kDa. Se ha descubierto que estas proteínas son particularmente beneficiosas para uso en la presente invención. Además, el uso de proteínas de peso molecular más elevado, por ejemplo de peso molecular superior a 10 kDa resulta en un producto más estable.

40 La composición contiene preferiblemente al menos 0'02 g., preferiblemente de 0'07 a 2'5 g., más preferiblemente de 0'08 a 2'0 g. de proteínas por kg. de peso corporal al día. Para los humanos, presuponiendo un peso corporal de 70 kg., esto resulta en al menos 1'4 g., preferiblemente de 4'9 a 175 g., más preferiblemente de 5'6 a 140 g. de proteínas al día. Por dosis unitaria, la cantidad de proteínas es al menos 0'02 g., preferiblemente de 0'07 a 2'5 g., más preferiblemente de 0'08 a 2'0 g. por kg. de peso corporal.

Cuando se usan proteínas que se originan de huevos de pájaros hiperinmunitizados, la dosis diaria de IgY que puede ser administrada es entonces preferiblemente de 0'2 a 120 mg. Además, puesto que se ha descubierto que la efectividad 45 de la IgY cuando está combinada con la composición de la invención mejora la prevención de la translocación de bacterias, la dosis diaria de IgY que puede ser administrada está más preferiblemente dentro del intervalo de 0'2 a 800 mg., de la forma más preferible de 10 a 600 mg. La dosis de este ingrediente es preferiblemente 0'1 mg. a 10 mg. por kg. de peso corporal por dosis. Para humanos, presuponiendo un peso corporal de 70 kg., esto resulta en 7 - 700 mg. por dosis unitaria.

55 La cantidad para una dosis puede ser determinada basada en el peso del sujeto que ha de ser tratado. Las dosis diarias pueden ser calculadas multiplicando la dosis con el número de veces que la dosis es consumida al día. El régimen de dosis debería ser ajustado para mantener un nivel alto de quilomicrones en la linfa, por ejemplo, repitiendo la dosificación cada 2-12 horas, preferiblemente 3-8 horas o incluso en una base continua. Para un grupo de pacientes, se recomienda alimentación por tubo en el intestino.

Una característica preferida de la presente invención es la composición que esté sustancialmente libre de colesterol o del precursor del mismo. De hecho, se ha descubierto que la presencia de colesterol podría ser reducida sustancialmente o eliminada sin afectar la neutralización del LPS y/o la formación de quilomicrones. Otra ventaja de esta 60 reducción sustancial del nivel de colesterol o incluso la eliminación es la percepción del consumidor del producto. El producto es visto como más saludable para el consumidor, puesto que el colesterol a menudo está unido a daños a las arterias sanguíneas, deteriorando así más la condición de un paciente.

ES 2 283 979 T3

Por precursor del colesterol, se hace referencia a ésteres colesterílicos como aquellos que se encuentran en extractos naturales (huevo) y fuentes sintéticas tales como ésteres con ácidos orgánicos, por ejemplo, colesterol acetato, hemisuccinato, n-butirato, oleato, o ésteres con fosfolípidos.

5 Preferiblemente, por "sustancialmente libre de colesterol o precursores del mismo", se quiere decir que la composición comprende menos del 0'5% en peso de colesterol o precursores del mismo, preferiblemente menos del 0'2% en peso, y más preferiblemente está libre de colesterol y precursores del mismo.

10 También se ha observado que cuando el colesterol está presente sólo en cantidades pequeñas o incluso ausente, se obtiene la mejor respuesta en términos de estabilidad de la composición, especialmente cuando se usa lecitina de soja, y producción de quilomicrones. Una composición que comprenda lecitina de huevo a veces tiene una tendencia a una formación de crema no deseada de la composición. Se ha descubierto que el uso de tal nivel bajo de colesterol específico combinado con fosfolípidos derivados de soja o incluso ausencia de colesterol o precursores del mismo en una composición que comprenda fosfolípidos y triglicéridos como se define aquí proporciona un remedio para este problema, mientras que aún se proporciona producción efectiva de quilomicrones.

15 Cuando esté presente, la dosis de colesterol o equivalentes del mismo calculada como colesterol es preferiblemente de menos de 2 mg. por kg. de peso corporal por dosis resultando en una dosis de menos de 0'14 g., preferiblemente menos que 0'1 g. en humanos por dosis unitaria.

