

Цей винахід стосується головним чином сумішей для дитячого харчування, що містять поліненасичені жирні кислоти з довгим ланцюгом (PUFA), процесу одержання таких ентеральних композицій і способів зменшення захворюваності на некротичний ентероколіт. Більш конкретно, цей винахід стосується ентеральних композицій, які складаються з довголанцюгової PUFA арахідонової кислоти (AA) і докозагексаєнової кислоти (DHA), які істотно вільні від холестерину і можуть бути одержані з ліпідів жовтка яйця. Довголанцюгові PUFA, одержані з жовтка яйця, існують, головним чином, у фосфоліпідній формі. Процес одержання таких композицій надає поліпшені органолептичні і стабільні властивості. Ентеральне введення таких композицій може зменшити захворюваність на некротичний ентероколіт.

Рівень техніки

Довголанцюгові PUFA у сумішах для дитячого харчування або композиціях були темами у різних джерелах. Наприклад, патент США №4670285 ("Кландинін") описує особливу суміш жирів, придатну для використання у сумішах для немовлят. Більш конкретно, жирова суміш Кландинін містить принаймні одну C_{20} або C_{22} n-6 жирну кислоту і C_{20} або C_{22} n-3 жирну кислоту. Ці жирні кислоти описані як такі, що, знаходячись у певній, визначеній кількості, запобігають виникненню шкідливого впливу на немовля, яке годують жировою сумішшю. C_{20} або C_{22} n-6 жирні кислоти присутні у загальній кількості приблизно від 0,13 до 5,6% по масі від всіх жирних кислот у продукті. C_{20} або C_{22} n-3 жирні кислоти, якщо присутні, включені у загальну кількість приблизно від 0,013 до 3,33% по масі від усіх жирних кислот у продукті. Кландинін містить ліпіди яйця з n-6 і n-3 жирними кислотами; проте ліпід яйця, що використовувався у Кландиніні, також містить велику кількість холестерину. Крім того, у цьому винаході використовують від 75 до 95 частин по масі від ліпиду жовтка яйця з кокосовою олією або соєвою олією. Термінологія, що використовувалась у винаході Кландиніну для жирних кислот, буде застосована тут.

Патент WO 93/20717 описує суміш для немовлят, яка містить не більше, ніж неподразнюючу кількість вільних довголанцюгових (C_{16} - C_{22}) жирних кислот і тригліцеридів. Ця заявка також описує, що застосування естерів нижчих алкілів, таких як етилові естери таких жирних кислот у суміші для немовлят, істотно запобігає пошкодженню вільними жирними кислотами кишкового епітелію немовляти, але не заважає поглинанню і перетворенню частини жирної кислоти.

В патенті США №4918063, виданому Lichtenberger, описано композиції, що містять унікальні суміші фосфоліпідів і нейтральних ліпідів для запобігання або лікування виразок і запалення кишок. Цей патент описує суміші насичених або ненасичених фосфоліпідів разом з насиченими або ненасиченими тригліцеридами і/або стеринами, які надають ефективний захист від виразок в експериментальних тваринних моделях. Цей патент описує також включення полівалентних катіонів або антиоксидантів в ліпідну суміш для підвищення активності.

Міжнародна публікація №WO 96/10922, що належить Kohn et al., описує жирову суміш для годування немовлят, яка характеризується тим, що арахідонова кислота і докозагексаєнова кислота присутні у жировій суміші в формі фосфоліпідів.

Європейська патентна заявка №0 376 628 B1, видана Tomarelli, описує композицію, що складається повністю з жирів рослинного походження, яка використовує рандомізовану пальмову олію або рандомізовану пальмову олійову олію як єдине джерело пальмітинової кислоти. Також описано, що всі композиції з жирами рослинного походження є особливо придатними для використання у суміші для передчасно народжених немовлят (або з малою масою при народженні). Жирові композиції для передчасно народжених немовлят, згідно з заявкою Tomarelli, включають тригліцериди з середньою довжиною ланцюга (MCT), що містить олію рандомізованої пальмітинової кислоти, олію лауринової кислоти, олію олеїнової кислоти і олію лінолевої кислоти.

Хоча посилання, обговорювані вище, зробили важливий внесок, залишається потреба у суміші для немовлят, що містить фосфоліпіди яйця як джерело довголанцюгових PUFA у концентраціях, придатних для харчування. Також залишається потреба у способі одержання сумішей для дитячого харчування, що містять фосфоліпіди яйця, щоб суміші мали прийнятні органолептичні властивості. Особливо такі композиції використовуються у сумішах для немовлят для вчасно і/або передчасно народжуваних немовлят, чії потреби у довголанцюгових PUFA з'ясовані для необхідного розвитку нервової системи і для розвитку гостроти зору. Крім того, може існувати захисна дія для кишок.

Некротичний ентероколіт (NEC) є серйозною проблемою у немовлят, що мають меншу масу при народженні, ніж приблизно 1500 грамів. Незважаючи на три десятиріччя досліджень, точна етіологія і патофізіологія NEC залишається не з'ясованою. NEC є смертельним захворюванням, що характеризується ішемічними некрозами структур травного тракту і пневматозом кишок, який часто призводить до перфорації кишок. Передчасно народжене немовля з NEC має клінічні ознаки термічної нестабільності, летаргії, затримки в шлунку, блювання, здуття шлунка, явного або прихованого крововиливу у випорожненнях і рентгенографічні докази пневматозу кишок, повітря у ворітній вені або пневмоперитоніту. Починається приступ апное, швидко настає шок та склерема і, як правило, смерть.

