



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 110381935 A

(43)申请公布日 2019.10.25

(21)申请号 201780087975.4

(72)发明人 G·鲍曼 J·L·于德里-拉贝

(22)申请日 2017.12.11

J·A·J·施密特 C·波沙

(30)优先权数据

17193916.8 2017.09.29 EP

(74)专利代理机构 北京市中咨律师事务所

62/484119 2017.04.11 US

11247

62/484156 2017.04.11 US

代理人 张建 黄革生

62/580574 2017.11.02 US

(51)Int.Cl.

(85)PCT国际申请进入国家阶段日

A61K 31/202(2006.01)

2019.09.05

A61P 25/28(2006.01)

(86)PCT国际申请的申请数据

A61K 31/14(2006.01)

PCT/EP2017/082148 2017.12.11

A61K 31/4415(2006.01)

(87)PCT国际申请的公布数据

A61K 31/51(2006.01)

W02018/188771 EN 2018.10.18

A61K 31/592(2006.01)

A61K 31/593(2006.01)

(71)申请人 雀巢产品有限公司

权利要求书2页 说明书25页 附图2页

地址 瑞士沃韦

(54)发明名称

用于识别和减轻个体的认知衰老的 $\omega$ -3脂肪酸和维生素D水平

(57)摘要

本发明提供用于识别个体的认知衰退倾向的方法，该方法包括在从该个体中获得的一个或多个样本中，独立地确定以下项的水平：(a)  $\omega$ -3脂肪酸、和维生素D或其代谢物；(b)  $\omega$ -3脂肪酸和同型半胱氨酸；(c) 维生素D或其代谢物和同型半胱氨酸；或(d)  $\omega$ -3脂肪酸、维生素D或其代谢物和同型半胱氨酸。

1. 用于识别个体的认知衰退倾向的方法,所述方法包括在从所述个体获得的一个或多个样本中,独立地确定以下项的水平:

- (a)  $\omega$ -3脂肪酸、和维生素D或其代谢物;
- (b)  $\omega$ -3脂肪酸和同型半胱氨酸;
- (c) 维生素D或其代谢物和同型半胱氨酸;或
- (d)  $\omega$ -3脂肪酸、维生素D或其代谢物和同型半胱氨酸。

2. 根据权利要求1所述的方法,其中所述方法包括确定 $\omega$ -3脂肪酸、维生素D或其代谢物和同型半胱氨酸的水平。

3. 根据权利要求1或2所述的方法,其中:

- (a) 确定 $\omega$ -3脂肪酸的水平,并且与参比值相比,来自所述个体的所述样本中所述 $\omega$ -3脂肪酸的水平的降低指示认知衰退倾向;
- (b) 确定维生素D或其代谢物的水平,并且与参比值相比,来自所述个体的所述样本中所述维生素D或其代谢物的水平的降低指示认知衰退倾向;和/或
- (c) 确定同型半胱氨酸的水平,并且与参比值相比,来自所述个体的所述样本中所述同型半胱氨酸的水平的增加指示认知衰退倾向。

4. 根据任一前述权利要求所述的方法,其中所述一个或多个样本独立地选自血液样本、血浆样本和血清样本。

5. 根据任一前述权利要求所述的方法,其中所述 $\omega$ -3脂肪酸的水平在血液样本、优选红细胞样本中确定;所述维生素D或其代谢物的水平在血清样本中确定;和/或所述同型半胱氨酸的水平在血浆样本中确定。

6. 根据任一前述权利要求所述的方法,其中所述 $\omega$ -3脂肪酸为二十碳五烯酸(EPA)和/或二十二碳六烯酸(DHA),优选红细胞膜EPA和/或红细胞膜DHA。

7. 根据任一前述权利要求所述的方法,其中所述维生素D或其代谢物为维生素D3、维生素D2、25-羟基维生素D3和/或25-羟基维生素D2,优选25-羟基维生素D3和25-羟基维生素D2。

8. 根据任一前述权利要求所述的方法,其中所述个体为衰老人类个体,优选50岁或以上的人类个体。

9.  $\omega$ -3脂肪酸,其用于减缓或预防个体的认知衰退,其中所述 $\omega$ -3脂肪酸与维生素D或其代谢物和/或能够降低血浆同型半胱氨酸水平的活性剂同时、相继或分别施用于所述个体。

10. 维生素D或其代谢物,其用于减缓或预防个体的认知衰退,其中所述维生素D或其代谢物与 $\omega$ -3脂肪酸和/或能够降低血浆同型半胱氨酸水平的活性剂同时、相继或分别施用于所述个体。

11. 能够降低血浆同型半胱氨酸水平的活性剂,其用于减缓或预防个体的认知衰退,其中所述能够降低血浆同型半胱氨酸水平的活性剂与 $\omega$ -3脂肪酸、和/或维生素D或其代谢物同时、相继或分别施用于所述个体。

12. (a)  $\omega$ -3脂肪酸、(b) 维生素D或其代谢物和(c) 能够降低血浆同型半胱氨酸水平的活性剂的组合,其用于减缓或预防个体的认知衰退,其中(a)、(b) 和(c) 同时、相继或分别施用于所述个体。

13. 用于根据权利要求9的 $\omega$ -3脂肪酸、用于根据权利要求10的维生素D或其代谢物、用于根据权利要求11的能够降低血浆同型半胱氨酸水平的活性剂、或用于根据权利要求12的组合，其中所述个体是通过根据权利要求1至8中任一项所述的方法识别为有认知衰退倾向的个体。

14. 用于根据权利要求9或13的 $\omega$ -3脂肪酸、用于根据权利要求10或13的维生素D或其代谢物、用于根据权利要求11或13所述的能够降低血浆同型半胱氨酸水平的活性剂、或用于根据权利要求12或13的组合，其中所述 $\omega$ -3脂肪酸为二十碳五烯酸(EPA)和/或二十二碳六烯酸(DHA)。

15. 用于根据权利要求9、13或14中任一项的 $\omega$ -3脂肪酸、用于根据权利要求10、13或14中任一项的维生素D或其代谢物、用于根据权利要求11、13或14中任一项的能够降低血浆同型半胱氨酸水平的活性剂、或用于根据权利要求12至14中任一项的组合，其中所述维生素D或其代谢物为维生素D3、维生素D2、25-羟基维生素D3和/或25-羟基维生素D2。

16. 用于根据权利要求9或13至15中任一项的 $\omega$ -3脂肪酸、用于根据权利要求10或13至15中任一项的维生素D或其代谢物、用于根据权利要求11或13至15中任一项的能够降低血浆同型半胱氨酸水平的活性剂、或用于根据权利要求12至15中任一项的组合，其中所述能够降低血浆同型半胱氨酸水平的活性剂为维生素B6和/或维生素B9。

17. 用于根据权利要求9或13至16中任一项的 $\omega$ -3脂肪酸、用于根据权利要求10或13至16中任一项的维生素D或其代谢物、用于根据权利要求11或13至16中任一项的能够降低血浆同型半胱氨酸水平的活性剂、或用于根据权利要求12至16中任一项的组合，其中所述个体为衰老人类个体，优选50岁或以上的人类个体。

18. 用于根据权利要求9或13至17中任一项的 $\omega$ -3脂肪酸、用于根据权利要求10或13至17中任一项的维生素D或其代谢物、用于根据权利要求11或13至17中任一项的能够降低血浆同型半胱氨酸水平的活性剂、或用于根据权利要求12至17中任一项的组合，其中所述 $\omega$ -3脂肪酸、维生素D或其代谢物和/或能够降低血浆同型半胱氨酸水平的活性剂与维生素B12同时、相继或分别施用于所述个体，其中所述维生素B12以每天维生素B12的RDA的0.1倍至40倍的剂量施用。

## 用于识别和减轻个体的认知衰老的 $\omega$ -3脂肪酸和维生素D水平

### 技术领域

[0001] 本发明涉及用于识别个体的认知衰退倾向的方法,以及用于减缓或预防认知衰退的活性剂,特别是减缓或预防根据本发明方法识别出的个体的认知衰退。

### 背景技术

[0002] 人口衰老一直是值得注意的人口统计事件。由于增加的寿命,中老年人口的增长超过了总人口增长,由于降低的人口出生率,中老年人相对于其他人口的比例大大增加。例如,在1950年,每十二个个体中有一个为至少60岁,并且在2000年底每十个人中有一个年龄为60岁或年龄更大。到2050年底,全世界60岁或以上的人的数量预计为每五人中有一人。

[0003] 衰老个体常常患有某种程度的认知损害,包括随年龄而发展的认知功能衰退,并且通常可观察到与年龄相关的脑形态和脑血管功能变化。在包括处理速度、注意力、情景记忆、空间能力和执行功能在内的一系列认知领域中,认知衰退一致地被报告为衰老。脑部成像研究表明,这些正常与年龄相关的认知衰退与脑中灰质和白质体积的降低相关联,其中额叶纹状体系统受衰老影响最大。皮质体积的这种降低可归因于许多涉及正常衰老的有害细胞过程,诸如随时间推移自由基的损伤积聚导致氧化损伤、慢性低等级炎症、同型半胱氨酸(Hcy)积聚以及线粒体效率降低。除了直接的细胞损伤之外,脑还间接因对微血管结构的侵害而受损。显然,衰老和痴呆的病理学涉及这些关联在一起的相互作用因素的复杂性。例如,线粒体功能障碍导致增加的氧化应激,并且氧化应激可触发炎症和血管侵害。

[0004] 此外,认知衰退是阿尔茨海默病病理学的早期预测因素,并且在痴呆发作之前开始。在这种情况下,认知复合评分代表评估痴呆前认知衰退的可靠方法。相当多证据表明,保持脑健康并预防随年龄增加而产生的认知衰退,这可预防或延缓由于阿尔茨海默病和其它与年龄相关的神经病理学而导致的痴呆进一步发展。

[0005] 营养、教育、体育锻炼和认知训练最近被证明为预防衰老型认知衰退的可能干预。大量临床、流行病学和个体证据支持可降低痴呆风险以及与年龄相关的神经变性的个体中的营养因素。然而,对营养干预的正式试验测试的结果参差不齐(Schmitt等人,2010年,《营养综述》,第68卷,S2-S5((2010) Nutrition Reviews 68:S2-S5))。

[0006] 一些长期研究未观察到使用B6、B12和叶酸的组合进行干预时有任何认知有益效果。McMahon等人,2006年,《新英格兰医学期刊》,第354卷第26期,第2764-2772页((2006) N Engl J Med, 354 (26), 2764-2772)发现,服用含叶酸(1000 $\mu$ g)、维生素B12(500 $\mu$ g)和B6(10mg)的补充剂2年之后对年龄为65岁以上成人的认知没有影响。类似地,Hankey等人,2013年,《中风》,第44卷第8期,第2232-2239页((2013) stroke, 44 (8), 2232-2239)发现,对先前出现过中风或短暂性脑缺血发作的认知未受损患者每日补充叶酸(2000 $\mu$ g)、维生素B6(25mg)和维生素B12(500 $\mu$ g),通过简易精神状态检查量表(MMSE)进行测量,在平均2.8年期间,平均tHcy得到降低,但对认知损害或认知衰退的发生率没有影响。

[0007] 若干短期研究也未能显示B6、B12和叶酸的组合对改善认知功能的影响。Lewerin

等人,2005年,《美国临床营养学杂志》,第81卷第5期,第1155-1162页((2005) Am J Clin Nutr 81 (5) :1155-1162)发现,补充叶酸(800 $\mu$ g)、维生素B12(500 $\mu$ g)和维生素B6(3mg)4个月对中老年人(中值年龄76岁)的认知没有影响。

[0008] 因此,仍然存在对减缓或预防个体的认知衰退的方法的显著需求。此外,需要识别例如有认知衰退倾向的个体,以能够对这些个体进行早期干预,从而降低认知衰退发生率和/或程度。

## 发明内容

[0009] 发明人利用源自多领域阿尔茨海默病预防试验(MAPT;一项被设计用于评估以下项和安慰剂在预防1680名年龄为70岁及年龄更大的非痴呆成人的认知衰退方面的影响的研究: $\omega$ 3补充剂、由营养咨询、身体锻炼和认知参与构成的多领域干预、或补充剂与多领域干预的组合)的分组生物试样,以定量三种表示针对认知衰退和痴呆的不同途径的生物标志物。该生物标志物是:同型半胱氨酸,该同型半胱氨酸作为一种扰乱碳代谢的标志物;25-羟基维生素D,该25-羟基维生素D作为扰乱脑中维生素D结合蛋白和受体活性的类固醇激素标志物;以及 $\omega$ 3指数,该 $\omega$ 3指数指示脂肪酸代谢。发明人发现,这些标志物中的每一个标志物为独立的认知衰退风险因素,并且它们组合加快认知衰退速率。