20 La composición enteral puede contener además ácidos orgánicos tales como el ácido cítrico, el ácido málico, el ácido láctico, sus sales, o mezclas de los mismos para aumentar más la estabilidad de la composición. Ácidos orgánicos preferidos para uso aquí son ácidos polidentados tales como el ácido cítrico, su sal o mezclas de los mismos. Cuando están presentes, estos ácidos orgánicos están presentes en la composición en una concentración de al menos el 0'5%, más preferiblemente más que el 0'6%, de la forma más preferible más que el 0'8% hasta el 2%, más preferiblemente hasta el 1'5% en peso de la composición. Basada en el peso en seco de la composición, la cantidad de ácidos orgánicos está en el intervalo de más del 2'5% en peso, preferiblemente más que el 3% en peso, y de la forma más preferible más que el 4% en peso con un máximo del 10% en peso.

25 30 La composición enteral también puede contener además bacterias del ácido láctico, productos de bacterias del ácido láctico, prebióticos, L-glutamina y/o L-arginina extra, antioxidantes, fibras, carbohidratos, polisacáridos, vitaminas, minerales tales como zinc, los cuales promoverán la absorción de sustancias liposolubles, y también otros componentes que normalmente están presentes en una alimentación enteral.

35 40 Cuando esté presente, el carbohidrato puede ser cualquier carbohidrato o mezcla de carbohidratos adecuados. Por ejemplo, el carbohidrato puede ser glucosa, sacarosa, maltodextrina, almidón modificado, almidón de amilosa, almidón de tapioca, almidón de maíz, jarabe de maíz, o fructosa, o mezclas de los mismos. Se prefiere la maltodextrina si se requiere osmolaridad baja.

45 50 La composición puede contener sustancias liposolubles. Éstas son seleccionadas en particular de la vitamina K (menaquinonas), ubiquinonas, carotenoides tales como la vitamina A, ácidos grasos específicos tales como el ácido linoleico conjugado, el ácido lipóico y la vitamina D. La inclusión de uno o más de estos componentes en la mezcla lipídica de la invención reduce de manera efectiva la prevalencia de la sepsis, reduce la respuesta de fase aguda y mejora la recuperación tras cirugía o lesión.

55 Cuando éstos son incluidos en un producto enteral junto con la mezcla lipídica de la invención y, opcionalmente, con sal de zinc, cantidades de estas sustancias liposolubles inferiores a aquellas de la técnica anterior pueden ser eficaces.

60 55 También es preferido incorporar berberina o extractos de *Berberis aristata* o *Coccinia venestratum* en la preparación en una cantidad de 10-100, preferiblemente 20-50 mg/kg del peso corporal por dosis.

65 La composición enteral de la invención es usada preferiblemente en la prevención y/o tratamiento de la sepsis, la bacteriemia y/o endotoxemia (shock endotóxico) y para retrasar la respuesta de fase aguda. En particular, la composición se usa para el tratamiento de pacientes que están sometiéndose a cirugía mayor, pacientes gravemente enfermos, pacientes con la enfermedad inflamatoria del intestino (EII), pacientes con síndromes HELLP, pacientes con un riesgo aumentado de translocación bacteriana y sepsis en general, en particular aquellos que padecen lesiones importantes, quemaduras, neumonía, especialmente causada o complicada por bacterias, decúbito, durante radio o quimioterapia o pacientes con un sistema inmunitario comprometido tales como niños prematuros o personas que padecen enfermedades de ancianos, o personas con un conducto de la bilis obstruido.

70 65 En caso de cirugía, se cree que el riesgo de endotoxemia está relacionado con el hecho de que los pacientes necesitan ayunar antes de la operación y que después de la cirugía sólo toman poca comida. Como resultado, disminuye la cantidad normal de quilomicrones, lo que los hace más vulnerables a daños causados por el LPS. Generalmente estos pacientes pueden tomar la composición de la invención hasta aproximadamente 3 horas antes de la cirugía y poco después de la cirugía, pero la invención también contempla la opción de tomar la composición durante un periodo más breve antes de la cirugía. En este caso, el nivel lipídico total en la composición estará normalmente en el intervalo de

ES 2 283 979 T3

5 a 70, preferiblemente 10 a 50 g. por dosis. Esta dosis puede ser suministrada mediante un suplemento para uso oral, preferiblemente un líquido tal como una bebida basada en lácteos en un volumen relativamente pequeño, por ejemplo 100 a 700, preferiblemente 150 a 600 ml.