Зроблені різноманітні спостереження багатьма авторами і виявлені фактори, що впливають на ці захворювання. (Nue, *Pediatr. CGT. North. Am.*, April, 1996, 43(2): 409-32). Наступні спостереження і фактори наведені як приклади:

Flageole et al., *Necrotizing Enterocolitis of the Newborn, Review for the Clinician. Union-Med-Can.* 1991 Sep-Oct; 120(5): 334-8, наводить на думку, що патогенез NEC включає ішемію брижі, недорозвинутість шлунково-кишкового тракту, ентеральне (штучне) харчування і навіть, можливо, інфекцію;

Captan et al., *Role of Platelet Activating Factor and Tumor Necrosis Factor-Alpha у Neonatal Necrotizing Enterocolitis, Journal of Pediatrics*, June, 1990, 960-964, виявив, що кількість фактора активації тромбоцитів і α -фактора некрозу пухлини є підвищеною у пацієнтів з NEC;

Kliegman et al., *Clostridia as Pathogens у Neonatal Necrotizing Enterocolitis, Journal of Pediatrics*, August, 1979, 287-289, доповів про виділення *Clostridia perfringens* у немовлят з NEC;

Ostertag et al., *Early Enteral Feeding Does Not Affect Incidence Necrotizing Enterocolitis, Pediatrics*, Vol.77,

No.3. March 1986, 275-280, повідомляє, що розведені, ранні ентеральні калорії не сприяють захворюванню на NEC;

Bell et al., Neonatal Necrotizing Enterocolitis, Annals of Surgery, Vol.187, January 1978, No.1, 1-7. пропонує використовувати комбінацію антимікробної терапії для лікування немовлят з NEC;

Eyal et al., Necrotizing Enterocolitis in the Very Low Birth Weight Infant: Expressed Breast Milk Feeding Compared with Parenteral Feeding, Archives of Disease in Childhood, 1982. 57, 274-276 повідомляє, що захворювання на NEC у немовлят, що мали малу масу при народженні, було зменшено затримкою ініціації ентерального харчування.

Finer et al., Vitamin E and Necrotizing Enterocolitis, Pediatrics, Vol.73, No.3, March 1984, припускає, що введення вітаміну Е для зменшення тяжких наслідків рентролентальної фіброплазії може бути пов'язано з захворюванням на NEC.

Brown et al., Preventing Necrotizing Enterocolitis in Neonates, JAMA, Nov.24, 1978, Vol.240, No.22, 2452-2454 повідомляє, що NEC може бути фактично знищена шляхом використання повільно прогресуючого режиму харчування.

Kosloske, Pathogenesis and Preventing Necrotizing Enterocolitis: A Hypothesis Based on Personal Observation and Review of the Literature, Pediatrics, Vol.74, No.6, Dec.1984, 1086-1092, гіпотеза, що NEC відбувається при співпаданні двох з трьох патологічних подій: (1) ішемія кишечника; (2) заселення патологічних бактерій; і (3) надлишок протеїнового субстрату в кишковій порожнині.

Kosloske, вищезгаданий, також доповідає, що NEC рідко зустрічається у немовлят, які харчувалися тільки грудним молоком. У людей молоко з грудних залоз відіграє значну роль у пасивній імунізації неонатального кишечника і містить фактори, що сприяють розвитку Bifidobacterium у флорі кишечника. Також повідомляється, що корисний склад молока людини може бути несприятливо змінений шляхом заморожування, пастеризації або зберігання.

Таким чином, продовжуються дебати щодо етіології і лікування NEC і залишається потреба у композиціях і способах, які є кращими для лікування і/або зменшення захворювань на цю руйнівну і часто смертельну хворобу.

Короткий опис винаходу

Цей винахід має багато аспектів. По-перше, винахід розглядає спосіб для зменшення захворювання на некротичний ентероколіт у немовляти, яке чутливе до некротичного ентероколіту, вищезгаданий спосіб, що складається з введення ефективної кількості принаймні однієї довголанцюгової PUFA, вибраної з групи C₂₀ n-6 жирних кислот, C₂₂ n-6 жирних кислот, C₂₀ n-3 жирних кислот і C₂₂ ω-3 жирних кислот. Наприклад, введення арахідонової кислоти, n-6 жирних кислот виявилось ефективним. Введення може бути ентеральним або парентеральним. Ще краще, коли використовується комбінація n-6 і n-3 жирних кислот, наприклад, арахідонової кислоти і докозагексаєнової кислоти. Ентеральне введення становить принаймні 1,0мг n-6 жирних кислот на кілограм маси немовляти на день. Ще краще втілення використовує комбінацію n-6 і n-3 жирних кислот у вагових співвідношеннях від приблизно 2:1 до приблизно 4:1 і введення принаймні 5,0мг довголанцюгових n-6 жирних кислот на день.

Спосіб може бути втілений шляхом годування достатньою кількістю ентеральної композиції, що містить арахідонову кислоту і докозагексаєнову кислоту, для введення вищезгаданому немовляті приблизно від 1,0 до приблизно 60мг на кг на день арахідонової кислоти і приблизно від 0,25 до приблизно 35мг на кг на день докозагексаєнової кислоти. Більш типово, кількість становить від приблизно 5,0 до приблизно 40мг арахідонової кислоти і приблизно від 1,5 до приблизно 20мг докозагексаєнової кислоти на кг на день. Краще, коли масове співвідношення арахідонової кислоти та докозагексаєнової кислоти становить від приблизно 2 до приблизно 4. Краще, якщо поліненасичені жирні кислоти з довгим ланцюгом знаходяться у формі фосфоліпідів, зокрема, фосфатидилхоліну. Такі фосфоліпіди присутні у високих концентраціях у лецитинах яйця і фосфатидах яйця.

Таким чином, надалі винахід пропонує спосіб для зменшення захворювання на некротичний ентероколіт у немовлят, вищезгаданий спосіб складається з годування вищезгаданого немовляти достатньою кількістю ентеральної харчової композиції, яка містить протеїн, вуглевод і фосфоліпіди для постачання принаймні 1,0мг n-6 поліненасичених жирних кислот з довгим ланцюгом на день. Краще, якщо харчування містить принаймні 0,5мг на день n-3 поліненасичених жирних кислот з довгим ланцюгом у формі арахідонової кислоти і докозагексаєнової кислоти, відповідно.

У іншому аспекті, винахід пропонує спосіб для зменшення випадків некротичного ентероколіту у немовлят, народжених людиною, вищезгаданий спосіб полягає у введенні немовляті фосфоліпідів у кількості, ефективній для зменшення захворювання на некротичний ентероколіт.