[0010] 基于这些发现,发明人设计了基于 $\omega$ -3脂肪酸、同型半胱氨酸和维生素D水平的“营养风险指数”(NRI),该“营养风险指数”独立于年龄、性别、教育、APOE4基因型和干预组,识别出具有明显认知衰退迹象的成人。NRI中每一分的增加更加与3年来认知衰退加速相关联。这些数据表明,降低由少量维生素D3和红细胞 $\omega$ 3脂肪酸和/或高同型半胱氨酸引起的营养风险可减缓或预防与年龄相关的认知衰退。

[0011] 此外,发明人相信,先前尝试减缓认知衰退、痴呆风险以及与年龄相关的神经退化的营养干预着重于分离地施用营养物质,而不是智能地组合在一起,以通过营养物质相互作用来增加影响的程度。此外,探索组合成分对认知功能的影响的研究使用了均以相同机制为目标的组分的混合物(例如,针对Hcy水平的叶酸和维生素B12以及B6的混合物,或针对氧化损伤的维生素C和E的混合物),这可能是该证据与单一成分研究不一致的原因。相反,本公开涉及多干预方法,由此每种干预针对与认知衰退相关联的不同风险因素。

[0012] 因此,在一个方面,本发明提供用于识别个体的认知衰退倾向的方法,该方法包括在从个体获得的一个或多个样本中,独立地确定以下项的水平:

[0013] (a)  $\omega$ -3脂肪酸、和维生素D或其代谢物;

[0014] (b)  $\omega$ -3脂肪酸和同型半胱氨酸;

[0015] (c) 维生素D或其代谢物和同型半胱氨酸;或

[0016] (d)  $\omega$ -3脂肪酸、维生素D或其代谢物和同型半胱氨酸。

[0017] 在一个实施方案中,该方法包括确定 $\omega$ -3脂肪酸和维生素D或其代谢物的水平。在一个实施方案中,该方法包括确定 $\omega$ -3脂肪酸和同型半胱氨酸的水平。在一个实施方案中,该方法包括确定维生素D或其代谢物和同型半胱氨酸的水平。

[0018] 在一个优选的实施方案中,该方法包括确定 $\omega$ -3脂肪酸、维生素D或其代谢物和同型半胱氨酸的水平。

[0019] 在一个实施方案中,该方法包括:

- [0020] (a) 在从个体获得的一个或多个样本中,独立地确定 $\omega$ -3脂肪酸、维生素D或其代谢物或同型半胱氨酸中的两项或多项的水平;以及
- [0021] (b) 将 $\omega$ -3脂肪酸、维生素D或其代谢物或同型半胱氨酸中的两项或多项的水平与两个或多个参比值进行比较,
- [0022] 其中与两个或多个参比值相比, $\omega$ -3脂肪酸、维生素D或其代谢物或同型半胱氨酸中的两项或多项的水平指示该个体的认知衰退倾向。
- [0023] 在一个实施方案中:
- [0024] (a) 确定 $\omega$ -3脂肪酸的水平,并且与参比值相比,来自该个体的样本中的 $\omega$ -3脂肪酸的水平的降低指示认知衰退倾向;
- [0025] (b) 确定维生素D或其代谢物的水平,并且与参比值相比,来自该个体的样本中维生素D或其代谢物的水平的降低指示认知衰退倾向;和/或
- [0026] (c) 确定同型半胱氨酸的水平,并且与参比值相比,来自该个体的样本中同型半胱氨酸的水平的增加指示认知衰退倾向。
- [0027] 在一个实施方案中,一个或多个样本独立地选自血液样本、血浆样本和血清样本。
- [0028] 在一个实施方案中, $\omega$ -3脂肪酸的水平在血液样本、优选红细胞样本中确定。在一个实施方案中,维生素D或其代谢物的水平在血清样本中确定。在一个实施方案中,同型半胱氨酸的水平在血浆样本中确定。
- [0029] 在一个实施方案中, $\omega$ -3脂肪酸为二十碳五烯酸(EPA)和/或二十二碳六烯酸(DHA)。在一个优选的实施方案中, $\omega$ -3脂肪酸为红细胞膜EPA和/或红细胞膜DHA。
- [0030] 在一个实施方案中, $\omega$ -3脂肪酸为EPA。在一个实施方案中, $\omega$ -3脂肪酸为DHA。在一个实施方案中, $\omega$ -3脂肪酸为EPA和DHA。在一个优选的实施方案中, $\omega$ -3脂肪酸为红细胞膜EPA。在一个优选的实施方案中, $\omega$ -3脂肪酸为红细胞膜DHA。在一个特别优选的实施方案中, $\omega$ -3脂肪酸为红细胞膜EPA和红细胞膜DHA。
- [0031] 在一个实施方案中,维生素D或其代谢物为维生素D3、维生素D2、25-羟基维生素D3和/或25-羟基维生素D2。
- [0032] 在一个实施方案中,维生素D或其代谢物为维生素D3。在一个实施方案中,维生素D或其代谢物为维生素D2。在一个实施方案中,维生素D或其代谢物为25-羟基维生素D3。在一个实施方案中,维生素D或其代谢物为25-羟基维生素D2。
- [0033] 在一个优选的实施方案中,维生素D或其代谢物为25-羟基维生素D。在一个优选的实施方案中,维生素D或其代谢物为25-羟基维生素D3和25-羟基维生素D2。
- [0034] 在一个实施方案中,使用气相色谱法测量样本中的 $\omega$ 3脂肪酸水平。在一个实施方案中,使用电化学发光结合测定法测量样本中的维生素D或其代谢物水平。在一个实施方案中,使用酶循环测定法测量样本中的同型半胱氨酸水平。
- [0035] 在一个实施方案中,个体是人类个体。
- [0036] 在一个实施方案中,个体是衰老人类个体。在一个实施方案中,个体是至少50岁、55岁、60岁、65岁、70岁、75岁、80岁、85岁、90岁或95岁的人类个体。在一个优选的实施方案中,个体是50岁或以上的人类个体。在一个特别优选的实施方案中,个体是70岁或以上的人类个体。
- [0037] 在一个实施方案中,个体未患痴呆。

- [0038] 在一个实施方案中,个体在基线处的临床痴呆评分(CDR)为0.5。
- [0039] 在一个实施方案中,个体在基线处的心血管风险因素、衰老和痴呆(CAIDE)风险评分为10至15。
- [0040] 在一个实施方案中,个体在基线处的淀粉样蛋白PET扫描上为淀粉样蛋白阳性。
- [0041] 在一个实施方案中,个体具有指示认知衰退风险的基因型。在一个实施方案中,个体是APOE4携带者。
- [0042] 在另一个实施方案中,个体存在由一种或多种选自以下的风险因素所确定的痴呆风险:年龄、血管风险因素(例如,高血压和/或糖尿病)、APOE4基因型、淀粉样蛋白阳性(例如,在淀粉样蛋白PET扫描上)、存在白质病变、脑小血管疾病的其它症状(例如,梗塞和/或腔隙)以及抑郁。
- [0043] 在一个实施方案中,该方法还包括将 $\omega$ -3脂肪酸、维他命D或其代谢物和/或同型半胱氨酸的水平与个体的一种或多种人体测量度量和/或生活方式特征组合。优选地,人体测量度量选自性别、体重、身高、年龄和体重指数。优选地,生活方式特征为个体是吸烟者或者非吸烟者。
- [0044] 在一个实施方案中,该方法还包括将 $\omega$ -3脂肪酸、维生素D或其代谢物和/或同型半胱氨酸的水平与个体的性别组合。
- [0045] 在一个实施方案中,该方法还包括将 $\omega$ -3脂肪酸、维生素D或其代谢物和/或同型半胱氨酸的水平与个体的年龄组合。
- [0046] 优选地,该方法为体外方法。
- [0047] 在另一个方面,本发明提供 $\omega$ -3脂肪酸,其用于减缓或预防个体的认知衰退,其中 $\omega$ -3脂肪酸与维生素D或其代谢物和/或能够降低血浆同型半胱氨酸水平的活性剂同时、相继或分别施用于个体。
- [0048] 在一个实施方案中, $\omega$ -3脂肪酸与维生素D或其代谢物同时、相继或分别施用于个体。在一个实施方案中, $\omega$ -3脂肪酸与能够降低血浆同型半胱氨酸水平的活性剂同时、相继或分别施用于个体。在一个优选的实施方案中, $\omega$ -3脂肪酸与维生素D或其代谢物和能够降低血浆同型半胱氨酸水平的活性剂同时、相继或分别施用于个体。
- [0049] 在另一个方面,本发明提供维生素D或其代谢物,其用于减缓或预防个体的认知衰退,其中维生素D或其代谢物与 $\omega$ -3脂肪酸和/或能够降低血浆同型半胱氨酸水平的活性剂同时、相继或分别施用于个体。
- [0050] 在一个实施方案中,维生素D或其代谢物与 $\omega$ -3脂肪酸同时、相继或分别施用于个体。在一个实施方案中,维生素D或其代谢物与能够降低血浆同型半胱氨酸水平的活性剂同时、相继或分别施用于个体。在一个优选的实施方案中,维生素D或其代谢物与 $\omega$ -3脂肪酸和能够降低血浆同型半胱氨酸水平的活性剂同时、相继或分别施用于个体。
- [0051] 在另一个方面,本发明提供能够降低血浆同型半胱氨酸水平的活性剂,其用于减缓或预防个体的认知衰退,其中能够降低血浆同型半胱氨酸水平的活性剂与 $\omega$ -3脂肪酸、和/或维生素D或其代谢物同时、相继或分别施用于个体。
- [0052] 在一个实施方案中,能够降低血浆同型半胱氨酸水平的活性剂与 $\omega$ -3脂肪酸同时、相继或分别施用于个体。在一个实施方案中,能够降低血浆同型半胱氨酸水平的活性剂与维生素D或其代谢物同时、相继或分别施用于个体。在一个优选的实施方案中,能够降低

血浆同型半胱氨酸水平的活性剂与 $\omega$ -3脂肪酸、和维生素D或其代谢物同时、相继或分别施用于个体。

[0053] 在另一个方面,本发明提供(a)  $\omega$ -3脂肪酸、(b) 维生素D或其代谢物、和(c) 能够降低血浆同型半胱氨酸水平的活性剂的组合,其用于减缓或预防个体的认知衰退,其中(a)、(b) 和 (c) 同时、相继或分别施用于个体。

[0054] 在另一个方面,本发明提供用于减缓或预防个体的认知衰退的方法,该方法包括向个体施用以下项:

[0055] (a)  $\omega$ -3脂肪酸、和维生素D或其代谢物;

[0056] (b)  $\omega$ -3脂肪酸和能够降低血浆同型半胱氨酸水平的活性剂;

[0057] (c) 维生素D或其代谢物和能够降低血浆同型半胱氨酸水平的活性剂;或

[0058] (d)  $\omega$ -3脂肪酸、维生素D或其代谢物和能够降低血浆同型半胱氨酸水平的活性剂。

[0059] 在一个优选的实施方案中,该方法包括向个体施用 $\omega$ -3脂肪酸、维生素D或其代谢物和能够降低血浆同型半胱氨酸水平的活性剂。

[0060] 在一个实施方案中,个体是通过本发明方法识别为有认知衰退倾向的个体。

[0061] 在一个实施方案中, $\omega$ -3脂肪酸为二十碳五烯酸(EPA)和/或二十二碳六烯酸(DHA)。

[0062] 在一个实施方案中, $\omega$ -3脂肪酸为EPA。在一个实施方案中, $\omega$ -3脂肪酸为DHA。在一个实施方案中, $\omega$ -3脂肪酸为EPA和DHA。

[0063] 在一个实施方案中,维生素D或其代谢物为维生素D3、维生素D2、25-羟基维生素D3和/或25-羟基维生素D2。

[0064] 在一个实施方案中,维生素D或其代谢物为维生素D3。在一个实施方案中,维生素D或其代谢物为维生素D2。在一个实施方案中,维生素D或其代谢物为25-羟基维生素D3。在一个实施方案中,维生素D或其代谢物为25-羟基维生素D2。

[0065] 在一个实施方案中,维生素D或其代谢物为25-羟基维生素D。在一个实施方案中,维生素D或其代谢物为25-羟基维生素D3和25-羟基维生素D2。

[0066] 在一个实施方案中,能够降低血浆同型半胱氨酸水平的活性剂为维生素B6和/或维生素B9。

[0067] 在一个实施方案中,能够降低血浆同型半胱氨酸水平的活性剂为维生素B6。在一个实施方案中,能够降低血浆同型半胱氨酸水平的活性剂为维生素B9。在一个实施方案中,能够降低血浆同型半胱氨酸水平的活性剂为维生素B6和维生素B9。