- 5 La composición también la pueden tomar personas que permitan la toma de un volumen restringido, tales como personas que padecan anorexia nerviosa o personas en las fases terminales de enfermedades tales como el cáncer o el sida, pero también muchas personas mayores. En este caso, el nivel de triglicéridos en la composición estará en el intervalo de 0'7 a 30, preferiblemente 2 a 15 g/dosis, administrada en un volumen relativamente pequeño.
- 10 La composición de la invención también puede usarse para el tratamiento de mamíferos en general que sean susceptibles a infecciones, tales como debidas a regímenes alimenticios irregulares, por ejemplo, vacas y cerdos, en particular cerdos que se están destetando, donde las infecciones pueden dar como resultado calidad inferior de la carne. El estrés durante el transporte también puede dar como resultado la translocación bacteriana en animales.
- 15 La composición enteral de la presente invención puede ser una alimentación por tubo u oral, preferiblemente una alimentación por tubo. El tubo puede ser nasoesofágico, nasogástrico o nasoyeyunal, pero también se contemplan tubos de gastrostomía o de yeyustumía. La alimentación oral puede ser una alimentación completa o un suplemento alimenticio, en forma líquida o como cápsula o polvo. Formas líquidas preferidas son las dispersiones. Las composiciones intravenosas están excluidas de la invención por las razones explicadas aquí anteriormente.
- 20 Así, la invención también prevé un alimento enteral que contiene por dosis 8-180 g., preferiblemente 8-140 g., más preferiblemente 8-120 g., incluso más preferiblemente 12-120 g. y de la forma más preferible 12-80 g. de lípido contenido la combinación de fosfolípidos y triglicérido 3-120 g., preferiblemente 3-100 g., más preferiblemente 12-100 g. y de la forma más preferible 30-90 g. de una fracción proteínica y opcionalmente 1'2-400 g., preferiblemente 5-200 g. de una fracción de carbohidratos.

Un proceso preferido para hacer tal composición enteral conlleva mezclar por separado los ingredientes lipídicos y los otros ingredientes de la composición. El pH es ajustado preferiblemente en aproximadamente 7.0 - 7.2. Los ingredientes lipídicos son incorporados entonces a la mezcla preferiblemente bajo alto cizallamiento. Entonces, la mezcla es pasteurizada y homogeneizada (preferiblemente realizado a 550 bares y 50 bares). Una vez homogeneizada, el pH de la mezcla es ajustado en un intervalo de 6 a 8 cuando es medido a 20°C. De hecho, la regulación del pH durante la pasteurización en un intervalo de pH dentro del intervalo 6 a 8, preferiblemente en pH 6.2, se encontró preferida para la obtención de una composición con estabilidad óptima. Un agente preferido para la regulación del pH es una mezcla de citrato y ácido cítrico (relación del peso 1:1). No obstante, también pueden usarse aquí otros agentes de regulación que tengan la capacidad de unir cationes divalentes. Una vez el pH está ajustado, la mezcla es esterilizada.

Por consiguiente, en una forma de realización preferida de la presente invención, está previsto un proceso para hacer una composición tal y como se ha definido aquí anteriormente, donde el proceso comprende los pasos de:

- 40 a)- mezcla de los ingredientes no lipídicos juntos y ajuste del pH en un valor neutro, pH en el intervalo de 6 a 8;
- b)- incorporación del ingrediente lipídico en la mezcla obtenida en el paso a) mediante mezcla;
- 45 c)- pasteurización de la mezcla obtenida en el paso b) y ajuste del pH en el intervalo de 6 a 8 por adición de ácido orgánico, preferiblemente ácido cítrico, citrato o mezclas de los mismos, en una cantidad de al menos 2'5% en peso basada en el peso en seco de la composición, y
- d)- esterilización de la mezcla.

50 La adición de minerales y vitaminas puede realizarse bien mediante la esterilización de los ingredientes de minerales y vitaminas de manera separada de la otra parte de componentes de la composición y la incorporación de los minerales y vitaminas esterilizados a la composición esterilizada, bien añadiendo los minerales y vitaminas con los otros componentes según el proceso mencionado arriba, realizándose la esterilización de los minerales y vitaminas cuando la composición es esterilizada.

Ejemplos de alimentaciones enterales son alimentaciones que pueden ser administradas por medio de un tubo a un paciente, por ejemplo siendo sometido a cardiocirugía, conteniendo 0'5% a 7% (p/v), preferiblemente 1 a 5% (p/v), más preferiblemente 1 a 4% (p/v) de fosfolípidos en la presencia de proteínas, aceites, azúcares, fibrosos y otros componentes que normalmente están presentes en una alimentación enteral completa. La alimentación es iniciada 24 horas antes de la cirugía, la cual dependiendo de la condición del paciente puede ser bien por alimentación a sorbos o alimentación por tubo, y es continuada durante 24 a 72 horas después de la cirugía por medio de tubo. La alimentación por tubo también puede llevarse a cabo directamente al interior del duodeno o yeyuno, manteniendo de esta forma ventajosamente un estómago vacío y previniendo la aspiración durante la cirugía. El tratamiento continuo con la composición de la invención es un aspecto importante y preferido de la presente invención. De hecho, el tratamiento continuo, es decir, que comience antes de la operación, si la hay, y que continúe durante 4 a 5 días, proporciona una producción sostenida de quilomicrones, proporcionando de ese modo una resistencia mejor y de larga duración contra infecciones microbianas, en particular aquellas que ocasionen sepsis.