Типово, вищезгадані фосфоліпіди вводяться для створення концентрації між приблизно 60 і приблизно 2400мкмоль, краще між приблизно 200 і приблизно 1500мкмоль, найкраще між приблизно 400 і приблизно 1000мкмоль фосфоліпідів на кг на день. Джерело фосфоліпідів не є критичним (вирішальним); фосфоліпіди, одержані з лецитину яйця, придатні для цього винаходу. Фосфоліпіди також можна легко одержати з мембран тварин, включаючи глобулярні мембрани жиру молока. До інших джерел, багатих на фосфоліпіди, відносяться соєва та інші олії з насіння. При використанні фосфоліпідів лецитину яйця кращої кількості для ентерального введення достатньо для утворення принаймні 1,0мг довголанцюгових n-6 жирних кислот на день. Головним чином фосфоліпід яйця постачає арахідонову кислоту як значну частину n-6 жирних кислот, а також докозагексаєнову кислоту і/або інші довголанцюгові n-3 жирні кислоти у співвідношеннях, згаданих вище. Це може мати синергетичний вплив. Проте варто відмітити, що довжина і насичення жирних кислот, приєднаних до гліцерину як основи, у цьому "фосфоліпідному" аспекті винаходу не є вирішальними, і жирні кислоти, відмінні від LCPUFAs, можуть бути використані у цьому винаході.

У ще іншому аспекті винахід пропонує спосіб для зменшення випадків некротичного ентероколіту у немовлят людини, вищезгаданий спосіб, що складається з введення немовляті холіну у кількості, ефективній для зменшення захворювання на некротичний ентероколіт. Типово, вищезгаданий холін вводиться для

створення концентрації між приблизно 60 і приблизно 1800мкмоль; ще краще між приблизно 150 і приблизно 1200мкмоль холіну на кг на день. Джерело холіну не є вирішальним; фосфатидилхолін може бути кращим, і фосфатидилхолін, одержаний з лецитину яйця, придатний для цього винаходу. До інших джерел, збагачених на холін або фосфатидилхолін, належать соєва й інші олії з насіння. При використанні холіну лецитину яйця краще вводити комбінацію з n-6 і/або n-3 жирних кислот для одержання принаймні 1,0мг довголанцюгових n-6 жирних кислот на день. Лецитин яйця містить, головним чином, арахідонову кислоту як значну частину n-6 жирних кислот і також докозагексаєнову кислоту і/або інші довголанцюгові n-3 жирні кислоти у співвідношеннях, згаданих вище. Це може привести до синергетичного ефекту. Проте, як і у фосфоліпідному аспекті, довжина і насичення жирних кислот, приєднаних до гліцерину як основи будь-якого фосфатидилхоліну, використаного у винаході, не є вирішальними, і жирні кислоти, відмінні від LCPUFA, можуть бути використані в цьому винаході. Як альтернатива, може бути використаний холін з не фосфоліпідних джерел.

Крім того, завдяки корисному впливові, що спостерігався у немовлят, чутливих до ентероколіту, можна припустити, що корисний вплив також спостерігається у дорослих. Таким чином, подальшим аспектом винаходу є використання будь-якої з вищезгаданих композицій для лікування або запобігання виразкових колітів і споріднених кишкових хвороб у дорослих. Дозування має враховувати підвищену вагу дорослого пацієнта і інші фактори, відомі у галузі.

Іншими аспектами винаходу, включаючи суміші для годування немовляти і процеси одержання їх, описані в заявці. Наприклад, у ще одному іншому аспекті винаходу, процес одержання суміші для годування немовлят, що складається з фосфоліпідів жовтка яйця, складається з:

(а) одержання висушеного порошку фосфатиду яйця, істотно вільного від холестерину;

(б) диспергування вищезгаданої фосфоліпідної фракції у водній фазі для утворення фосфоліпідної дисперсії; і

(в) змішування вищезгаданої фосфоліпідної дисперсії з суспензіями інших компонентів вищезгаданої суміші для годування немовлят.

Краще, якщо, згідно з процесом, дисперсія у водній фазі містить фосфатид яйця від приблизно 2 до приблизно 15% по масі і краще, якщо порошок фосфатиду яйця додають до води при температурі приблизно від 20 до 50°C. Цей аспект може бути використаний для одержання суміші для годування немовлят, що містить арахідонову кислоту і докозагексаєнову кислоту в формі фосфоліпідів, вищезгадану суміш для годування немовлят одержують згідно з процесом.

У ще іншому аспекті, винахід пропонує суміш, придатну для годування немовлят, що складається з протеїну, вуглеводів і ліпідів, яка є вдосконаленою і характеризується вмістом ліпідів, що складаються з тригліцеридів з середньою довжиною ланцюга і фосфоліпідів яйця, де вищезгаданий фосфоліпід яйця присутній у кількості від приблизно 1% по масі до приблизно 40% по масі вмісту ліпідів, і де вищезгаданий фосфоліпід яйця є істотно вільним від холестерину. Типово, фосфоліпід яйця присутній у кількості від 5 до 30% по масі вмісту ліпідів сумішей для годування немовлят, а арахідонова кислота в концентрації від приблизно 10 до приблизно 31мг на 100ккал. Ще краще, якщо до сумішей для годування немовляти також входить докозагексаєнова кислота в концентрації від приблизно 3 до приблизно 16мг на 100ккал, а арахідонова кислота і докозагексаєнова кислота присутні у співвідношенні від приблизно 4:1 до приблизно 2:1.

Детальний опис винаходу Загальна термінологія

Жирні кислоти - це вуглеводневі ланцюги різної довжини, які мають карбоксильну кислоту на одному кінці, таким чином роблячи їх дещо полярними і гідрофільними в цьому місці, й одночасно гідрофобними до тієї міри, що залежить від довжини вуглеводневого ланцюга. Жирні кислоти розподіляються по категоріям залежно від довжини вуглеводневого ланцюга. Наприклад, ланцюги менше, ніж приблизно 6 атоми вуглецю, вважаються "короткими"; ланцюги приблизно 6-18 атомів вуглецю є "середніми" і ланцюги з 20 або більше атомів вуглецю вважаються "довгими". Жирні кислоти можуть також мати один або кілька подвійних зв'язків, які є місцем "ненасичення" у вуглеводневому ланцюгу. Як використано тут, термін "довголанцюгові PUFA" означає жирні кислоти з двадцятьма або більше атомами вуглецю, що мають принаймні два вуглець-вуглець подвійні зв'язки (поліненасичені). Кількість і положення подвійних зв'язків в жирних кислотах позначають загальноприйнятою номенклатурою. Наприклад, арахідонова кислота ("AA" або "ARA") має довжину ланцюга з 20 атомів вуглецю і 4 подвійних зв'язків, що починаються у шостого атома вуглецю з кінця, де розташований метиловий радикал. Як результат, вона має назву "C₂₀:4 n-6". Таким же чином, докозагексаєнова кислота ("DHA") має довжину ланцюга у 22 атоми вуглецю з 6 подвійними зв'язками, що починаються з третього атома вуглецю з кінця, де розташований метиловий радикал, і має назву "C₂₂:6 n-3". Також відомі довголанцюгові PUFA, що зустрічаються рідше, і деякі з них перелічені в Таблицях I і IV (нижче суцільної лінії).