[0068] 在一个实施方案中,个体是人类个体。

[0069] 在一个实施方案中,个体是衰老人类个体。在一个实施方案中,个体是至少50岁、55岁、60岁、65岁、70岁、75岁、80岁、85岁、90岁或95岁的人类个体。在一个优选的实施方案中,个体是50岁或以上的人类个体。在一个特别优选的实施方案中,个体是70岁或以上的人类个体。

[0070] 在一个实施方案中,个体未患痴呆。

[0071] 在一个实施方案中,个体在基线处的临床痴呆评分(CDR)为0.5。

[0072] 在一个实施方案中,个体在基线处的心血管风险因素、衰老和痴呆(CAIDE)风险评

分为10至15。

[0073] 在一个实施方案中,个体在基线处的淀粉样蛋白PET扫描上为淀粉样蛋白阳性。

[0074] 在一个实施方案中,个体具有指示认知衰退风险的基因型。在一个实施方案中,个体是APOE4携带者。

[0075] 在另一个实施方案中,个体存在由一种或多种选自以下的风险因素所确定的痴呆风险:年龄、血管风险因素(例如,高血压和/或糖尿病)、APOE4基因型、淀粉样蛋白阳性(例如,在淀粉样蛋白PET扫描上)、存在白质病变、脑小血管疾病的其它症状(例如,梗塞和/或腔隙)以及抑郁。

[0076] 在一个实施方案中,施用为膳食干预。

[0077] 在一个实施方案中,将 $\omega$ -3脂肪酸、维生素D或其代谢物和/或能够降低血浆同型半胱氨酸水平的活性剂每日口服施用于个体持续至少一个月。

[0078] 在一个实施方案中,还向个体施用一种或多种选自以下的B族维生素:维生素B1、维生素B2、维生素B3、维生素B5、维生素B7和维生素B12。

[0079] 在一个优选的实施方案中,还向个体施用维生素B12。在一个实施方案中,维生素B12以每天维生素B12的RDA的0.1倍至40倍、优选每天维生素B12的RDA的10倍至40倍、10倍至30倍或10倍至25倍、更优选每天维生素B12的RDA的12倍至21倍的剂量施用。

[0080] 在一个实施方案中, $\omega$ -3脂肪酸、维生素D或其代谢物和/或能够降低血浆同型半胱氨酸水平的活性剂与维生素B12同时、相继或分别施用于个体,其中维生素B12以每天维生素B12的RDA的0.1倍至40倍、优选每天维生素B12的RDA的10倍至40倍、10倍至30倍或10倍至25倍、更优选每天维生素B12的RDA的12倍至21倍的剂量施用。

[0081] 在一个实施方案中,还向个体施用一种或多种选自以下的抗氧化剂:维生素C、维生素D、维生素E和硒。

[0082] 在一个实施方案中,本发明的用途和方法提供:改善神经元流动性、刺激神经元可塑性和活性、改善抗炎潜力、支持或维持认知表现、支持或维持脑表现、减慢脑衰老、支持活跃思维和脑健康、支持或维持健康的脑、增强记忆、增强执行功能、增强注意力、维持认知健康和/或维持脑细胞健康。

[0083] 在一个实施方案中, $\omega$ -3脂肪酸、维生素D或其代谢物和/或能够降低血浆同型半胱氨酸水平的活性剂为食物产品形式,优选还包含选自以下的成分:蛋白质、碳水化合物、脂肪以及它们的组合。

[0084] 在一个实施方案中, $\omega$ -3脂肪酸、维生素D或其代谢物和/或能够降低血浆同型半胱氨酸水平的活性剂为药物组合物形式,该药物组合物还包含药学上可接受的载体、稀释剂或赋形剂。

[0085] 在另一个方面,本公开提供了实现一种或多种选自以下的有益效果的方法:减轻脑萎缩、增加或保持突触数量、增加或保持淀粉样蛋白- $\beta$ 吞噬作用以及减轻对有需要的个体的神经炎症,该方法包括向个体施用以下项:

[0086] (a)  $\omega$ -3脂肪酸、和维生素D或其代谢物;

[0087] (b)  $\omega$ -3脂肪酸和能够降低血浆同型半胱氨酸水平的活性剂;

[0088] (c) 维生素D或其代谢物和能够降低血浆同型半胱氨酸水平的活性剂;或

[0089] (d)  $\omega$ -3脂肪酸、维生素D或其代谢物和能够降低血浆同型半胱氨酸水平的活性

剂。

[0090] 在一个优选的实施方案中,该方法包括向个体施用 $\omega$ -3脂肪酸、维生素D或其代谢物和能够降低血浆同型半胱氨酸水平的活性剂。

[0091] 在另一个方面,本发明提供用于减缓或预防存在风险的个体的痴呆的方法,该方法包括向个体施用以下项:包含 $\omega$ -3脂肪酸、维生素B6和维生素B9的治疗有效量的组合物,

[0092] (a)  $\omega$ -3脂肪酸、和维生素D或其代谢物;

[0093] (b)  $\omega$ -3脂肪酸和能够降低血浆同型半胱氨酸水平的活性剂;

[0094] (c) 维生素D或其代谢物和能够降低血浆同型半胱氨酸水平的活性剂;或

[0095] (d)  $\omega$ -3脂肪酸、维生素D或其代谢物和能够降低血浆同型半胱氨酸水平的活性剂。

[0096] 在一个优选的实施方案中,该方法包括向个体施用 $\omega$ -3脂肪酸、维生素D或其代谢物和能够降低血浆同型半胱氨酸水平的活性剂。

[0097] 在一个实施方案中,痴呆选自阿尔茨海默病、血管性痴呆、路易体痴呆、额颞叶痴呆以及它们的组合。

[0098] 在另一个方面,本发明提供改善个体的认知能力的方法,该方法包括向个体施用以下项:

[0099] (a)  $\omega$ -3脂肪酸、和维生素D或其代谢物;

[0100] (b)  $\omega$ -3脂肪酸和能够降低血浆同型半胱氨酸水平的活性剂;

[0101] (c) 维生素D或其代谢物和能够降低血浆同型半胱氨酸水平的活性剂;或

[0102] (d)  $\omega$ -3脂肪酸、维生素D或其代谢物和能够降低血浆同型半胱氨酸水平的活性剂。

[0103] 在一个优选的实施方案中,该方法包括向个体施用 $\omega$ -3脂肪酸、维生素D或其代谢物和能够降低血浆同型半胱氨酸水平的活性剂。

[0104] 在一个实施方案中,个体未患痴呆。

[0105] 在另一个方面,本发明提供对个体的生活方式改变进行选择的方法,该方法包括以下步骤:

[0106] (a) 根据本发明的方法,确定个体是否有认知衰退倾向;以及

[0107] (b) 选择能够预防或减缓被识别为对其有需要的的个体的认知衰退的生活方式改变。

[0108] 在一个实施方案中,方法还包括向个体应用所选的生活方式改变。

[0109] 在一个实施方案中,生活方式改变包括向受试者施用以下项:

[0110] (a)  $\omega$ -3脂肪酸、和维生素D或其代谢物;

[0111] (b)  $\omega$ -3脂肪酸和能够降低血浆同型半胱氨酸水平的活性剂;

[0112] (c) 维生素D或其代谢物和能够降低血浆同型半胱氨酸水平的活性剂;或

[0113] (d)  $\omega$ -3脂肪酸、维生素D或其代谢物和能够降低血浆同型半胱氨酸水平的活性剂。

[0114] 在一个优选的实施方案中,该方法包括向个体施用 $\omega$ -3脂肪酸、维生素D或其代谢物和能够降低血浆同型半胱氨酸水平的活性剂。

[0115] 在另一个方面,本发明提供包含计算机可执行指令的计算机程序产品,该指令致

使可编程计算机根据本文所公开的方法来确定个体是否有认知衰退倾向。

[0116] 在另一个方面,本发明提供包含计算机可执行指令的计算机程序产品,该指令致使可编程计算机根据来自用户的 $\omega$ -3脂肪酸、维生素D或其代谢物和/或同型半胱氨酸的给定水平来确定个体是否有认知衰退倾向。

## 附图说明

[0117] 图1

[0118] 图1示出了认知衰退的速率如何因营养风险指数(NRI)评分而不同。根据是否满足以下标准为每个个体分配0或1的分数:血清25-羟基维生素D $\leq 15\text{ng/mL}$ 时为1,否则为0;血浆同型半胱氨酸 $\geq 18.1\mu\text{mol/L}$ 时为1,否则为0;RBC  $\omega 3 \leq 4.82$ 时为1,否则为0。因此,每个个体得到0至3的NRI,其中NRI=3被视为认知衰退的最高营养风险。认知变化是在3年内的四个时间点测量的。

[0119] “lowh highd higho”线示出NRI=0的个体的认知衰退的速率。“high highd higho”、“lowh lowd higho”和“lowh highd lowo”线示出NRI=1的个体的认知衰退的速率。“high lowd higho”、“lowh lowd lowo”和“high highd lowo”线示出NRI=2的个体的认知衰退的速率,并且“high lowd lowo”线示出有最高营养风险(NRI=3)的个体以及他们的认知衰退的速率。

[0120] 图2

[0121] 个体人口中的维生素D水平(ng/mL)的分布和概率图。

[0122] 图3

[0123] 个体人口中的同型半胱氨酸水平( $\mu\text{mol/L}$ )的分布和概率图。

## 具体实施方式

[0124] 本文中所用,术语“包含”和“由...构成”与“包括”或“含有”同义,并且是包括端值在内的或是开放式的,并且不排除另外的、未列举的成员、要素或步骤。术语“包含”和“由...构成”也包括术语“由.....组成”。

[0125] 本文中表示的所有百分数均按组合物的总重量的重量计,除非另有表示。

[0126] 如本文所用,术语“食物”、“食物产品”和“食物组合物”意指旨在供个体诸如人类摄入,并且向个体提供至少一种营养物质的产品或组合物。本公开(包括本文所述的实施方案)的组合物可包含、由或基本上由以下要素组成:本文所述的要素,以及本文所述的或者说可用于饮食中的任何另外的或任选的成分、组分或要素。

[0127] 如本文所用,“有效量”是在个体中预防缺陷、治疗疾病或医学病症的量,或更通常地,是减缓症状、管理其疾病进展或向个体提供营养、生理或医学有益效果的量。相对术语“改善”、“增加”、“增强”等是指本文所公开的组合物相对于缺乏一种或多种成分和/或具有不同量的一种或多种成分但以其他方式相同的组合物的影响。

[0128] 认知衰退和衰老

[0129] 如本文所用,术语“认知”和“认知能力”可以意指个体了解、感知或理解想法的智力过程。认知能力涵盖知晓的质量,知晓包括感知、识别、设想、感觉、思考、推理、记忆和想象的所有方面。认知能力的丧失是处理新信息或新情况或对其作出反应出现困难。认知衰

退或损害可具有许多表现方式,例如,短期记忆丧失、学习能力减弱、学习缩率减弱、注意力减弱、运动表现减弱和/或痴呆等等。包括随年龄增长而降低的能力的特定认知领域的非限制性示例为:(i)注意力:处理速度、以及选择和划分的注意力;(ii)学习和记忆:自由回忆、源记忆、前瞻记忆和情景记忆延缓;(iii)语言:言语流利、探视定名和词查找;(iv)视觉空间能力:视觉构造技能;以及(v)执行功能:规划、决策、推理和思维灵活性。

[0130] 如本文所用,术语“认知衰老”和“与年龄相关的认知衰退”意指随年龄发展例如老年人年龄不断增长的认知能力衰退,并且可包括与年龄相关的脑形态和/或脑血管功能变化。认知衰老不包括由除衰老之外的潜在病症诸如头部损伤或抑郁引起认知能力受损。

[0131] 本领域技术人员可以使用本领域已知的任何合适的神经学和认知测试,包括被设计用于评估信息处理速度、执行功能和记忆的认知测试来容易地评估认知能力的水平和改善。合适的示例性测试包括简易精神状态检查量表(MMSE)、剑桥神经心理测试自动成套测试(CANTAB)、阿尔茨海默病评估量表-认知测试(ADAScog)、威斯康星卡片分类测验、词汇和图形的流畅性测验和连线测验、脑电图(EEG)、脑磁图描记法(MEG)、正电子发射断层显像(PET)、单光子发射计算机断层扫描(SPECT)、磁共振成像(MRI)、功能性磁共振成像(fMRI)、计算机断层扫描和长期增效作用。

[0132] EEG(脑的电活动的量度)是通过将电极放置在各种界标处的头皮上并记录极大放大的脑信号来完成的。MEG与EEG类似,它测量与电场有关的磁场。MEG用于测量自发性脑活动,包括神经系统中的同步波。