ES 2 283 979 T3

Un suplemento alimenticio en polvo o en cápsula que contenga la mezcla lipídica según la invención se da a personas con la enfermedad inflamatoria del intestino. El suplemento puede contener además fibras, oligosacáridos, vitaminas, en particular vitaminas liposolubles, como se indica arriba, probióticos, antioxidantes, extractos herbáceos o de plantas, proteínas o péptidos, etc. El suplemento se da a pacientes en remisión para prevenir la recurrencia de la inflamación o para aliviar la inflamación una vez que se vuelve a producir.

Una alimentación a sorbos líquida con una concentración de fosfolípidos de 1-7% (p/v), preferiblemente 1-6% (p/v), incluso más preferiblemente 1-5% (p/v), puede por ejemplo administrarse a un paciente con ictericia obstructiva, que se someterá a cirugía. Están presentes proteínas y grasas, pero también pueden estar presentes polisacáridos y micronutrientes. La alimentación es administrada 24-12 horas antes de la cirugía y continúa tan pronto como sea posible después de la cirugía durante 24 a 72 horas.

La composición de la invención también es adecuada para recién nacidos y niños prematuros al igual que animales.

Los siguientes son ejemplos que ilustran la presente invención:

En los ejemplos, se han usado las abreviaturas siguientes

Proteína 1	mezcla de caseína derivada de leche de vaca e hidrolizado de proteína de trigo en relación del peso de 0'75:1
Proteína 2	Caseína derivada de leche de vaca
Proteína 3	Proteína de leche de vaca
Carbohidratos 1	mezcla de glucosa, maltosa y maltodextrina en relación de peso de 1:3'5:55'5
Carbohidratos 2	mezcla de glucosa, maltosa y maltodextrina en relación de peso de 1:3'5:5'5
Carbohidratos 3	mezcla de glucosa, maltosa, sacarosa y maltodextrina en relación del peso de 1:2'7:12:42'7
Carbohidratos 4	mezcla de glucosa, maltosa y maltodextrina en relación del peso de 1:9'3:28
Fosfolípidos	Derivados de lecitina de soja
Triglicéridos 1	Aceite vegetal compuesto principalmente de aceite de canola
Triglicéridos 2	Derivados de soja

La composición del ácido graso en los triglicéridos 1 presente en los ejemplos abajo es de 7-10% de ácido graso saturado; 60-65% monoinsaturado y 28-31% de ácidos grasos poliinsaturados. La relación del peso de ácido graso n3:n6 en el triglicérido 1 es de 5:1. En el triglicérido 2 la cantidad de ácidos grasos saturados, monoinsaturados y poliinsaturados es aproximadamente 71, 18 y 61, respectivamente, con una relación n3:n6 de 77. Los triglicéridos 1-2 son triglicéridos de ácido graso de cadena larga.

Ejemplo 1

Alimentación por tubo contenido por 100 ml

55	Energía	125 kcal
	Proteína 1	7'5 g
60	Carbohidratos 1	14'5 g
	Lípidos	4'2 g incluidos:
	Fosfolípidos	2'1 g
65	Triglicéridos 1	0'66 g
	Triglicéridos 2	1'44 g

ES 2 283 979 T3

Vitaminas, minerales y elementos traza y otros componentes como se conocen en la técnica de la alimentación por tubo, por ejemplo Na, K, Cl, Ca, Mg, Fe, Se, Cu, P, Zn, I, Vit A, D, C, E, , B6, B12, K, ácido fólico, ácido pantoténico, niacina, biotina, riboflavina, ácido fólico, colina, mioinositol, L-carnitina en cantidades conocidas en la técnica de la alimentación por tubo también pueden incluirse en la composición mencionada arriba y en aquellas de los ejemplos 5 2-6.

Ejemplo 2

10 Alimentación por tubo contenido por 100 ml

	Energía	100 kcal
15	Proteína 2	4'0 g
	Carbohidratos 2	12'3 g
	Lípidos	3'9 g. incluidos:
20	Fosfolípidos	2'0 g
	Triglicéridos 1	0'63 g
25	Triglicéridos 2	1'27 g
	Fibra	1 g

30 Ejemplo 3

Alimentación líquida (alimentación a sorbos) para ser usada como suplemento que contiene por 100 ml

35	Energía	100 kcal
	Proteína 2	4 g
	Carbohidratos 3	8'8 g
40	Lípidos	5'4 g incluidos:
	Fosfolípidos	3'6 g Triglicéridos 1 1'19 g
45	Triglicéridos 2	0'61 g

Ejemplo 4

50 Alimentación líquida (alimentación a sorbos) para ser usada como suplemento que contiene por 100 ml

	Energía	130 kcal
55	Proteína 2	2'8 g
	Carbohidratos 3	13'3 g
	Lípidos	7'3 g incluidos:
60	Fosfolípidos	5'0 g
	Triglicéridos 2	2'3 g