"Гліцериди" - це комплекси ліпідів, що мають гліцериновий скелет, естерифікований жирними кислотами. "Тригліцерид" (тобто, "тригліцерин") має естерифіковані жирні кислоти по одній до кожної гідроксильної групи гліцерину. Ди- і моногліцериди мають, відповідно, дві й одну естерифіковані жирні кислоти. Фосфогліцерид (тобто "фосфоліпід" або "фосфатид" - всі терміни використані рівнозначно) відрізняється від тригліцериду тим, що має максимум дві естерифіковані жирні кислоти, тоді як третє положення гліцерину як основи естерифіковане фосфорною кислотою, утворюючи "фосфатидну кислоту". В природі фосфатидна кислота зазвичай сполучена зі спиртом, який надає молекулі сильно полярну головку. Два таких спирти, що зазвичай трапляються в природі, це холін і етаноламін. "Лецитин" — це фосфатидна кислота, сполучена з аміноспиртом, "холіном", і також відома як "фосфатидилхолін". Лецитини відрізняються за вмістом жирних кислот і можуть бути одержані з, наприклад, яєць і сої. Цефалін (фосфатидилетаноламін), фосфатидилсерин і фосфатидилінозитол є іншими фосфогліцеридами.

Фосфоліпіди зазвичай зустрічаються у мембранах всіх живих систем. Традиційним джерелом фосфоліпідів є жовток яйця і олія сої. Фосфоліпіди можуть також бути одержані з мозку, нирок, серця і легень ссавців; або з мембран глобул жиру молока. Крім того, можуть бути використані джерела мікробного походження (олії з однієї клітини), такі як олії з водоростей і грибів, що може використовуватися, зокрема, для

компонентів AA і DHA жирних кислот фосфоліпідів.

Курячі яйця є відносно багатим джерелом ліпідів. Приблизно 33% жовтка яйця курки складається з ліпиду, який приблизно на 67% - це тригліцерид, 28% - фосфоліпід і решта - головним чином холестерин (відсотки по масі). Ці цифри є приблизними і змінюються залежно від дієти, породи і стану курки. З фосфоліпідної фракції приблизно 75% - це фосфатидилхолін і інші приблизно 20% - це фосфатидилетаноламін. Складова холіну становить приблизно від 15 до 30% кожної фосфоліпідної молекули залежно від приєднаної жирної кислоти. Таким чином, вміст холіну в фосфоліпіді яйця може змінюватись від приблизно 10% до приблизно 25% по масі; або від загальної кількості ліпиду яйця від приблизно 3 до приблизно 7% по масі.

Композиції

Композиції, використовувані у винаході, містять n-6 і/або n-3 довголанцюгові PUFA. Джерело довголанцюгових PUFA не є вирішальним. До відомих джерел довголанцюгових PUFA належать рибна або морська олія, ліпід жовтка яйця і фосфоліпід, олії з однієї клітини (наприклад, олії з водоростей і з грибів), також зрозумілим для фахівців у цій галузі є те, що деякі з джерел є кращими, ніж інші, для досягнення найбільшої кількості особливих довголанцюгових PUFA. Інші істотні, напівочищені або очищені джерела довголанцюгових PUFA є очевидними. Нові джерела довголанцюгових PUFA можуть бути розроблені шляхом генної інженерії овочевих та олійних рослин, і використання таких рекомбінантних продуктів також розглянуто у цьому винаході.

Довголанцюгові PUFA можуть знаходитись в композиції у формі естерів вільних жирних кислот; моно-, ди- і тригліцеридів; фосфогліцеридів, включаючи лецитини; і/або їх сумішей. Може виявитися кращим, якщо довголанцюгові PUFA знаходяться у формі фосфоліпідів, зокрема, фосфатидилхоліну. В наш час кращим джерелом, принаймні коли шлях обробки такий, що органолептичні властивості і рівень холестерину є прийнятними, є фосфоліпід жовтка яйця, можливо, завдяки високому вмісту фосфоліпиду і/або фосфатидилхоліну в PUFA яйця.

n-6 і/або n-3 жирні довголанцюгові PUFA можуть бути введені у формі внутрішньовенного (тобто парентерального) розчину, такого як холін і фосфатидилхолін. Краще, якщо внутрішньовенний розчин містить ефективну кількість PUFA, фосфоліпиду і/або холіну у належній добовій дозі парентерального розчину.

Точна концентрація, таким чином, знаходиться у широких межах залежно від передбаченої дози вливання і значно більше концентрована в болюсному або парентеральному продукті в малому об'ємі, ніж у гідратованому або парентеральному продукті для харчування. Парентеральні композиції загалом включають фармацевтично прийнятні носії і наповнювачі, такі як буфери, консерванти тощо.

n-6 і/або n-3 жирні довголанцюгові PUFA, холін і фосфоліпід можуть, як альтернатива, бути введені у формі ентеральної композиції. Ентеральні композиції, що містять довголанцюгові PUFA, холін або фосфоліпід, можуть бути у формі розчину або емульсії активного інгредієнту; або в формі харчового середовища, що складається з протеїну, вуглеводів, інших жирів, мінералів і вітамінів. Ентеральні композиції, що містять активні компоненти, можуть забезпечувати або додаткове, або повне харчування. Концентрація довголанцюгових PUFA у ентеральній композиції може змінюватись від майже 100% по масі (як у випадку болюсної емульсії) до 0,5% по масі (як у випадку сумішей для годування немовлят при повному харчуванні) композиції залежно від шляху введення і мети. У повних сумішах для годування немовлят концентрація може бути навіть нижча, якщо вводиться достатньо суміші для передачі ефективної кількості довголанцюгових PUFA.