[0133] PET提供了氧利用率和葡萄糖代谢的量度。在该技术中,施用放射性正电子发射示踪剂,并且脑摄取示踪剂与脑活动相关。这些示踪剂发射的伽玛射线由头部周围的传感器检测,从而得到脑激活的3D绘制图。一旦该示踪剂被脑摄取,则检测到的放射性就作为局部脑血流量的函数发生。在激活期间,脑血流量和神经元葡萄糖代谢的增加可以在数秒内被检测到。

[0134] 合适的分析也可以基于神经精神测试、临床检查和个体对认知能力功能丧失(例如主观记忆丧失)的抱怨。

[0135] 认知衰退可例如理解为在合适的测试中,与基线表现具有显著的统计学差异。

[0136] “非痴呆”个体(在本文中也称为“未患痴呆的个体”)的临床痴呆评分至多为0.5。CDR测量痴呆的严重性,并且CDR是根据半结构化个体和知情者访谈进行评分的国际痴呆评定法,评分范围为0至3(0、0.5、1、2和3)(Hughes等人,1982年,《英国精神病学》杂志,第140期,第566-572页((1982) Br.J.Psychiatry 140:566-72))。临床医生基于六个领域来合成分认知能力和功能能力,该六个领域包括记忆、取向、判断和解决问题、社区事务、家庭和爱好以及个人护理。该量表具有良好的评定者间协议。

[0137] 非痴呆个体没有阿尔茨海默病、血管性痴呆、路易体痴呆或额颞叶痴呆中的任何一种。在一些实施方案中,非痴呆个体是健康的衰老人。在其他实施方案中,非痴呆个体具有与年龄相关的认知损害相关联的表型。例如,当与不具有表型的对照个体相比时,非痴呆个体可能具有包括以下一项或多项的表型:回忆能力降低、短期记忆丧失、学习速率降低、学习能力降低、问题解决技能降低、注意力跨度降低、运动表现降低或意识模糊增加。

[0138] 存在认知衰老风险的非痴呆个体的一个非限制性示例为以下人类:具有自发性记忆抱怨,但简易精神状态检查量表(MMSE)评分为至少24,并且至少为4的日常生活活动能力

(ADL) 评分显示具有基本日常活动独立性。用于本目的的MMSE评分可为例如24至30,更优选为26至30。

[0139] MMSE是非常简短、易于施用/执行的精神状态检查,已证明是检测和追踪与神经退化性疾病相关联的认知损害进展的高度可靠和有效的工具。MMSE是一个完全结构化的量表,MMSE由被分组成七个类别的30分组成:地点取向(州、县、镇、医院和楼层)、时间取向(年、季度、月、日和日期)、暂记(registration)(立即重复三个单词)、注意力和专注度(从100开始连续减去7,或者另选地反向拼写单词)、回忆(回忆之前重复的三个词)、语言(说出两个物品、重复短语、大声朗读并理解句子、写下句子、以及遵照三步骤命令)以及视觉构造(复制设计)(Folstein等人,1975年,《精神病学研究》杂志,第12期,第189-198页((1975) J.Psychiat.Res.12:189-198))。

[0140] 根据正确完成的项目的数量对MMSE进行评分,较低的评分表示较差的表现和更严重的认知损害。总评分范围为0至30。

[0141] ADL是基于信息的日常生活活动量表,ADL广泛地用于测量评估患有和未患AD的人的日常生活活动。该工具评估各种表现上的能力。ADL显示与未受损对照体相比轻微受损个体间的变化敏感性,并且可捕获功能上的变化(Galasko等人,1997年,《阿尔茨海默病相关障碍》,第11期增刊第2版:S33-9((1997) Alzheimer Dis.Assoc.Disord.11Suppl.2:S33-9))。

[0142] 如前文所述,大量证据表明,保持脑健康和预防认知随年龄增长而衰退可预防或延缓痴呆的发展。因此,本文所公开的预防或减缓认知衰退或衰老的方法也可最终预防痴呆,诸如阿尔茨海默病。因此,本公开的另一个方面是预防存在风险个体的痴呆的方法。该方法包括向个体施用本文所公开的治疗有效量的组合物。所预防的痴呆可选自阿尔茨海默病、血管性痴呆、路易体痴呆、额颞叶痴呆以及它们的组合。

#### [0143] 阿尔茨海默病

[0144] 阿尔茨海默病由脑区域萎缩所致。虽然人们不知道是什么引发萎缩,但研究发现在阿尔茨海默病患者的脑中存在淀粉样蛋白斑块、神经元纤维缠结和乙酰胆碱失衡。脑中可能损伤健康神经元的血管损伤在阿尔茨海默病患者中也是常见的。

[0145] 阿尔茨海默病是影响多个脑功能的渐进式病症。该疾病的早期症状通常包括轻度的记忆问题,例如,忘记最近的事件或地名和物体名称。随着疾病的发展,记忆问题变得越来越严重并且可引起另外的症状,诸如混淆、取向障碍、难以做出决定、言语和语言障碍以及人格改变。

#### [0146] 血管性痴呆

[0147] 血管性痴呆由流向脑的减少的血液所致,减少的血流将损伤脑细胞。减少的血流可由多种原因引起,包括脑血管变窄(皮层下血管性痴呆)、中风(单发梗塞性痴呆)以及多次小中风(多发梗塞性痴呆)。另外,减少的血流还可能由阿尔茨海默病所致,阿尔茨海默病是被称为混合性痴呆的组合。

[0148] 血管性痴呆的早期症状包括思维缓慢、规划困难、语言困难、注意力和专注度问题以及行为改变。在数月或数年的稳定期之后,症状通常逐步恶化。

#### [0149] 帕金森病

[0150] 帕金森病是黑质中的神经细胞渐进损伤的病症。脑该区域中的神经细胞产生多巴

胺，多巴胺充当脑部分与控制身体运动的神经系统之间的信使。这些神经细胞损伤导致脑中所产生的多巴胺量降低，产生的影响是降低脑中控制运动的部分的功能。

[0151] 帕金森病的症状包括震颤、运动迟缓以及肌肉僵硬和不灵活。帕金森病患者也可能出现另外的症状，包括抑郁、便秘、失眠、失嗅和记忆问题。

[0152] 确定生物标志物水平

[0153] 样本中各种生物标志物种类的水平可通过本领域已知的任何合适的方法测量或确定。例如，可使用质谱 (MS)、基于抗体的检测方法（例如酶联免疫吸附测定 (ELISA)）、基于非抗体蛋白质支架（例如纤粘蛋白质支架）的方法、放射性免疫测定法 (RIA) 或基于核酸配体的方法。也可使用其它光谱法、色谱法、标记技术或定量化学方法。

[0154] 确定个体生物标志物水平的合适的示例性方法在下文中有述。

[0155] 25-羟基维生素D

[0156] 可利用电化学发光结合测定法体外测定总25-羟基维生素D（例如，使用可商购获得的Cobas 8000 (Roche)）。例如，可采用维生素D结合蛋白 (VDBP) 捕获25-羟基维生素D3和D2，目的在于定量总维生素D。简而言之，可将样本与预处理的试剂一起温育，使样本中的天然VDBP变性，以释放所结合的维生素D。可随后将样本与具有重组钌标记的VDBP进一步温育，以形成25-羟基维生素D (25-OH-D) 和钌化VDBP的复合物。添加生物素酰化25-OH-D生成了由钌标记的VDBP和生物素酰化25-OH-D组成的复合物。通过生物素与涂覆有链霉亲和素的可在电极表面上捕获的微粒的相互作用，可将整个复合物与固相结合。在移除未结合物质之后，增大电极电压，引发可通过光电倍增器测量的化学发光型发射。可经由仪器专用校准曲线来确定结果。

[0157] 同型半胱氨酸

[0158] 可使用酶循环测定法来测量总血浆同型半胱氨酸。简而言之，可首先还原氧化的同型半胱氨酸，并且然后与S-腺苷甲硫氨酸反应，以在存在同型半胱氨酸S-甲基转移酶的情况下形成甲硫氨酸和S-腺苷同型半胱氨酸 (SAH)。可随后通过耦合酶反应来评估SAH，其中通过SAH水解酶将SAH水解为腺苷和同型半胱氨酸，并将同型半胱氨酸循环回同型半胱氨酸转化反应中，用于放大检测信号。可将形成的腺苷水解成肌苷和氨，并且然后使用谷氨酸脱氢酶来催化氨与2-氧戊二酸盐和NADH的反应以形成NAD<sup>+</sup>。样本中的同型半胱氨酸浓度与转化为NAD<sup>+</sup>的NADH的量（可在340nm吸光度下进行光谱测量）成正比。

[0159] ω3脂肪酸

[0160] 可使用气相色谱法结合火焰电离检测器来定量例如以总脂肪酸的重量百分比来表示的ω3脂肪酸，诸如EPA和DHA。简而言之，红细胞可通过离心法与血浆分离，并且在脂质提取之前用Folch法洗涤，Folch法包括在酸化之后己烷和异丙醇的混合物。可添加十七烷酸作为内标物。可随后对总脂质提取物进行皂化和甲基化，并且脂肪酸甲酯 (FAME) 可使用戊烷进行提取并通过气相色谱法 (GC) 进行分析。示例性方案可使用气相色谱仪，该气相色谱仪具有分体式注射器、结合的石英毛细管柱 (BPX 70, 60m × 0.25mm; 0.25μm膜厚) 以及火焰电离检测器；可使用氦作为载气；并且柱温程序可始于150°C，按1.3°C/分钟增加至220°C，并且在220°C下保持10分钟。FAME的识别可基于针对由脂肪酸标准物所制备的FAME而获得的保留时间。

[0161] 样本

[0162] 本发明包括确定从个体获得的一个或多个样本中的两种或多种生物标志物的水平的步骤。

[0163] 在一个实施方案中,一个或多个样本独立地选自血液样本、血浆样本和血清样本。

[0164] 从个体采集样本的技术是本领域熟知的。

[0165] 与参比值的比较

[0166] 本发明的方法可包括将测试样本中的 $\omega$ -3脂肪酸、维生素D或其代谢物和/或同型半胱氨酸的水平与一个或多个参比值或对照值进行比较的步骤。术语“参比值”与“对照值”同义,并且广义地包括本领域的技术人员将用于促进准确解读技术数据的数据。

[0167] 通常地,使用该方法确定每个单独生物标志物的参比值。参比值可以是该生物标志物的正常水平,例如,正常个体的相同样本类型(例如,血液、血清或血浆)中生物标志物的水平。参比值可能例如基于个体的对照人口中生物标志物的均值或中值水平,例如5、10、100、1000或更多个正常个体(他们可能与测试个体的年龄和/或性别匹配或不匹配)。本领域已知如何在随着例如性别、种族、遗传基因、健康状态或年龄而变化时分配正确的参比值。

[0168] 可使用确定测试样本中生物标志物水平的对应方法,例如使用从正常个体中所取的一个或多个样本,确定参比值。例如,在一些实施方案中,可在与测试样本平行的测定法中确定对照样本中的生物标志物水平。另选地,在一些实施方案中,特定样本类型(例如,血液、血清或血浆)中单个生物标志物的水平的参比值已经可以例如从已发布的研究中获得。因此,在一些实施方案中,参比值在此之前可能已经确定,或者可能计算出或推算出,而不必对每个获得的测试样本的对照样本进行相应测定。

[0169] 可将特定样本中如本文所述的生物标志物的对照值或参比值存储在数据库中,并用于解读对个体所进行的方法的结果。

[0170] 可将测试样本中生物标志物的水平例如,来自个体样本中的 $\omega$ -3脂肪酸、维生素D或其代谢物和/或同型半胱氨酸的水平与对照个体的一个或多个群组(人口/组)中相同目标的相应水平进行比较。

[0171] 比较来自个体样本中的 $\omega$ -3脂肪酸、维生素D或其代谢物和/或同型半胱氨酸的水平可包括将该水平与来自自己分成四分位数的对照个体的人口的参比值进行比较。

[0172] 在一个实施方案中,确定 $\omega$ -3脂肪酸的水平,并且来自个体的样本中的 $\omega$ -3脂肪酸的水平指示认知衰退倾向,该个体处于来自对照人口参比值的最低四分位数内。

[0173] 在一个实施方案中,确定维生素D或其代谢物的水平,并且来自个体的样本中的维生素D或其代谢物的水平指示认知衰退倾向,该个体处于来自对照人口参比值的最低四分位数内。