65

ES 2 283 979 T3

Ejemplo 5

*Suplemento nutritivo oral en forma de polvo. Para ser diluido según las necesidades de energía/fluido individuales.
Composición por 100 g de polvo*

5	Energía	460 kcal
10	Proteína 2	18'6 g
15	Carbohidratos 4	52'3 g
20	Lípidos	18'1 g incluidos: proporción de 10'8 g
	Fosfolípidos	3'38 g
	Triglicéridos 1	3'92 g
	Triglicéridos 2	

Ejemplo 6

Una nutrición destinada a alimentación por tubo que contiene por 100 ml

25	Energía	125 kcal
30	Proteína 1	7'5 g
35	Carbohidratos 2	12'3 g
40	Lípidos	6'67 g. incluidos: Fibra (opcionalmente)
	Fosfolípidos	4'58 g
	Triglicéridos 2	2'09 g
		1'5 g

Ejemplo 7

Animales

El protocolo de este estudio fue aprobado por el Animal Care Committee de la Universidad de Maastricht, Holanda. Se alojaron ratas macho Sprague Dawley sanas, con un peso de 301-410 gramos (media, 342 gramos) compradas de Charles River (Maastricht, Holanda) bajo condiciones controladas de temperatura (20-22°C) y humedad (50%). Antes del comienzo de los experimentos, las ratas fueron alimentadas con agua y comida *ad libitum*.

Diseño experimental

Los animales fueron divididos en seis grupos (n=8 por grupo). Las ratas de control (C) fueron privadas de comida durante 18 horas y sacrificadas en t=24 h para evaluar el efecto de estar en ayunas sólo. Las ratas en shock falso (SS) fueron privadas de comida durante 18 horas y en t=0 la arteria femoral estaba canalizada, pero no se indujo un shock. Los grupos de shock hemorrágico fueron privados de comida durante 18 horas antes del procedimiento (HS-S), o fueron alimentados enteralmente con una dieta enteral líquida baja en grasas (HS-LF), una dieta enteral líquida alta en triglicéridos alta en grasas (HS-HT) o una dieta enteral líquida alta en fosfolípidos alta en grasas (HS-HP) mediante alimentación por sonda oral a las 18 horas (3 ml), 2 horas (0'75 ml) y 45 minutos (0'75 ml) antes de que el shock hemorrágico fuera inducido, y a las 3 horas (0'75 ml) y 6 horas (0'75 ml) después del shock. Se tomaron sangre y muestras de tejido a las 24 horas después del comienzo del shock. La cantidad de grasa en la dieta baja en grasas era isocalórica a la presente en la comida estándar de roedores (16'0% de energía). Las dietas enterales líquidas bajas en grasas eran isocalóricas e isonitrógenas a la dieta baja en grasas, pero contenían grasa de 52'2% de energía. La composición de las dietas se da en la tabla 2.

En un segundo experimento, las dietas altas en fosfolípidos y altas en triglicéridos fueron probadas en ratas recibiendo shock hemorrágico. Los dos experimentos fueron combinados, de modo que el grupo HS-TG y HS-PL estaba compuesto ahora de 16 animales.

ES 2 283 979 T3

TABLA 2

Composición de la comida suministrada a las ratas (por 100 ml)

	Dieta:	Baja en grasas	Alta en triglicéridos	Alta en fosfolípidos
		(HS-LF)	(HS-HT)	(HS-HP)
10	Energía kcal	130	130	130
	Carbohidratos 2	24'47 g (75'3%)	13'30 g (40'9%)	13'30 g
15	Proteínas 3	2'81 g (8'6%)	2'81 g (8'6%)	2'81 g
	Grasa g	2'31 g (16'0%)	7'28 g (50'4%)	7'28 g
	Triglicéridos 1	2'31 g	7'28 g	
20	Triglicéridos 2			2'28 g
	Fosfolípidos			5'00 g

25 Procedimiento del shock hemorrágico

Las ratas fueron anestesiadas con sodio pentobarbital inyectado intraperitonealmente (40 mg/kg). La piel sobre el área femoral izquierda fue afeitada y desinfectada con solución de yodo de povidona. Los animales fueron colocados en la posición supina y se les permitió respirar espontáneamente. Durante la cirugía y a lo largo del experimento, la temperatura corporal se mantuvo a 37°C con una lámpara de calentamiento por infrarrojos controlada por un sistema termoanalizador (Hugo Sachs Elektronik, March-Hugstetten, Alemania) conectado a una sonda rectal. La arteria femoral fue diseccionada usando técnica aséptica y canalizada con tubo de polietileno (PE-10) contenido salina heparinizada (10 IU/ml). La presión sanguínea arterial fue medida de manera continua (transductor externo de presión Uniflow™; Baxter™, Utrecht, Holanda) y registrada como presión arterial principal (MAP). El ritmo cardíaco (HR) fue evaluado de manera continua a partir de la señal de presión instantánea. Para mantener el catéter arterial patente, se perfundió de manera constante salina fisiológica (3ml/h) mediante el sistema de Uniflow™; no se usó heparina.