Найкраще втілення цього винаходу стосується поліпшеної суміші для годування немовлят для повного харчування, придатної для годування навіть передчасно народжених немовлят. Така найкраща композиція складається з протеїну, вуглеводів і ліпідів, де приблизно від 6 до приблизно 40% по масі від загального ліпиду становить фосфоліпід яйця, який є істотно вільним від холестерину. Термін "істотно вільний" значить, що вміст холестерину з фосфоліпиду яйця менший, ніж 0,1% по масі, краще менший, ніж 0,05% по масі від загального ліпиду.

Фахівці у галузі легко зрозуміють, що мається на увазі під сумішшю для годування немовлят. При розведенні або відновленні¹, якщо початковою формою є концентрат або порошок, у готовому для споживання стані типова суміш для годування немовлят містить приблизно 10-35г протеїну на літр суміші; 20-50г ліпиду на літр суміші; 60-110г вуглеводів на літр суміші й інші різноманітні складові, такі як вітаміни, мінерали, волокна, емульгатори тощо. З метою розуміння складових суміші для годування немовлят і способів її одержання, наступні патенти США включені сюди шляхом посилання: 1) патент США №5492899, виданий Masor et al.; 2) патент США №5021245, виданий Borschel et al.; 3) патент США №5234702, виданий Katz et al.; 4) патент США №5602109, виданий Masor et al.; і 5) патент США №4670268, виданий Mahmoud. Ще детальніше, це втілення винаходу включає суміш для годування немовлят, що містить приблизно 40-50г ліпиду на літр суміші, де ліпід складається з суміші тригліцеридів з середньою довжиною ланцюга, і фосфоліпиду яйця, що є істотно вільним від холестерину. Типово, суміш ліпідів містить від приблизно 1-40 % по масі, ще краще приблизно від 5 до приблизно 30% по масі, фосфоліпиду яйця. Це втілення, зокрема, розроблене для забезпечення довголанцюговими PUFA, вибраними з n-3 жирних кислот і n-6 жирних кислот, фосфоліпідів і/або холіну у кількості, корисній для немовлят.

Спосіб одержання

Оскільки жовтки курячих яєць містять тригліцериди і фосфатиди, може виявитися, що краще обробляти жовтків яєць з використанням органічних розчинників таким чином, щоб відділити фосфатиди від тригліцеридів, стеринів (наприклад, холестерину) й інших компонентів. Різнноманітні способи, описані у літературі, придатні для цього розділення, принаймні у лабораторному масштабі. Як альтернатива, такі фосфатиди яєць істотно вільні від холестеролу і комерційно доступні у сухій порошкоподібній формі у Pfanstiehl, Inc. (Waukegan, IL) під №P-123 у каталозі.

Далі фосфатид яйця включається у ентеральну композицію цього винаходу. Зважаючи на вміст ліпідів, очікувалося, що введення фосфатидів яйця у ентеральну суміш для годування немовлят буде легко зробити на стадії олії. Проте було відкрито, що ці ліпід-ліпідні дисперсії виявилися неприйнятними, і що одержання

водної дисперсії фосфатиду яйця призводить до поліпшення продукту. Водні дисперсії приблизно 2-15% по масі, краще приблизно від 3 до приблизно 8% по масі, були одержані у воді з температурою від прохолодної до температури навколишнього середовища (приблизно 20-25°C) для одержання найкращих результатів. Чим тепліша утворена вода, тим менш прийнятні органолептичні властивості.

Окремо, вуглеводні, протеїнні і ліпідні суспензії, що містять поживний макроелемент, одержують так, як відомо у галузі, і ці суспензії змішують при температурі приблизно від 130 до 140°C. Одразу перед гомогенізацією фосфатидну дисперсію перемішують із залишком суміші для годування немовляти.

У найкращому варіанті перед додаванням фосфатидної дисперсії до кінцевої суміші (одразу перед гомогенізацією) з фосфатидної дисперсії видаляють повітря в помірному вакуумі. Видалення повітря може бути здійснено будь-яким механізмом, але атомізуючий деаератор при приблизно 15 дюймах (38,1см) ртутного стовпчика дав задовільні результати. Цей додатковий крок покращує органолептичні та ольфакторні (властивості щодо запахів) властивості кінцевого продукту навіть більше, ніж фільтрація активованими атомами вуглецю або комбінація обох (див. Приклад III).

Для одержання парентеральних композицій, що застосовуються у цьому винаході, можуть бути використані загальноприйняті технології одержання стерильних парентеральних сумішей для дитячого харчування. Може виявитися, що у цьому випадку краще не використовувати фосфатиди яєць, а замість цього використати тригліцериди або естери жирних кислот, які можуть бути знайдені у рекомбінантних джерелах або джерелах олій, одержаних з окремих клітин.

Промислове використання

Композиції цього винаходу корисні для харчової підтримки немовлят і/або дорослих. Додавання довголанцюгових PUFA, зокрема n-6 і n-3 жирних кислот і найкраще AA і DHA, було загалом прийнято як корисне для розвитку нейронів і гостроти зору немовляти, хоча негативні результати також були знайдені в літературі.

Композиції, корисні у цьому винаході, включають ті, що містять будь-які або всі з наступних:

(а) довголанцюгові PUFA, вибрані з n-6 і n-3 жирних кислот, типово у формі фосфоліпиду або фосфатидилхоліну;

(б) полярні фосфоліпід, незважаючи на природу або довжину приєднаних жирних кислот;

(в) холін, краще фосфатидилхолін.

Наприклад, покращена суміш з фосфоліпідів яйця, описана детально в Прикладах, забезпечує високий рівень кожного з вказаних компонентів, і несподівано було знайдено, що вона суттєво зменшує захворювання на NEC в популяціях немовлят, чутливих до NEC. У особливому втіленні спосіб зменшення захворювання на NEC здійснюється через введення арахідонової кислоти (AA, 20:4 n-6) або, ще краще, AA в комбінації з докозагексаєновою кислотою (DHA, 22:6 n-3).

Більш детально, цей аспект винаходу пропонує спосіб для зменшення захворювання на некротичний ентероколіт у немовляти, яке чутливе до некротичного ентероколіту, вищезгаданий спосіб, що складається з введення ефективної кількості принаймні однієї довголанцюгової PUFA, вибраної з групи C₂₀ n-6 жирних кислот, C₂₂ n-6 жирних кислот, C₂₀ n-3 жирних кислот і C₂₂ n-3 жирних кислот. Введення проводять на рівні принаймні 1,0мг n-3 жирних кислот на кілограм маси немовляти на день. Ще краще, втілення використовує комбінацію n-6 і n-3 жирних кислот при масовому співвідношенні приблизно від 2:1 до приблизно 4:1.