[0174] 在一个实施方案中,确定同型半胱氨酸的水平,并且来自个体的样本中的同型半胱氨酸的水平指示认知衰退倾向,该个体处于来自对照人口参比值的最高四分位数内。

[0175] 在一个实施方案中,本发明的方法包括计算指数(本文称为营养风险指数,NRI),该方法包括以下步骤:

[0176] (a) 确定 $\omega$ -3脂肪酸的水平,并且将分数n分配给来自个体的样本中的 $\omega$ -3脂肪酸的水平,该个体处于来自对照人口参比值的最低四分位数内,并且将分数0分配给来自个体的样本中的 $\omega$ -3脂肪酸的水平,该个体处于最低四分位数外;

[0177] (b) 确定维生素D或其代谢物的水平,并且将分数n分配给来自个体的样本中的维生素D或其代谢物的水平,该个体处于来自对照人口参比值的最低四分位数内,并且将分数0分配给来自个体的样本中的维生素D或其代谢物的水平,该个体处于最低四分位数外;和/或

[0178] (c) 确定同型半胱氨酸的水平,并且将分数n分配给来自个体的样本中的同型半胱氨酸的水平,该个体处于来自对照人口参比值的最高四分位数内,并且将分数0分配给来自个体的样本中的同型半胱氨酸的水平,该个体处于最高四分位数外,

[0179] 其中n为正整数(例如,+1),其中该指数计算为通过步骤(a)、(b)和/或(c)获得的分数的总和,并且其中更大的指数分数指示更大的认知衰退倾向。

[0180] 在一个实施方案中,红细胞EPA和DHA的参比值为总脂肪酸的约4.82重量%。可将本文公开的指数中的分数n分配给低于此参比值的水平。在一个实施方案中,血浆25-羟基维生素D的参比值为约15ng/mL。可将本文公开的指数中的分数n分配给低于此参比值的水平。在一个实施方案中,血浆同型半胱氨酸的参比值为约18.1 $\mu\text{mol}/\text{L}$ 。可将本文公开的指数中的分数n分配给高于此参比值的水平。

[0181] 如本文所述的生物标志物的水平的参比值优选使用用于表征测试样本中生物标志物的水平的相同单位来测量。因此,如果如本文所述的生物标志物的水平是绝对值,诸如 $\mu\text{mol}/\text{L}$ ( $\mu\text{M}$ ),则参比值也可基于普通人口中或个体的选定对照人口中个体的 $\mu\text{mol}/\text{L}$ ( $\mu\text{M}$ )单位。

[0182] 个体的生物标志物水平与对应参比值之间的差异程度也可用于确定哪些个体将最受益于某些干预。与参比值相比,测试样本中的生物标志物的水平可增加或降低例如至少1%、至少5%、至少10%、至少20%、至少30%、至少50%或至少100%。

#### [0183] 治疗方法

[0184]  $\omega$ -3脂肪酸、维生素D或其代谢物和/或能够降低血浆同型半胱氨酸水平的活性剂可同时、相继或分别施用。

[0185] 如本文所用,术语“组合”或短语“……的组合”、“与……组合使用”或“组合制备”是指同时、相继或分别组合施用 $\omega$ -3脂肪酸、维生素D或其代谢物和/或能够降低血浆同型半胱氨酸水平的活性剂中的两项或多项。

[0186] 如本文所用,术语“同时”意指同时地即,在同一时间施用该活性剂。如本文所用,术语“相继”意指一个接一个地施用该活性剂。如本文所用,术语“分别”意指彼此独立地但在一定时间间隔内来施用该活性剂,时间间隔使该活性剂可产生组合的、优选协同的影响。因此,“分别”施用可能允许例如在1分钟、5分钟或10分钟内一种活性剂之后施用另一种活性剂。

[0187] 应认识到,本文对治疗的所有提及包括治愈性、缓和性和预防性治疗。优选哺乳动物、特别是人类的治疗。人类治疗和兽医治疗均在本发明的范围内。

#### [0188] 剂量

[0189] 无需进行过多实验,技术人员可容易地确定向个体施用的本发明的活性剂中的一个活性剂的适当剂量。通常地,医师将确定对个体患者最合适的实际剂量,并且该剂量取决于多种因素,该多种因素包括所采用的具体活性剂的活性、活性剂的代谢稳定性和作用时长、年龄、体重、一般健康状况、性别、饮食、施用模式和时间、排泄率、药物组合、特定病症的

严重程度和个体正接受的疗法。当然也可存在有益的较高或较低剂量范围的个别情况，并且该个别情况在本发明的范围内。

[0190] 个体

[0191] “个体(subject或individual)”是指人类或非人类动物。

[0192] 非人类动物的示例包括鸟类动物、牛类动物、犬科动物、马类动物、猫科动物、山羊类动物、狼类动物、鼠科动物、绵羊类动物或猪类动物。“伴侣动物”是任何驯养的动物，并且包括但不限于猫、狗、兔、豚鼠、雪貂、仓鼠、小鼠、沙鼠、马、牛、山羊、绵羊、驴、猪等。

[0193] 优选地，个体是人类。

[0194] 在一个实施方案中，个体是衰老人类个体。术语“衰老人类个体”可意指50岁或以上的人类个体。在一个实施方案中，个体是至少50岁、55岁、60岁、65岁、70岁、75岁、80岁、85岁、90岁或95岁的人类个体。在一个优选的实施方案中，个体是50岁或以上的人类个体。在一个特别优选的实施方案中，个体是70岁或以上的人类个体。

[0195] 在人类环境下，术语“老年”意指自出生起的年龄为至少60岁，优选63岁以上，更优选65岁以上，并且最优选70岁以上。在人类环境下，术语“中老年人”意指自出生起的年龄为至少45岁，优选50岁以上，更优选55岁以上，并且包括老年个体。

[0196] 对于其他动物，“中老年人”已超过其特定物种和/或物种内品种的平均寿命的50%。如果动物超过平均预期寿命的66%，优选如果动物超过平均预期寿命的75%，更优选如果动物超过平均预期寿命的80%，则将其视为“老年”。老年猫或狗自出生起的年龄为至少约7岁。

[0197] 膳食干预

[0198] 如本文所用，术语“膳食干预”是指向个体应用并且引起个体饮食变化的外部因素。

[0199] 在一个实施方案中，膳食干预是补充有 $\omega$ 3脂肪酸的饮食。在一个实施方案中，膳食干预是补充有维生素D的饮食。在一个实施方案中，膳食干预是补充有能够降低血浆同型半胱氨酸水平的活性剂的饮食。

[0200] 在一个实施方案中，膳食干预包括增加个体摄入的 $\omega$ -3脂肪酸，优选通过施用 $\omega$ 3脂肪酸补充剂。在一个实施方案中，膳食干预包括增加个体摄入的维生素D，优选通过施用维生素D补充剂。在一个实施方案中，膳食干预包括增加个体的能够降低血浆同型半胱氨酸水平的活性剂的摄入，优选通过施用能够降低血浆同型半胱氨酸水平的活性剂的补充剂。

[0201] 饮食可以是适应个体的起始体重的饮食。

[0202] 膳食干预可包括施用至少一种饮食产品。饮食产品可为餐饮替代产品或补充剂产品。饮食产品可包括食物产品、饮料、宠物食物产品、食品补充剂、营养品、食品添加剂或营养配方产品。

[0203] 组合物

[0204] 本发明的活性剂和组合物可增加易患或正患有诸如衰老过程所带来的认知功能衰退的个体(例如，非痴呆个体)的认知功能。本发明的活性剂和组合物可预防、减缓或延缓易患或正患有诸如衰老过程所带来的认知功能衰退的个体(例如，非痴呆个体)的认知功能衰退。在一些实施方案中，本发明的方法包括在施用之前将个体识别为患有认知衰老或存在认知衰老风险。例如，该方法可包括在施用之前将个体识别为需要改善的认知能力。本发

明的活性剂和组合物可减轻脑萎缩和神经炎症，并且增加淀粉样蛋白- $\beta$ 吞噬作用和突触的数量。

[0205]  $\omega$ -3脂肪酸、维生素D或其代谢物和/或能够降低血浆同型半胱氨酸水平的活性剂(即，本发明的活性剂)可同时、相继或分别施用。

[0206]  $\omega$ -3脂肪酸、维生素D或其代谢物和/或能够降低血浆同型半胱氨酸水平的活性剂可包含在一种或多种组合物内。

[0207] 在一个实施方案中， $\omega$ 3脂肪酸、维生素D或其代谢物和/或能够降低血浆同型半胱氨酸水平的活性剂为食物产品形式，优选还包含选自以下的成分：蛋白质、碳水化合物、脂肪以及它们的组合。

[0208] 在一个实施方案中， $\omega$ 3脂肪酸、维生素D或其代谢物和/或能够降低血浆同型半胱氨酸水平的活性剂为药物组合物形式，该药物组合物还包含药学上可接受的载体、稀释剂或赋形剂。

[0209] 在各种实施方案中， $\omega$ 3脂肪酸为食物产品或组合物的1重量%至50重量%，优选食物产品或组合物的1重量%至30重量%，并且最优选食物产品或组合物的1重量%至15重量%。优选地， $\omega$ 3脂肪酸包含二十碳五烯酸(EPA)或二十二碳六烯酸(DHA)中的至少一者，并且更优选包含EPA和DHA两者。食物产品或组合物的日剂量优选提供每天0.5g至1.0g的DHA和/或每天0.5g至1.0g的EPA，更优选每天0.7g至1.0g的DHA和/或每天0.6mg至0.75g的EPA，并且最优选每天约770mg的DHA和/或每天约700mg的EPA。

[0210] 在一个实施方案中， $\omega$ -3脂肪酸以每天0.5g至2.0g、诸如每天0.5g至1.5g的剂量施用。在一个实施方案中，向个体施用每天0.5g至1.0g的DHA和/或每天0.5g至1.0g的EPA，更优选每天施用0.7g至1.0g的DHA和/或每天0.6mg至0.75g的EPA，并且最优选每天施用约770mg的DHA和/或每天约700mg的EPA。

[0211]  $\omega$ 3脂肪酸可包含一种或多种 $\omega$ 3脂肪酸来源的共混物，并且一种或多种 $\omega$ 3脂肪酸来源中的每一种 $\omega$ 3脂肪酸来源可以是天然的(例如，鱼油)或合成的(即通过人类操纵的过程形成，而非天然起源的那些)。如本文所用，术语“鱼油”意指从海洋个体获得的富含 $\omega$ 3脂肪酸的粗制或纯化的脂肪或油性提取物，海洋个体优选为冷水鱼，诸如但不限于鲑鱼、金枪鱼、鲭鱼、鲱鱼、海鲈鱼、条纹鲈鱼、比目鱼、鲶鱼和沙丁鱼以及鲨鱼、虾和蛤或它们的任何组合。

[0212] 在一个实施方案中，以日剂量施用食物产品或组合物，该日剂量提供60至2000IU/天的维生素D或其代谢物。

[0213] 在一个实施方案中，以日剂量施用食物产品或组合物，该日剂量提供0.001mg/天至0.1mg/天的维生素D或其代谢物，例如0.01mg/天至0.05mg/天的维生素D或其代谢物，优选约0.015mg/天的维生素D或其代谢物。

[0214] 在一个实施方案中，维生素D或其代谢物以60IU/天至2000IU/天的剂量施用。

[0215] 在一个实施方案中，维生素D或其代谢物以0.001mg/天至0.1mg/天、例如0.01mg/天至0.05mg/天、优选约0.015mg/天的剂量施用。

[0216] 在一个实施方案中，能够降低血浆同型半胱氨酸水平的活性剂为维生素B6和/或维生素B9。

[0217] 在一个实施方案中，以日剂量将食物产品或组合物施用于该个体，该日剂量提供

每天至少0.01倍至100倍每日建议需求量(RDA)的维生素B6,例如10倍至80倍RDA的维生素B6和/或每天0.01倍至5.0倍RDA的维生素B9,例如1.0倍至2.5倍RDA的维生素B9。维生素B6的RDA为1.3mg/天,并且因此可以日剂量施用食物产品或组合物,该日剂量提供0.13mg/天至130mg/天的维生素B6,例如13mg/天至100mg/天的维生素B6。维生素B9的RDA为0.4mg/天,并且因此可以日剂量施用食物产品或组合物,该日剂量提供0.004mg/天至2.0mg/天的维生素B9,例如0.4mg/天至1.0mg/天的维生素B9。然而,本公开不限于特定日剂量的维生素B6或特定日剂量的维生素B9。

[0218] 在一个实施方案中,向个体施用每天至少0.01倍至100倍RDA的维生素B6,例如10倍至80倍RDA的维生素B6和/或每天0.01倍至5.0倍RDA的维生素B9,例如1.0倍至2.5倍RDA的维生素B9。在一个实施方案中,向个体施用0.13mg/天至130mg/天的维生素B6,例如13mg/天至100mg/天的维生素B6。在一个实施方案中,向个体施用0.004mg/天至2.0mg/天的维生素B9,例如0.4mg/天至1.0mg/天的维生素B9。