Después de un periodo de aclimatación de 30 minutos, las ratas fueron sometidas a hemorragia mediante la extracción de sangre en cantidades de 2'1 ml/100 gramos de peso corporal (que representa aproximadamente el 30-40% del volumen circulatorio) a un ritmo de 1 ml/minuto. A los 50 minutos después de la inducción del shock, el catéter fue retirado y la arteria femoral fue ligada.

Seis horas después de la hemorragia, se les permitió el acceso a comida estándar *ad libitum*. Las ratas en el grupo de shock falso fueron anestesiadas y la arteria femoral izquierda fue canalizada. Las ratas de shock falso fueron controladas de manera similar al grupo de shock hemorrágico, no obstante no se extrajo sangre.

Veinticuatro horas después de la inducción del shock, las ratas fueron anestesiadas con sodio pentobarbital (60 mg/kg). La piel sobre el abdomen fue afeitada y desinfectada con yodo de povidona. Se abrió el abdomen a través de una incisión de línea media, se tomaron muestras de sangre y se extrajeron asépticamente ganglios linfáticos mesenterales, la sección central del bazo y el segmento IV del hígado para examen bacteriológico.

Translocación bacteriana

Ganglios linfáticos mesenterales (GLM), la sección central del bazo y un segmento del hígado se recogieron asépticamente en 2 ml. de tubos de caldo de tioglicolato prepesado (Becton Dickinson (BBL) Microbiology Europe, Meylan, Francia). Después del pesado, las muestras de tejido fueron homogeneizadas con barras de molido estériles (Potter S, B.Braun Melsungen, Melsungen, Alemania). A continuación, se transfirieron volúmenes de 500 µl sobre las siguientes placas de agar: base de agar sangre Columbia III complementada con el 5% de vol/vol de sangre de oveja (BBL) (placas de duplicado), agar Chocolate PolyviteX (BioMérieux, Marcy L'Etoile, Francia), y agar kanamicina-vancomicina de Schaedler complementado con sangre de oveja al 5% (BBL). Se extendieron partes alícuotas por toda la superficie del agar. Todas las placas de agar fueron incubadas durante 48h, en una atmósfera enriquecida con CO₂ al 5% o bajo condiciones anaeróbicas (placas de agar de Shaedler). Tras la incubación, las colonias fueron contadas sobre las placas de agar sangre de oveja Columbia no selectivo. Para la determinación del número de unidades formadoras de colonias (UFC) por gramo de tejido, el número de colonias fue contado sobre todas las placas aeróbicas y, a continuación, ajustado al peso del tejido molido.

ES 2 283 979 T3

Análisis estadístico

El test U de Mann-Whitney de una cola fue usado para comparaciones entre grupos, puesto que la hipótesis era que los fosfolípidos eran mejores que los triglicéridos. Para la incidencia de la translocación se usó un test exacto de Fisher de una cola, usando un corte de tejido de 50 ufc/gramo. Un valor de 50 o inferior es considerado como que no se ha producido ninguna translocación, un valor superior a 50 fue considerado como que ha tenido lugar una translocación bacteriana. $P \leq 0'05$ se consideró significativo estadísticamente.

Resultados

La tabla 3 muestra los resultados con respecto a los números bacterianos translocados, donde están presentados el valor y el intervalo medios (entre paréntesis).

TABLA 3

Números bacterianos translocados como valor medio (intervalo) obtenido a partir de un test U de Mann-Whitney de una cola

	Primer experimento	MLN	Bazo	Hígado	Total
	HS-S (n=8)	212(60-483)	12 (0-998)	44 (0-249)	327
25	C (n=8)	0	0	0	0**/#
	SS (n=8)	8 (0-33)	2(0-17)	12(0-95)	22**/#
30	HS-LF (n=8)	86 (30-209)	66 (7-2543)	28 (0-1416)	261 1
	HS-HT (n=8)	3 (0-144)	0 (0-91)	0 (0-115)	25**/#
35	HS-HP (n=8)	0 (0-13)	0 (0-6)	0	0**/#/\$
	Experimento combinado				
	HS-HT (n=16)	10 (0-550)	3(0-308)	0 (0-115)	83*/#
40	HS-HP (n=16)	0 (0-77)	0 (0-73)	0 (0-124)	0**/#/¶