Далі описано спосіб зменшення випадків некротичного ентероколіту у немовлят людини, вищезгаданий спосіб складається з введення немовляті фосфоліпідів яйця у кількості принаймні 1,0мг довголанцюгових n-6 жирних кислот на день. Краще, якщо фосфоліпід яйця містять AA як значну частину n-6 жирних кислот і краще, якщо також містить DHA і/або інші довголанцюгові n-3 жирні кислоти у співвідношеннях, згаданих вище.

Додатковий аспект цього винаходу стосується ентерального введення людині фосфоліпідів, зокрема фосфоліпідів, що містять AA і/або DHA, які легко підвищують рівень жирних кислот AA і DHA в сироватці крові у людей відносно композицій, що містять тригліцериди AA і DHA.

Більш зручним критерієм введення композицій згідно з винаходом є добове введення у мг на кг маси тіла немовляти. У наступній Таблиці представлено основні норми для мінімального, кращого і ідеального цільових рівнів, що відрізняються для кожної композиції, корисної у цьому винаході.

Таблиця А

Добова доза (розрахована на кг маси немовляти)

Компонент	Мінімальн.	Краща	Ще краща	Ідеальна
AA, мг	1	2-60	5-40	10-30
DHA, мг	0,25	0,5-35	1,5-20	3-15
віднош. AA/DHA	0,25	0,5-10	1-8	2-4
Фосфоліпід,	50	60-2400	200-1500	400-1000
мкмоль холін, мкмоль	50	60-1800	150-1200	300-900

Широкий діапазон існує завдяки тому факту, що не всі немовлята, які отримують найбільшу користь від цього винаходу, споживатимуть рівні об'єми суміші для годування. Ті, хто споживатимуть менше, отримують менше кожного інгредієнту. Ідеальний діапазон доз становить приблизно 100ккал. Також існують різні точки зору щодо способів визначення вмісту холіну.

З Таблиці А видно, що найкраща доза - це приблизно в 2-4 рази більше AA, ніж DHA. Також спостерігається, що мінімальна кількість фосфоліпиду і холіну однакова. Це досягається тоді, коли весь фосфоліпід є фосфатидилхоліном. Якщо інші нітроспирти заміщують холін (наприклад, етаноламін, серин або інозитол), відношення кількості холіну та загального фосфоліпиду зменшується.

AA і/або DHA можуть бути введені як окремі компоненти або разом, або в комбінації з іншими

інгредієнтами, такими як протеїн, ліпід, вуглевод, вітаміни і мінерали. Харчова підтримка для немовлят з малою масою при народженні є парентеральною (внутрішньовенне годування) або ентеральною. Таким чином, належна кількість довголанцюгових PUFA може бути включена у розчин для парентерального харчування або додана до загальноприйнятої ентеральної суміші для годування немовлят з малою масою при народженні. Найкраще, якщо спосіб цього винаходу здійснюється через ентеральне введення сумішей для годування немовлят що містить AA і DHA, немовлятам з малою масою при народженні. Така суміш для годування немовлят, крім того, складається з належної кількості вуглеводу і протеїну та належної комбінації мінералів і вітамінів. Як приклад, суміш для немовлят для використання у способах цього винаходу - це модифікована суміш Similac Special Care® (Ross Products Division of Abbott Laboratories, Columbus, Ohio), що описується детально у Прикладі II.

Додатковим аспектом цього винаходу є спосіб підвищення кількості арахідонової кислоти і докозагексаєнової кислоти у сироватці крові людини, вищезгаданий спосіб складається з етапу введення людині вищезгаданої суміші для годування немовлят, що містить AA і DHA у формі фосфоліпідів.

Недавні дослідження заявників цього винаходу показали, що введення довголанцюгових PUFA немовлятам, чутливим до NEC, зменшує захворювання на NEC і може також зменшити рівень або тяжкість NEC. Заявники також виявили, що введення фосфоліпідів з тваринних або рослинних джерел також є ефективним для зменшення захворювання на NEC у популяції немовлят, чутливих до NEC.

Приклад 1

Фосфатид жовтка яйця одержували від Pfanstiehl, Inc. (Waukegan, IL -Catalog No. P-123) і використовували у наступних Прикладах. Вміст жирних кислот і холестерину цього фосфатиду яйця наведений в Таблиці I. Також наведена сума всіх n-3 і всіх n-6 "довголанцюгових" PUFA.

Таблиця 1

Вміст жирних кислот і вміст
холестерину в лецитині жовтка яйця

Жирна кислота	г/100г зразка	
C14:0	0,08	
C16:0	18,83	
C16:1 n-7	0,82	
C16:4	0,21	
C18:0	6,72	
C18:1 n-9	17,36	
C18:2 n-6	9,8	
C20:1 n-9	0,11	
C20:2 n-6		0,24
C20:3 n-6		0,3
C20:4 n-6-арахідонова		4,93
C22:0	0,07	
C22:4 n-6		0,3
C22:5 n-6		1,45
C22:5 n-3	0,09	
C22:6 n-3-докозагексаєнова	1,24	
Холестерин	<0,05	
Bci LCPUFA n-6		7,22
Bci LCPUFA n-3	1,33	

Фахівці розуміють, що конкретна кількість різних жирних кислот, що містяться у ліпіді жовтка яйця, змінюватиметься залежно від породи, дієти і віку курки. Крім того, процедура екстракції, яку застосовували у Pfanstiehl для одержання фосфатиду, використовувалась для одержання результатів у Прикладах в матеріалі, що містить наднизьку кількість холестерину при обробці жирними кислотами, що є дуже корисними у галузі харчування.