[0219] 在一个实施方案中,食物产品或组合物可任选地包含一氧化氮释放化合物。一氧化氮释放化合物是指引起或可能导致在个体内释放一氧化氮的任何化合物。一氧化氮释放化合物优选包含精氨酸、瓜氨酸、鸟氨酸或含有这些氨基酸中的至少一者的肽或蛋白质中的一者或多者,更优选包含精氨酸和/或瓜氨酸,并且甚至更优选包含瓜氨酸,它们对心血管系统提供有益影响,尤其是在改善血流、内皮功能和血压方面。在各种实施方案中,一氧化氮释放化合物为食物产品或组合物的1重量%至20重量%,优选食物产品或组合物的1重量%至15重量%,并且更优选为食物产品或组合物的1重量%至10重量%。在一个实施方案中,食物产品或组合物的日剂量提供每天0.5g至10.0g的一氧化氮释放化合物(例如,瓜氨酸),优选每天1.0g至5.0g、更优选每天2.0g至4.0g、并且最优选每天约3.0g。

[0220] 食物产品或组合物还可包含除维生素B6和/或维生素B9之外的至少一种B族维生素,例如维生素B1(硫胺素)、维生素B2(核黄素)、维生素B3(烟酸)、维生素B5(泛酸)、维生素B7(生物素)和维生素B12(钴胺素)或具有B族维生素活性的它们的盐、缀合物或衍生物中的一者或多者。食物产品或组合物可包含0.1倍至40倍RDA的一种或多种这些另外的B族维生素,优选1倍至20倍RDA,并且更优选1倍至10倍RDA。在一个实施方案中,食物产品或组合物还包含以下所有项:维生素B1(硫胺素)、维生素B2(核黄素)、维生素B3(烟酸)、维生素B5(泛酸)、维生素B7(生物素)和维生素B12(钴胺素)。

[0221] 在一个实施方案中,食物产品或组合物包含 $\omega$ -3脂肪酸、每天至少0.01倍至100倍每日建议需求量(RDA)的维生素B6和/或每天0.01倍至5.0倍RDA的维生素B9的组合,该食物产品或组合物也优选提供每天0.1倍至40倍每日建议需求量(RDA)的维生素B12,例如,每天1倍至10倍每日建议需求量(RDA)的维生素B12。

[0222] 因此,维生素B12可作为另一种B族维生素以每天约10倍、20倍、30倍或40倍RDA的维生素B12的日剂量施用。优选地,日剂量提供每天10倍至40倍、更优选10倍至30倍或甚至更优选10倍至25倍RDA的维生素B12,最优选每天约12倍至21倍RDA的维生素B12。对于14岁及年龄更大的人类,维生素B12的美国RDA是每日2.4微克,因此可向此类个体施用日剂量的食物产品或组合物,该日剂量也提供每天约0.002mg至约0.4mg的维生素B12,优选每天0.02mg至0.07mg的维生素B12,更优选每天0.03mg至0.05mg的维生素B12。

[0223] 在一个优选的实施方案中,还向个体施用维生素B12。在一个实施方案中,维生素

B12以每天维生素B12的RDA的0.1倍至40倍、优选每天维生素B12的RDA的10倍至40倍、10倍至30倍或10倍至25倍、更优选每天维生素B12的RDA的12倍至21倍的剂量施用。

[0224] 在一个实施方案中,维生素B12以每天约0.002mg至约0.4mg、优选每天0.02mg至0.07mg、更优选每天0.03mg至0.05mg的剂量施用。

[0225] 在一个实施方案中,ω-3脂肪酸、维生素D或其代谢物和/或能够降低血浆同型半胱氨酸水平的活性剂与维生素B12同时、相继或分别施用于个体,其中维生素B12以每天维生素B12的RDA的0.1倍至40倍、优选每天维生素B12的RDA的10倍至40倍、10倍至30倍或10倍至25倍、更优选每天维生素B12的RDA的12倍至21倍的剂量施用。

[0226] 在一些实施方案中,食物产品或组合物还可包含一种或多种抗氧化剂,以防止氧化损伤和炎症引发的损伤。合适的抗氧化剂的非限制性示例包括维生素C、维生素D、维生素E、硒以及它们的组合。例如,如果存在,食物产品或组合物可包含0.0001重量%至25重量%的抗氧化剂,优选0.0001重量%至约15重量%,更优选0.001重量%至5重量%,并且最优选0.001重量%至2重量%。

[0227] 在一个实施方案中,组合物为针对人类和/或宠物诸如伴侣个体的食物组合物(食物产品)。食物组合物可包含:一种或多种另外的物质,诸如矿物质;另一种维生素;盐;或功能性添加剂,诸如调味剂;着色剂;乳化剂;或抗微生物化合物;或其它防腐剂。合适的矿物质的非限制性示例包括钙、磷、钾、钠、铁、氯、硼、铜、锌、镁、锰和碘。合适的另外的维生素的非限制性示例包括脂溶维生素如维生素A、维生素D、维生素E和维生素K。

[0228] 在一个实施方案中,组合物为包含一种或多种药学上可接受的载体、稀释剂或赋形剂的药物组合物。通常地,通过将ω-3脂肪酸、维生素D或其代谢物和/或能够降低血浆同型半胱氨酸水平的活性剂与赋形剂、缓冲剂、粘合剂、增塑剂、着色剂、稀释剂、压缩剂、润滑剂、风味剂或润湿剂中的一者或者进行混合来制备药物组合物。

[0229] 可以看到ω-3脂肪酸、维生素D或其代谢物和/或能够降低血浆同型半胱氨酸水平的活性剂在不到一个月内产生急剧影响。除此之外地或另选地,ω-3脂肪酸、维生素D或其代谢物和/或能够降低血浆同型半胱氨酸水平的活性剂可具有长期效果影响,并且因此各种实施方案包括施用于个体(例如,口服)持续至少一个月的时间段;优选至少两个月、更优选至少三个月、四个月、五个月或六个月;最优选至少一年。在该时间段期间,可以每周至少一天将ω-3脂肪酸、维生素D或其代谢物和/或能够降低血浆同型半胱氨酸水平的活性剂施用于个体;优选每周至少两天,更优选每周至少三天、四天、五天或六天;最优选每周七天。可以每天单剂量或每天多个独立剂量施用ω-3脂肪酸、维生素D或其代谢物和/或能够降低血浆同型半胱氨酸水平的活性剂。

[0230] 药盒

[0231] 在另一个方面,本发明提供包含本发明的ω-3脂肪酸、维生素D或其代谢物和/或能够降低血浆同型半胱氨酸水平的活性剂的药盒。

[0232] ω-3脂肪酸、维生素D或其代谢物和/或能够降低血浆同型半胱氨酸水平的活性剂可以合适的容器来提供。

[0233] 药盒还可包括使用说明。

[0234] 技术人员将理解,在不脱离所公开的本发明范围的前提下,他们可以组合本文所公开的本发明的所有特征。

[0235] 现将通过非限制性实施例来描述本发明的优选特征和实施方案。

[0236] 除非另外指明,本发明的实践将采用常规化学、生物化学、分子生物学、微生物学和免疫学技术,这些技术均在本领域普通技术人员的能力范围内。

[0237] 实施例

[0238] 实施例1

[0239] 多领域阿尔茨海默病预防试验(MAPT)被设计用于评估在降低70岁或年龄更大的成人的认知衰退的速率方面,以下项与安慰剂对比而言的功效: $\omega$ 3补充剂(每天DHA 800mg、EPA 200)、多领域干预(营养咨询、身体锻炼、认知刺激)或补充剂+多领域的组合。MAPT结果的事后分析表明, $\omega$ 3补充预防基线处具有较低 $\omega$ 3状态的个体的认知衰退。VITACOG试验表明,同型半胱氨酸降低B族维生素可减轻患有MCI和高同型半胱氨酸血症的年龄为70岁及年龄更大的个体的总体脑萎缩。VITACOG的两份相继事后报告表明,在处于基线 $\omega$ 3状态的最高三分位数的个体中,B族维生素对总体脑萎缩和认知衰退的影响最显著。基线营养状态和营养物质相互作用是未来营养干预中要考虑的合理设计要素。这些全新的见解导致下一代临床试验针对存在“营养风险”(clinicaltrials.gov:NCT01953705)的个体,并且利用交互式代谢的营养物质组合可证明更能预防认知衰退。实施这些临床试验设计要素(例如,富集和/或过度取样)首先需要这样做的强大科学依据,因为它增加了任何临床试验的成本和操作负担。使用MAPT试验数据,我们对以下假设进行了测试:血浆同型半胱氨酸、血清维生素D和红细胞 $\omega$ 3脂肪酸所反映的基线营养状态各自是认知衰退的独立的风险因素,但当使用“营养风险指数”进行组合时,它们则通过36个月内认知衰退的速率的加速而显示风险加剧。

[0240] 结果

[0241] 获得712/780个个体的完整营养生物标志物和教育信息。平均年龄为75岁(4.5),67%为女性,27.5%完整的大学或高等教育程度,并且20.7%携带APOE4等位基因,这些条件全部类似于父母MAPT群组(表1)。平均红细胞EPA+DHA、血浆同型半胱氨酸和血清25-OH-维生素D(图2和图3)分别为5.8(1.5)重量%、15.8(5.4) $\mu$ mol/L和23.7ng/ml(12.2)(表1)。在以下中的每种情况下,NRI增加1分:红细胞EPA+DHA $\leq$ 4.82,血浆半胱氨酸 $\geq$ 18.1umol/L,以及血浆25-羟基维生素D $\leq$ 15ng/mL。与无营养风险(NRI=0)的那些相比,NRI每增加一分即与认知衰退的另外的加速增量相关联(例如,NRI=1, $\beta$ =-0.04,p=0.02;NRI=2, $\beta$ =-0.06,p=0.009;NRI=3, $\beta$ =-0.18,p=0.006)(表3)。对APOE4、APOE4\*时间交互、试验组及其与时间的相互作用的进一步控制不会改变这些结果。

[0242] 结论

[0243] 由红细胞 $\omega$ -3脂肪酸(EPA+DHA)、血浆同型半胱氨酸和血清25-羟基维生素D组成的基于血液的“营养风险指数”识别中老年人中具有明显认知衰退迹象的人,这与年龄、性别、教育、APOE4基因型和干预组无关。NRI指数每一分增加更加与3年来认知衰退加速相关联(图1)。这些数据表明,降低由少量维生素D3和红细胞 $\omega$ 3脂肪酸和高同型半胱氨酸引起的营养风险可预防与年龄相关的认知衰退;该概念可通过部署营养风险指数以及针对这些方面的膳食补充剂来促进。

[0244] 表1:MAPT的基线人口统计、营养特征和遗传特征<sup>1</sup>

[0245]

	总计 (n=712)	RBC ω3 (n=712)	血清维生素 D (n=712)		血浆同型半胱氨酸 (n=712)	
			高 (n=524)	低 (n=188)	高 (n=517)	低 (n=195)
					低 (n=536)	高 (n=176)
年龄, 岁, 平均值 (SD) <sup>3</sup>	75.6 (4.5)	75.5 (4.5)	76.1 (4.5)	75.2 (4.4)	76.8 (4.8)	75.3 (4.4)
男性, N(%)	232 (32.6)	168 (32.1)	64 (34.0)	162 (31.3)	70 (35.9)	155 (28.9)
教育						
无文凭/小学	168 (23.6)	104 (19.9)	64 (34.0)	111 (21.5)	57 (29.2)	130 (24.3)
初中教育	244 (34.3)	184 (35.1)	60 (31.9)	183 (35.4)	61 (31.3)	172 (32.1)
高中文凭	104 (14.6)	82 (15.7)	22 (11.7)	73 (14.1)	31 (15.9)	84 (15.7)
大学水平	196 (27.5)	154 (29.4)	42 (22.3)	150 (29.0)	46 (23.6)	150 (28.0)
治疗组						
DHA	180 (25.3)	126 (24.1)	54 (28.9)	136 (26.3)	44 (22.6)	130 (24.3)
多领域	176 (24.7)	141 (26.9)	34 (18.2)	124 (24.0)	52 (26.7)	124 (23.1)
DHA+多领域	177 (24.9)	126 (24.1)	51 (27.3)	132 (25.5)	45 (23.1)	137 (25.6)
安慰剂	179 (25.1)	131 (25.0)	48 (25.7)	125 (24.2)	54 (27.7)	145 (27.1)
RBC ω3, 重量%	5.8 (1.5)	6.4 (1.2)	4.0 (0.6)	5.9 (1.5)	5.5 (1.3)	5.5 (1.5)