* $p < 0'05$ y ** $p < 0'01$ comparado con HS-LF

$p < 0'05$ y ## $p < 0'01$ comparado con HS-S

§ $p = 0'07$ comparado con HS-TG

¶ $p = 0'05$ comparado con HS-TG

En el primer experimento, las ratas hambrientas que recibieron un shock hemorrágico (HS-S) y las ratas alimentadas con una dieta baja en grasas isocalórica que recibieron un shock hemorrágico (HS-LF) mostraron números de translocación bacteriana más elevados de manera significativa comparado con las ratas hambrientas de control (C), o las ratas hambrientas que recibieron un shock falso (SS). Las ratas que recibieron una dieta alta en grasas mostraron de manera significativa menos translocación bacteriana comparado con los otros grupos que recibían un shock hemorrágico. En el primer experimento, el grupo alimentado con concentración elevada de fosfolípidos (HS-HP) mostró una fuerte tendencia a números bacterianos translocados inferiores comparado con el grupo alimentado con concentración elevada de triglicéridos (HS-HT) ($p=0'07$). Tras la extensión de estos grupos a n=16 después de la realización de un segundo experimento, las diferencias obtenidas entre el grupo HS-HT y el HS-HP fueron significativas ($P=0'05$) con una translocación inferior en el grupo HS-HP.

Incidencia de la translocación

La tabla 4 muestra los resultados para la incidencia de translocación bacteriana. Las ratas de control hambrientas (C) y las ratas con shock falso (SS) mostraron menos incidencia de translocación comparado con las ratas hambrientas o alimentadas con pocas grasas siendo sometidas a un shock hemorrágico. Una dieta con mucha grasa tuvo un efecto positivo sobre la incidencia de translocación bacteriana. De estas dietas altas en grasas se observó un efecto significativo de una dieta con una concentración elevada de fosfolípidos (HS-HP) comparado con una dieta con una concentración elevada de triglicéridos (HS-HT) sobre la incidencia de la translocación bacteriana.

ES 2 283 979 T3

Los resultados obtenidos en estos experimentos demuestran que una dieta alta en grasas protege contra la translocación bacteriana produciéndose como resultado de la cirugía y la hemorragia, ambas en el nivel de incidencia como en el nivel de números bacterianos translocados. De las dos dietas altas en grasas probadas, la dieta con una relación elevada fosfolípidos a triglicéridos mostró un efecto protector mejor de manera significativa que una dieta alta en grasas que comprenda triglicéridos solos. La reducción de la incidencia de translocación bacteriana y la reducción del número de bacterias translocadas reduce el cambio sobre la bacteriemia, y reduce la afluencia de LPS y LTA y, de ese modo, por lo tanto la posibilidad para el desarrollo de endotoxemia y sepsis.

10

TABLA 4

Incidencia de translocación obtenida a partir del test exacto de Fisher de una cola

	Primer experimento	Segundo experimento	Combinado (n=16)
C	0/8		
SS	1/8		
HS-S	8/8		
HS-LF	8/8		
HS-HT	4/8 (50%)	6/8 (75%)	10/16 (62'5%)
HS-HP	0/8 (0%)	4/8 (50%)	4/16 (25%)
de una cola	p = 0'04	P = 0'15	p = 0'04