Приклад II

У цьому прикладі одержували "експериментальні" і "контрольні" суміші для немовлят, відповідно з фосфатидом яйця Прикладу I та без нього. Контрольна композиція надана Similac Special Care® (Ross Products Division of Abbott Laboratories, Columbus, Ohio) і була одержана з використанням наступного списку інгредієнтів, що містяться у суміші для годування немовлят, яка має склад, наведений у Таблицях II-IV, нижче:

Вода (Kosher), нежирне молоко, гідролізований кукурудзяний крохмаль, лактоза, фракціонована кокосова олія (тригліцериди з середньою довжиною ланцюга), концентрат сироваткового протеїну, соєва олія, кокосова олія, трьохосновний фосфат кальцію, цитрат калію, цитрат натрію, хлорид магнію, аскорбінова кислота, моно- і дигліцериди, соєвий лецитин, карбонат кальцію, ірландський мох, хлорид холіну, сульфат заліза, м-інозитол, таурин, ніацинамід, L-карнітин, ацетат ос-токоферолу, сульфат цинку, пантотенат кальцію, хлорид калію, сульфат міді, рибофлавін і пальмітат вітаміну A, гідрохлорид хлориду тіаміну, гідрохлорид піридоксину, біотин, фолієва кислота, сульфат марганцю, філохінон, вітамін D, селеніт натрію і ціанкобаламін.

Як правило, протеїн, вуглевод, ліпід, вітамін і мінеральні суспензії готують окремо і потім змішують перед гомогенізацією, як у загальному вигляді описано у попередньо зареєстрованих патентах США, які стосуються одержання сумішей для немовлят.

В експериментальній суміші для годування немовлят, фосфатид яйця Прикладу I включали у суміш під час одержання. Спочатку фосфатиди яйця диспергували у воді при 25°C для одержання 8% дисперсії. Одразу перед гомогенізацією дисперсію фосфатиду змішували з протеїном, вуглеводом, вітаміном, мінеральними й іншими ліпідними суспензіями для одержання "експериментальної" суміші для годування немовляти, що

містить композицію, наведену у Таблицях II-IV нижче. Кількість кожного компонента дано "на літр" і "на ккал", оскільки добре відомо у галузі, що одержані суміші для немовлят мають вищу або нижчу калорійну густину, ніж стандартні 20ккал на унцію (28,3г) рідини.

Таблиця II

Компоненти контрольних і експериментальних сумішей для годування немовлят

Переважаючий діапазон Поживна речовина	Одиниці на літр*	Одиниці на 100ккал
Простейші, г	21,9-23,4	2,61-2,88
Жир, г (як описано у Таблиці III нижче)	40,0-46,0	5,24-5,67
Вуглевод, г	84,0-88,0	10,00-10,84
[Попіл, г]	6,7-8,0	0,80-0,99
Всі тверді, реч., г	158,6-165,0	18,88-20,32
Лінолева к-та, г	5,6-12,2	0,67-1,50
		154,76-209,36
Кальцій, мг	1300-1700	
Фосфор, мг	720-970	85,71-119,46
		11,90-20,94
Магній, мг	100-70	
Натрій, мг	349-389	41,55-47-91
		119,05-174,88
Калій, мг	1000-1420	
Хлорид, мг	650-770	77,38-94,83
Залізо, мг	3,0-5,5	0,36-0,68
Цинк, мг	12,0-14,6	1,43-1,80
Мідь, мг	2,0-3,0	0,24-0,37
Марганець, мкг	100-500	11,90-61,58
Йод, мг	0,05- 0,30	0,01-0,04
Селен, мкг	12-29	1,43-3,57
Вітамін А, МО	6000-8000	714,29-985,22
Вітамін D, МО	1200-1580	142,86-194,58
Вітамін Е, МО	35,0-45	4,17-5,54
Вітамін К ₁ , мкг	100-140	11,90-17,24
Вітамін С, мг	350-450	41,67-55,42
Тіамін (В ₁), мг	2,66-4,6	0,32-0,57
Рибофлавін (В ₂), мг	5,03-9,0	0,60-1,11
Піридоксин (В ₆), мг	2,6-3,4	0,31-0,42
Вітамін В ₁₂ , мкг	4,47-9,5	0,53-1,17
Пантотенова кислота, мг	15,4-24,0	1,83-2,96
Фолієва кислота, мкг	340-450	40,48-55,42
Ніацин, мг	40,6-65	4,83-8,00
Біотин, мкг	350-460	41,67-56,65
Холін, мг	81-243	9,64-29,93
М-Інозитол, мг	44,7-61	5,32-7,51
L-Карнітин, мг	35-60	4,17-7,39
Таурин, мг	60-80	7,14-9,85
Енергія (ккал)	812-840	

* допускається 24ккал на унцію (28,3г) рідини.

Наступна Таблиця III описує вміст ліпиду (лише змінного), використаного у контрольних і експериментальних продуктах. Видно, що дві суміші для годування немовлят мають однакову загальну кількість ліпиду, але відрізняються принципово заміною фосфоліпиду яйця на частину тригліцеридів з середньою довжиною ланцюга. Це заміщення дає значно вищу кількість фосфоліпідів і холіну, також як і додаткових довголанцюгових PUFA.

Таблиця III

Ліпіди для контрольних і експериментальних сумішей для годування немовлят

Інгредієнт	Контрольна	Експериментальна
Суміш ліпідів	% по масі	% по масі
МСТ*	50	41
Кокосова олія**	30	30
Соєва олія	20	20
фосфоліпід яйця	0	9(4,0г/л)
як холін		75% з 9%
як етаноламін		20% з 9%
Соевий лецитин	0,45г/л	0,0г/л
Холестерин	Н/В	Н/В ⁺

Всі ліпіди (г/л)	44,1	44,1
------------------	------	------

*МСТ=тригліцериди з середньою довжиною ланцюга

** фракціоновані

+ Н/В=не виявлено

У Таблиці IV наведений склад жирних кислот для контрольних і експериментальних сумішей для годування немовлят. Це є сума компонентів жирних кислот лецитину яйця і суміші для годування немовлят Similac Special Care®