[0246]

血清维生素 D, ng/mL	23.7 (12.3)	24.1 (12.5)	22.6 (11.7)	28.6 (10.9)	10.8 (3.0)	23.8 (12.2)	23.4 (12.6)
血浆同型半胱氨酸 酸, μM/L	15.8 (5.3)	15.3 (5.3)	17.1 (5.3)	15.5 (5.0)	16.4 (6.1)	13.4 (2.7)	22.9 (5.2)

[0247] 表2:符合各个水平的营养风险指数的个体的患病率(n=712)

[0248]

RBC ω3 (EPA+DHA)	血清 维生素 D		血浆 同型半胱氨酸		每种组合的 样本大小	
高 低	高 $\geq 15$	低	高 $\geq 18.1$	低	N (%)	
<b>营养风险指数=0 (参考组)</b>						
X		X			X	301 (42.3)
<b>营养风险指数=1</b>						
	<i>X</i> <sup>#</sup>	X			X	91 (12.8)
X			<i>X</i>		X	101 (14.2)
X		X		<i>X</i>		85 (12.0)
<b>营养风险指数=2</b>						
X			<i>X</i>	<i>X</i>		37 (5.2)
	<i>X</i>		<i>X</i>		<i>X</i>	43 (6.0)
	<i>X</i>	X		<i>X</i>		40 (5.6)
<b>营养风险指数=3</b>						
	<i>X</i>		<i>X</i>	<i>X</i>		14 (2.0)

[0249] <sup>#</sup>粗斜体表示促成该营养风险指数的相应营养物质[0250] 表3:MAPT中认知功能和衰退的营养风险指数<sup>1</sup>

[0251]

	估计系数(95%CI)	P 值
年龄, 岁	-0.037 (-0.048, -0.026)	<0.01*
时间, 月	0.0012 (-0.00076, 0.0032)	0.22
男性与女性	-0.19 (-0.29, -0.08)	<0.01*
教育		
初中教育	0.094 (-0.041, 0.23)	0.17
高中文凭	0.440 (0.27, 0.60)	<0.01*
大学或以上	0.440 (0.30, 0.58)	<0.01*
<i>APOEe4</i> 携带者与非携带者	-0.190 (-0.31, -0.064)	0.05
基线关联		
营养风险指数		
0 (参考)	—	
1	-0.0059 (-0.11, 0.010)	0.91
2	-0.14 (-0.29, 0.0087)	0.07
3	-0.043 (-0.43, 0.34)	0.83
纵向关联		
营养风险指数*时间 (月)		
0*时间 (参考)	—	

[0252]

1*时间	-0.0033 (-0.0062, -0.00038)	0.03*
2*时间	-0.0046 (-0.0087, -0.00042)	0.03*
3*时间	-0.023 (-0.036, -0.01)	<0.01*

[0253] <sup>1</sup>在以下每种情况下,营养风险指数增加1分:血清25-羟基维生素D≤15ng/mL;血浆同型半胱氨酸≥18.1;RBC ω3≤4.82;主要结果测量是认知综合Z分。

[0254] 表4:MAPT中与年龄相关的认知衰退的独立的和交互式营养风险 (n=712)

[0255]

	教育	VitD 低	HCy 高	ω3 低	NRI	估计系 数	SE	P 值
截距						2.4044	0.4301	<0.0001
基线处的年龄, 岁						-0.0338	0.005622	<0.0001
时间, 月						0.0009	0.000998	0.3466
男性与女性						-0.2087	0.05377	0.0001
基线关联								
VitD*HCy*ω3		0	0	0	0	0	—	—
VitD*HCy*ω3		1	1	1	3	0.0177	0.1832	0.9229
VitD*HCy*ω3		1	1	0	2	-0.1413	0.1172	0.2281
VitD*HCy*ω3		1	0	1	2	-0.1968	0.1079	0.0682
VitD*HCy*ω3		1	0	0	1	-0.0698	0.07576	0.3570
VitD*HCy*ω3		0	1	1	2	-0.2887	0.1110	0.0094
VitD*HCy*ω3		0	1	0	2	0.0348	0.08176	0.6696
VitD*HCy*ω3		0	0	1	2	-0.0064	0.07924	0.9354
纵向关联								
时间*VitD*HCy*ω3		1	1	1	3	-0.0156	0.005679	0.0060
时间*VitD*HCy*ω3		1	1	0	2	-0.0060	0.003168	0.0585
时间*VitD*HCy*ω3		1	0	1	2	-0.0058	0.002949	0.0463
时间*VitD*HCy*ω3		1	0	0	1	-0.0033	0.001963	0.0870
时间*VitD*HCy*ω3		0	1	1	2	-0.0033	0.003222	0.3038
时间*VitD*HCy*ω3		0	1	0	1	-0.0037	0.002172	0.0817
时间*VitD*HCy*ω3		0	0	1	1	-0.0029	0.002122	0.1613
时间*VitD*HCy*ω3		0	0	0	0	0	—	—
教育								
无文凭/小学	0					0	—	—
初中肄业	1					0.1308	0.06718	0.0518

[0256] 表4:MAPT中与年龄相关的认知衰退的独立的和交互式营养风险 (n=712)

[0257]

	教育	VitD 低	Hcy 高	$\omega 3$ 低	NRI	估计系 数	SE	P 值
初中毕业	2					0.4885	0.08341	<0.0001
大学毕业/以上	3					0.5045	0.07115	<0.0001

[0258] <sup>1</sup>在以下每种情况下,营养风险指数增加1分:血清25-羟基维生素D≤15ng/mL;血浆同型半胱氨酸≥18.1;RBC  $\omega 3 \leq 4.82$ ;主要结果测量是认知综合Z分。无论是否对试验组进行调整,结论相同。

[0259] 材料和方法

[0260] MAPT中的生化测定和遗传学

[0261] 25-羟基维生素D:利用电化学发光结合测定法对总25-羟基维生素D(Cobas 8000, Roche)进行体外测定。该可商购获得的测定法采用VDBP来捕获25-羟基维生素D3和25-羟基维生素D2,目的是定量人类血清与血浆中的总维生素D(25-OH-D)。简而言之,将样本与预处理的试剂温育9分钟,使样本中的天然VDBP变性,以释放所结合的维生素D(25-OH-D)。随后将样本与具有重组钌标记的VDBP进一步温育,以形成25-OH-D和钌化VDBP的复合物。添加生物素酰化25-OH-D生成了由钌标记的VDBP和生物素酰化25-OH-D组成的复合物。通过生物素与涂覆有链霉亲和素的在电极表面上捕获的微粒的相互作用,整个复合物与固相结合。移除未结合的物质。增大电极电压,引发通过光电倍增器测量的化学发光型发射。通过2点校准生成的仪器特定校准曲线以及经由试剂条形码提供的校准主曲线来确定结果。单位表示为ng/mL。

[0262] 同型半胱氨酸:使用可商购获得的酶循环测定法(Cobas 8000, Roche)来测量总血浆同型半胱氨酸。测量血浆样本中相对于标准曲线的总血浆同型半胱氨酸的浓度,单位为 $\mu$ mol/L。首先还原氧化的同型半胱氨酸,并且然后与S-腺苷甲硫氨酸反应,以在存在同型半胱氨酸S-甲基转移酶的情况下形成甲硫氨酸和S-腺苷同型半胱氨酸(SAH)。随后通过耦合酶反应来评估SAH,其中通过SAH水解酶将SAH水解为腺苷和同型半胱氨酸,并将同型半胱氨酸循环回同型半胱氨酸转化反应中,用于放大检测信号。将形成的腺苷水解为肌醇和氨。谷氨酸脱氢酶催化氨与2-氧戊二酸盐和NADH的反应以形成NAD<sup>+</sup>。样本中的同型半胱氨酸浓度与转化为NAD<sup>+</sup>的NADH的量(在340nm吸光度下读取的)成正比。单位表示为 $\mu$ M。

[0263] 红细胞膜 $\omega 3$ 脂肪酸:使用气相色谱法结合火焰电离检测器来定量以总脂肪酸的重量百分比表示的红细胞EPA+DHA。简而言之,红细胞通过离心法与血浆分离,并且在脂质提取之前用Folch法洗涤三次,Folch法包括酸化之后己烷和异丙醇的混合物。添加十七烷酸(Sigma)作为内标物。对总脂质提取物进行皂化和甲基化。脂肪酸甲酯用戊烷进行提取并通过气相色谱法(GC)进行分析,GC使用Agilent Technologies 6890N气相色谱仪,该气相色谱仪具有分体式注射器、结合的石英毛细管柱(BPX 70, 60m×0.25mm; 0.25 $\mu$ m膜厚)以及火焰电离检测器。将氦用作载气,柱温程序始于150°C,按1.3°C/分钟增加至220°C,并且在220°C下保持10分钟。FAME的识别基于针对由脂肪酸标准物所制备的FAME而获得的保留时间。使用ChemStation软件(Agilent)确定曲线下方的面积,并且结果表示为总脂肪酸的%。

DHA浓度使用内标物来计算，并且表示为 $\mu\text{g/g}$ 的红血球。在转甲基作用之后，可使用FAME分析来定量FA甲酯(FAME)，FAME分析使用配有CP Wax 58CB 50-m熔融石英毛细管柱的GC 2100气相色谱仪(Shimadzu)。温度编程序喷雾注射器和火焰电离检测器计算 $\omega$ -3指数(EPA+DHA表示为总脂肪酸的百分比)。也确定十五种膜磷脂脂肪酸，包括棕榈酸C16:0和硬脂酸C18:0；MUFA(油酸C18:1 n-9和棕榈油酸C16:1 n-7)；n-6 PUFA(LA C18:2,  $\gamma$  亚麻酸C18:3，二高  $\gamma$  亚麻酸C20:3, AA C20:4，二十二碳四烯酸C22:4和二十二碳五烯酸C22:5)；以及n-3 PUFA(ALA C18:3, C20:5 EPA, 二十二碳五烯酸C22:5, DHA C22:6)；一种n-9 PUFA(二十碳三烯酸C20:3)。

[0264] 描述性统计

[0265] 人口中的高同型半胱氨酸血症的患病率和血浆HCy的分布。比较基线处的HCy和维生素D的三分位数/四分位数的人口统计和临床变量分布，以识别潜在的影响调节剂。评估在认知综合Z分和神经成像参数的三分位数内的人口统计和临床变量分布，识别与认知Z的关系的潜在混杂因子。

[0266] 实施例2

[0267] 以下非限制性实施例是本公开提供的实施方案中的组合物的例证，这些组合物用于减轻非痴呆个体中的认知衰老。

[0268]

成分	剂量/天
DHA	770mg
EPA	700mg
维生素B1(硫胺素)	50mg
维生素B2(核黄素)	15mg
维生素B3(烟酸)	25mg
维生素B5(泛酸)	23mg
维生素B6(吡哆素)	18mg
维生素B7(生物素)	0.15mg
维生素B9(无水叶酸)	0.4mg
维生素B12(钴胺素)	约12至21倍RDA的维生素B12
维生素C	500mg
维生素D	0.015mg
维生素E	82.6mg
硒	0.08mg
瓜氨酸	3000mg
酒石酸氢胆碱	85mg

[0269] 以下带有编号的段落进一步描述了本发明：

[0270] 1. 减轻、治疗或预防有对其有需要或存在风险的非痴呆个体的认知衰老的方法，该方法包括向个体施用治疗有效量的包含 $\omega$ -3脂肪酸、维生素B6和维生素B9的组合物。