35

40

45

50

55

60

65

REIVINDICACIONES

- 5 1. Uso de una composición que comprende proteínas y lípidos, comprendiendo los lípidos fosfolípidos y triglicéridos en una relación del peso de fosfolípidos a triglicéridos mayor que 1, y donde la composición comprende menos que el 0'5% en peso de colesterol o precursores del mismo, para la producción de una composición nutricional para el tratamiento y/o prevención de endotoxemia, sepsis, o bacteriemia por administración enteral.
- 10 2. Uso según la reivindicación 1, donde los fosfolípidos son administrados en una dosis de 0'008 a 2'0 gramos por kg. de peso corporal al día.
- 15 3. Uso según la reivindicación 1 ó 2, donde los triglicéridos son administrados en una dosis de 0'01 a 1'5 g. por kg. de peso corporal al día.
- 20 4. Uso según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, donde la composición contiene además una o más sustancias liposolubles preferiblemente seleccionadas de la vitamina K (menaquinonas), ubiquinonas, carotenoides tales como la vitamina A, el ácido linoleico conjugado, el ácido lipóico, la vitamina D y mezclas de los mismos.
- 25 5. Uso según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, donde la sepsis, la endotoxemia y/o la bacteriemia está asociada a cirugía mayor, enfermedad grave, enfermedad inflamatoria del intestino (EII), síndrome HELLP, un riesgo aumentado de translocación bacteriana y sepsis en general, en particular lesión importante, quemaduras, neumonía, especialmente causadas o complicadas por bacterias, decúbito, durante radio/quimioterapia, con un sistema inmunitario comprometido o con un conducto de la bilis obstruido.
- 30 6. Uso según cualquiera de las reivindicaciones anteriores para el tratamiento de personas que no permiten la toma de un volumen grande, en particular pacientes que padecen anorexia nerviosa, pacientes de cáncer o de sida y ancianos.
- 35 7. Uso según cualquiera de las reivindicaciones anteriores para el tratamiento de neonatos.
- 40 8. Uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 - 4 para la producción de una composición nutricional para el tratamiento de animales de granja antes de que sean sacrificados o cerdos que se están destetando.
- 45 9. Una composición enteral que comprende:
 - 35 a)- al menos el 10/0 en peso de proteínas y/o péptidos, y
 - 40 b)- al menos el 3'5% en peso de lípidos, comprendiendo la fracción lipídica fosfolípidos y triglicéridos en una relación del peso de fosfolípidos a triglicéridos mayor que 1, donde la composición comprende menos que el 0'5% en peso de colesterol o precursores del mismo, donde dichos fosfolípidos están presentes en una cantidad de como máximo el 78% en peso de la fracción lipídica, y donde los triglicéridos contiene al menos el 50% en peso de ácidos grasos de cadena larga.
- 50 10. Composición enteral según la reivindicación 9, donde los fosfolípidos comprenden fosfatidilcolina y uno o más de la fosfatidiletanolamina, el fosfatidilinositol, la fosfatidilsérina, el fosfatidilglicerol y el ácido fosfatídico.
- 55 11. Composición enteral según la reivindicación 9 6 10, donde la fracción de fosfolípidos comprende como máximo el 72% de fosfatidilcolina, menos que el 70% de fosfatidiletanolamina, y más que el 5% de fosfolípidos cargados negativamente, basado en el peso de la cantidad total de fosfolípidos presente en la composición.
- 60 12. Composición enteral según cualquiera de las reivindicaciones 9-11, donde los triglicéridos contienen más que el 60% y de la forma más preferible más que el 75% de ácidos grasos de cadena larga, en particular ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga.
- 65 13. Composición enteral según cualquiera de las reivindicaciones 9-12, donde la relación del peso de fosfolípidos a triglicéridos es mayor que 1'5, preferiblemente mayor que 2.
- 70 14. Composición enteral según cualquiera de las reivindicaciones 9-13, donde la composición comprende menos que el 0'2% en peso de colesterol o precursores del mismo.
- 75 15. Composición enteral según cualquiera de las reivindicaciones 9 - 14, donde el material proteínico comprende al menos el 30% en peso de la composición de proteínas y/o péptidos con un peso molecular de al menos 0'3 k daltones.
- 80 16. Composición enteral según cualquiera de las reivindicaciones 9 - 15, donde la composición contiene huevo o una fracción de huevo.
- 85 17. Composición enteral según cualquiera de las reivindicaciones 9 - 16, donde la composición contiene además inmunoglobulinas, preferiblemente IgY.

ES 2 283 979 T3

18. Composición enteral según cualquiera de las reivindicaciones 9-17, donde la composición contiene lecitina de soja.
19. Composición enteral según cualquiera de las reivindicaciones 9 - 18, donde la composición es una alimentación por tubo.
20. Composición enteral según cualquiera de las reivindicaciones 9 - 19, donde la composición está sustancialmente libre de colesterol o precursores del mismo.
- 10 21. Composición enteral según cualquiera de las reivindicaciones 9 - 20, donde la composición contiene además una o más sustancias liposolubles, preferiblemente seleccionadas de la vitamina K (menaquinonas), ubiquinonas, carotenoides tales como la vitamina A, el ácido linoleico conjugado, el ácido lipólico, la vitamina D y mezclas de los mismos.
- 15 22. Composición enteral según cualquiera de las reivindicaciones 9-21, donde la composición contiene además uno o más ácidos orgánicos, preferiblemente seleccionados del ácido cítrico, el ácido málico, el ácido láctico, sales de los mismos, y mezclas de los mismos.
- 20 23. Proceso para producir una composición como se define en cualquiera de las reivindicaciones 9 - 22, donde el proceso comprende los pasos de:
 - a)- mezcla de los ingredientes no lipídicos juntos y ajuste del pH en el intervalo de 6 a 8;
 - b)- incorporación del ingrediente lipídico en la mezcla obtenida en el paso a) mediante mezcla;
 - 25 c)- pasteurización de la mezcla obtenida en el paso b) y ajuste del pH dentro del intervalo de 6 a 8 mediante la adición de ácido orgánico, preferiblemente ácido cítrico, citrato o mezclas de los mismos, en una cantidad de al menos 2'5% en peso basada en el peso en seco de la composición, y
 - 30 d)- esterilización de la mezcla.

35

40

45

50

55

60

65