[0271] 2. 根据段落1的方法，其中该个体为中老年人。

[0272] 3. 根据段落1或2中任一项的方法，其中该个体为老年人。

- [0273] 4. 根据段落1至3中任一项的方法,其中将该组合物每日口服施用于所述个体持续至少一个月。
- [0274] 5. 根据段落1至4中任一项的方法,其中该组合物还包含一氧化氮释放化合物。
- [0275] 6. 根据段落5的方法,其中该一氧化氮释放化合物包含瓜氨酸。
- [0276] 7. 根据段落1至6中任一项的方法,其中 $\omega$ -3脂肪酸包含选自以下的脂肪酸:二十二碳六烯酸、二十碳五烯酸以及它们的混合物。
- [0277] 8. 根据段落1至7中任一项的方法,其中该组合物包含一种或多种选自以下的另外的B族维生素:维生素B1、维生素B2、维生素B3、维生素B5、维生素B7和维生素B12。
- [0278] 9. 根据段落1至8中任一项的方法,其中该组合物包含一种或多种选自以下的抗氧化剂:维生素C、维生素D、维生素E和硒。
- [0279] 10. 根据段落1至9中任一项的方法,其中该个体在基线处具有低DHA状态。
- [0280] 11. 根据段落1至10中任一项的方法,其中该个体在基线处具有0.5的临床痴呆评分(CDR)。
- [0281] 12. 根据段落1至11中任一项的方法,其中该个体在基线处具有至少 $12\mu\text{mol/L}$ 的低血浆同型半胱氨酸水平。
- [0282] 13. 根据段落1至12中任一项的方法,其中该个体在基线处具有10至15的心血管风险因素、衰老和痴呆(CAIDE)风险评分。
- [0283] 14. 根据段落1至13中任一项的方法,其中该个体在基线处对淀粉样蛋白PET扫描上为淀粉样蛋白阳性。
- [0284] 15. 根据段落1至14中任一项的方法,其中该个体具有指示认知衰退风险的基因型。
- [0285] 16. 根据段落1至15中任一项的方法,其中以日剂量将该组合物施用于该个体,该日剂量提供0.13mg/天至130mg/天的维生素B6和/或0.004mg/天至2.0mg/天的维生素B9。
- [0286] 17. 根据段落1至16中任一项的方法,其中以日剂量将该组合物施用于该个体,该日剂量每天提供0.002mg至0.4mg的维生素B12,优选每天提供0.02mg至0.07mg的维生素B12,更优选每天提供0.03mg至0.05mg的维生素B12。
- [0287] 18. 根据段落1至17中任一项的方法,其中该施用导致:改善神经元流动性、刺激神经元可塑性和活性、改善抗炎潜力、支持或维持认知表现、支持或维持脑表现、减慢脑衰老、支持活跃思维和脑健康、支持或维持健康的脑、增强记忆、增强执行功能、增强注意力、维持认知健康、维持脑细胞健康。
- [0288] 19. 减轻、治疗或预防有对其有需要的或存在风险的非痴呆个体的认知衰老的方法,该方法包括向个体施用治疗有效量的包含 $\omega$ -3脂肪酸、维生素B6和维生素B9的组合物。
- [0289] 20. 在对其有需要的非痴呆个体中实现一种或多种选自以下的有益效果的方法:减轻脑萎缩、增加或保持突触的数量、增加或保持淀粉样蛋白- $\beta$ 吞噬作用以及减轻神经炎症;该方法包括向个体施用治疗有效量的包含 $\omega$ -3脂肪酸、维生素B6和维生素B12的组合物。
- [0290] 21. 包含 $\omega$ -3脂肪酸、维生素B6和维生素B12的组合的组合物;并且该组合物以有效减轻非痴呆个体的认知衰老的量的包含该组合。
- [0291] 22. 根据段落21的组合物,其中该组合物以该组合物的1重量%至50重量%的量包

含 $\omega$ -3脂肪酸,包含每天0.002mg至0.4mg的维生素B12,优选每天0.02至0.07mg的维生素B12。

[0292] 23.根据段落21或22的组合物,其中该组合物为包含选自以下的成分的食物产品:蛋白质、碳水化合物、脂肪以及它们的组合。

[0293] 24.根据段落21或22的组合物,其中该组合物为包含选自以下的组分的药物组合物:药学上可接受的载体、稀释剂和赋形剂。

[0294] 25.根据段落21至24中任一项的组合物,该组合物用于减轻、治疗或预防有对其有需要的或存在风险的非痴呆个体的认知衰老。

[0295] 26.根据段落21至25中任一项的组合物,该组合物用于改善神经元流动性、刺激神经元可塑性和活性、改善抗炎潜力、支持或维持认知表现、支持或维持脑表现、减慢脑衰老、支持活跃思维和脑健康、支持或维持健康的脑、增强记忆、增强执行功能、增强注意力、维持认知健康、维持脑细胞健康。

[0296] 27.制备用于减轻非痴呆个体的认知衰老的食物组合物的方法,该方法包括将有效量的 $\omega$ -3脂肪酸、维生素B6和维生素B9的组合添加到选自以下的至少一种成分:蛋白质、碳水化合物和脂肪。

[0297] 28.制备用于减轻非痴呆个体中的认知衰老的药物组合物的方法,该方法包括将有效量的 $\omega$ -3脂肪酸、维生素B6和维生素B9的组合添加到选自以下的至少一种组分:药学上可接受的载体、稀释剂和赋形剂。

[0298] 29.预防存在风险的个体中的痴呆的方法,该方法包括向个体施用治疗有效量的包含 $\omega$ -3脂肪酸、维生素B6和维生素B9的组合物。

[0299] 30.根据段落29的方法,其中所预防的痴呆选自阿尔茨海默病、血管性痴呆、路易体痴呆、额颞叶痴呆以及它们的组合。

[0300] 31.改善非痴呆个体中的认知能力的方法,该方法包括向个体施用治疗有效量的包含 $\omega$ -3脂肪酸、维生素B6和维生素B9的组合物。

[0301] 在上述说明书中提到的所有出版物均以引用方式并入本文。本发明所公开的活性剂、组合物、用途和方法的各种修改和变型在不脱离本发明范围和实质的情况下对技术人员将是显而易见的。虽然已结合具体优选的实施方案对本发明进行了公开,但是应当理解,受权利要求书保护的本发明不应不当地受限于此类具体实施方案。实际上,对技术人员显而易见的对用于实践本发明所公开的模式的各种修改旨在落在以下权利要求书的范围内。

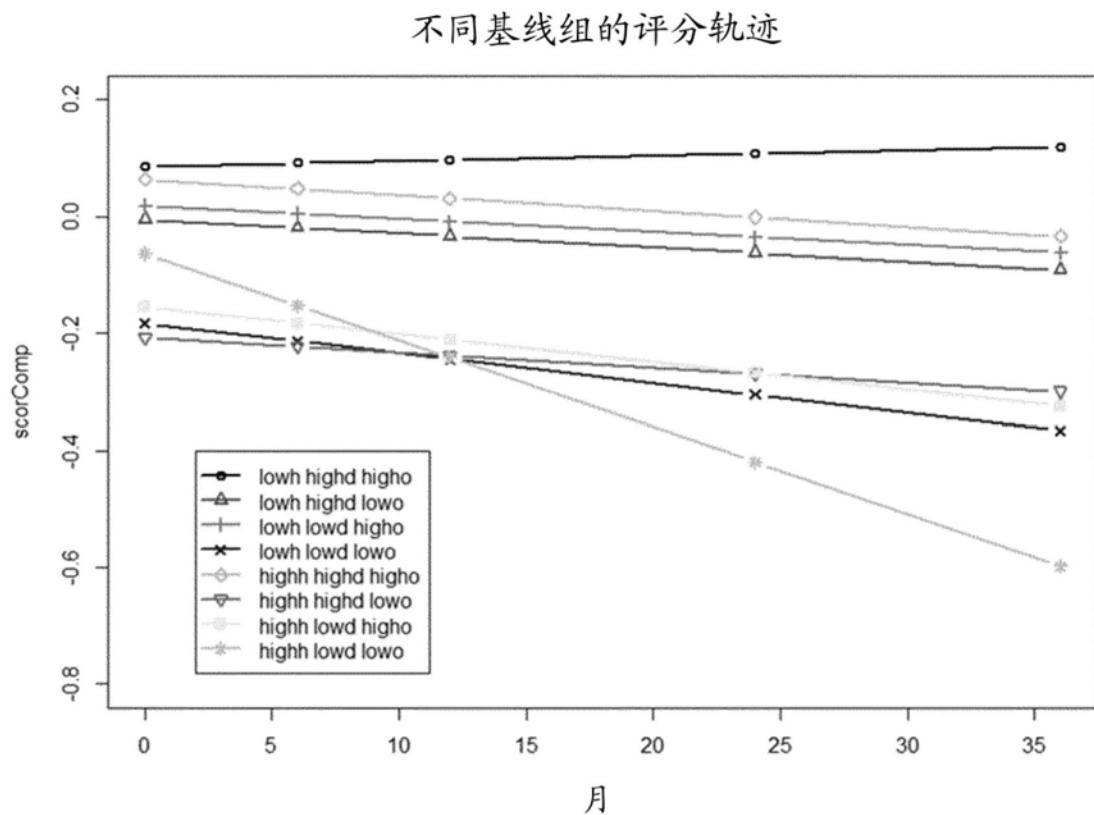


图1

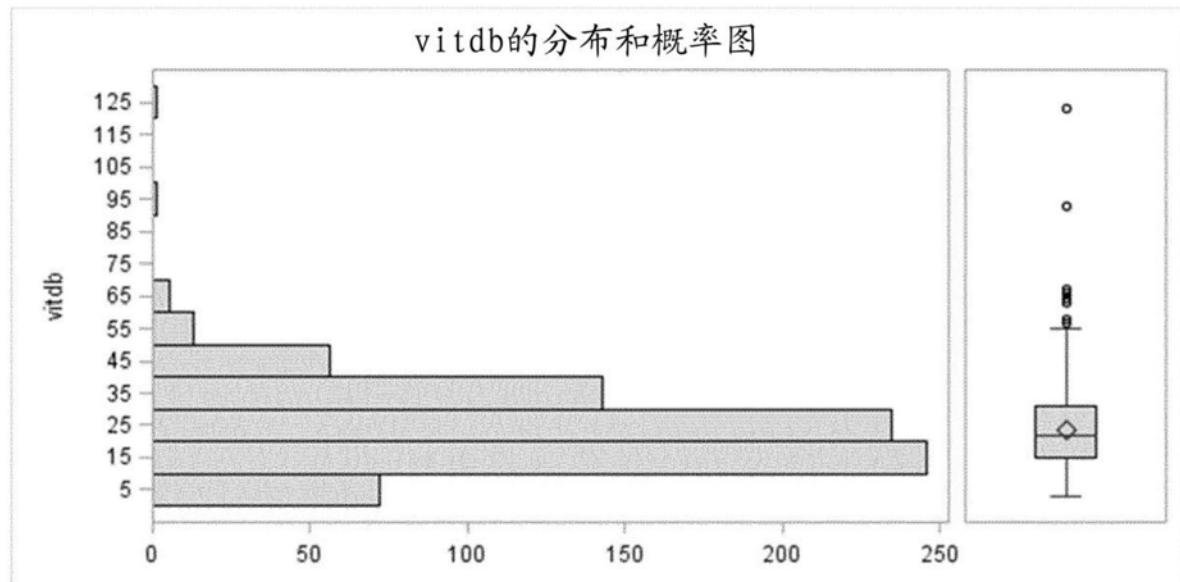


图2

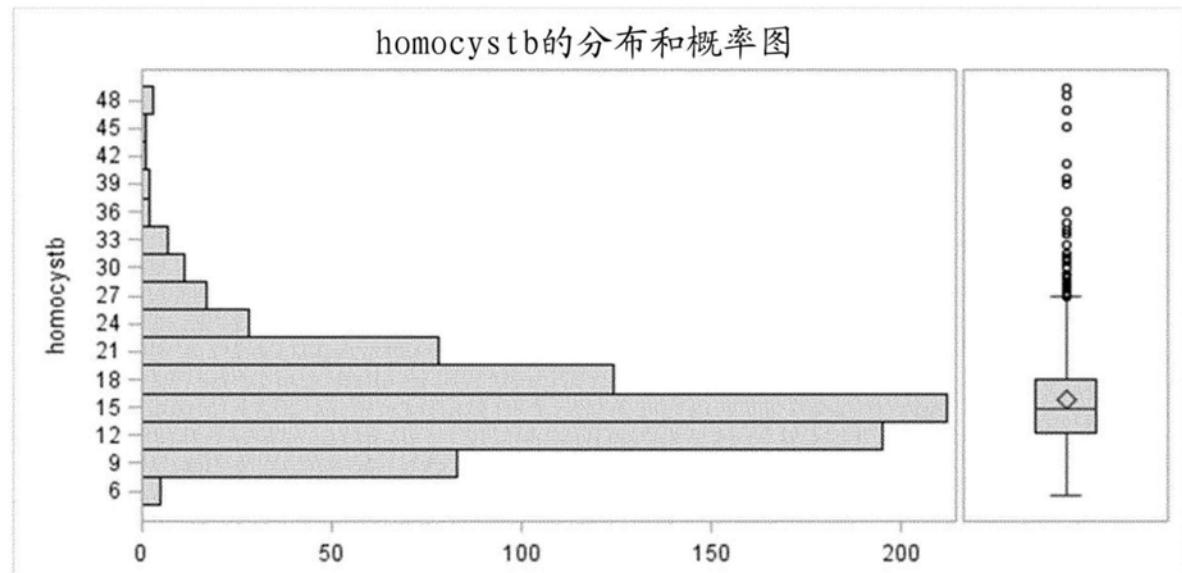


图3