Таблиця IV

Середній вміст жирних кислот у по масі %

Жирні кислоти	Контрольні	Експериментальні
Точка ненасичення	n-3 інші n-6	n-3 інші n-6
6:0-капронова	0,71	0,27
8:0-каприлова	30,56	23,11
10:0-капринова	19,61	16,44
12:0-лауринова	9,69	10,24
14:0-міристинова	3,85	4,08
15:0 і 14:1	0,04	0,01
16:0-		
пальмітоолеїнова	5,51	7,65
16:1-		
пальмітоолеїнова	0,03	0,12
16:2	-	-
17:0-маргарина	0,04	0,09
16:3	-	-
16:4	-	-
18:0-стеаринова	2,68	3,89
18:1 n-9-олеїнова	8,31	11,25
18:2 n-6-лінолева	16,36	18,87
18:3 n-6-ліноленова	2,3	-
18:3 n-3	2,24	2,45
18:4 n-6	-	0,02
20:0-арахідонова	0,12	0,14
20:1 n-9	0,04	0,09
20:2 n-9	0,02	0,02
20:3 n-9	-	0,05
20:4 n-6-AA	-	0,41
20:4 n-3	-	-
20:5 n-3	-	-
22:0-бегенова	0,07	0,12
22:5 n-6	-	0,07
22:5 n-3	-	0,07
22:6 n-3 - DHA	-	0,14
24:0	0,04	0,07
Bci LC PUFA n-3	0	0,21
Bci LC PUFA n-6	0	0,48
Bci n-3	2,24	2,66
Bci n-6	18,66	19,37

Включення фосфатиду яйця привело до 0,21% по масі від загальної суміші ліпідів довголанцюгових n-3 жирних кислот і 0,48% по масі від загальної суміші ліпідів довголанцюгових n-6 жирних кислот. Більш конкретно, 0,14% по масі загальної жирової суміші складала DHA і 0,41% по масі від загальної суміші ліпідів складала AA. При введенні 100ккал/кг/день для 1кг немовляти ця суміш для годування немовлят складала приблизно 22мг AA і приблизно 7мг DHA на день. Звичайно, це співвідношення є лише одним з можливих співвідношень у винаході.

Приклад III

У цьому експерименті були оцінені зміни в процесі зменшення органолептичних недоліків, пов'язаних з використанням фосфоліпідів яйця. Виділення фосфоліпідів яйця, корисних у цьому винаході, часто приводить до фосфатидів яйця, які мають дещо небажані органолептичні властивості для використання у суміші для годування немовлят. Ситуацію можна поліпшити шляхом створення продукту, що не є небажаним для немовляти або для опікуна. Цей процес покращання кінцевого продукту описаний нижче.

Одержували декілька харчових сумішей як у Прикладі II, за винятком того, що 6% по масі жирової суміші складав фосфоліпід яйця, який попередньо підігрівали, використовуючи різноманітні процедури. Фосфоліпід яйця диспергували у порції суміші олій, описаних в Прикладі II, або в порції води. Дисперсії олії були неприйнятними і не могли використовуватись навіть після нагрівання до приблизно 95°C. Диспергування фосфоліпиду у воді з температурою від навколишнього середовища до теплої виконували легко, і таке диспергування є найкращим способом створення водної дисперсії.

Головну партію 3% по масі дисперсії фосфоліпиду яйця одержували змішуванням фосфоліпиду в 90°C воді

протягом приблизно 1 години. Частину цієї дисперсії пропускали: (1) лише через деаератор; (2) лише через вугільний фільтр; (3) деаератор і вугільний фільтр; або (4) без обробки.

Фільтр з активованим вугіллям містив 80 г активованого вугілля, і пристрій для деаерації використовували при середньому вакуумі (15 дюймів (38,1см ртутного стовпчика)). Частини партій пропускали через фільтр 3 рази і один раз через деаератор. Після обох процедур партію пропускали спочатку через фільтр, потім через деаератор. Оброблені партії потім додавали до відповідних харчових сумішей для годування немовлят одразу перед гомогенізацією і пакуванням зразків.

Потім комісія вчених-експертів перевіряла вихідні зразки на "смакові ознаки" (органолептичні властивості). Результати перевірки наведені в Таблиці V.

Таблиця V

Суміш для годування
немовлят з фосфоліпідами жовтка яйця.
Результати органолептичної перевірки.

Смакові ознаки * Обробка Дисперсії	Початкова AA	AAL за 3 місяці
Лише деаерація	AA 1-2,5	AAL 2,5
Лише фільтрація через активоване вугілля	AA 1,5-2	AAL 2,5
Видалення повітря/ фільтрація через активоване вугілля	AA 2	AAL 2,5
Без обробки	AA 2,5-3	AAL 3

* Смакові ознаки:

AA = Арахідонова кислота

AAL = Арахідонова і кислота подовженої дії

+ Співвідношення:

0,5 - дуже слабкі; 1 - слабкі; 1,5 – слабкі-помірні; 2- помірні; 2,5 - помірні-сильні; і 3 - сильні.

Цікавим є те, що найменш ароматичним зразком був той, що містив дисперсію, яку пропускали тільки через деаератор. Дисперсія, яку фільтрували через аератор і фільтр з активованим вугіллям, мала найнижчу оцінку, за винятком контролю (без обробки фосфоліпідної дисперсії).

Приклад IV

Суміші для годування немовлят, одержані згідно з Прикладами II і III, давали немовлятам у дослідженні, що проводилось у Neonatal Nursery of University of Tennessee Newborn Center під керівництвом Dr. Susan E. Carlfson з фінансовою підтримкою від Ross Products Division of Abbott Laboratories (Дослідження AE78), NICHD грант R01-HD31329, і грант National Eye Institute R01-EY08770. До параметрів дослідження належали: ріст, розвиток нейронів і гостроти зору. Довголанцюгові PUFA вважаються фізіологічно важливими для розвитку мозку і ока і швидко акумулюються в тканинах плоду в останній триместр вагітності. Таким чином, передчасно народжені немовлята не виявляють нормальної кількості довголанцюгових PUFA відносно вчасно народжених немовлят.

Критерії зарахування: Основою для зарахування до цього клінічного дослідження є низька маса при народженні, менше, ніж 1500г (діапазон 750-1375г) без ознак серцевих, респіраторних, кишково-шлункових або інших системних захворювань. Немовля також не мало асфіксії при народженні або клінічних ускладнень щодо несумісності груп крові. Матері зарахованих немовлят не мали пренатальних інфекцій з доведеними побічними ефектами на плід. Критерієм виключення вважали факт, коли мати зловживає медичними препаратами. Всі немовлята починали оральне годування на 7 день життя.

Протягом клінічного дослідження всі 120 немовлят реєструвалися на 7 день життя. За виключенням одного немовляти, якого перевели до іншого шпиталю відразу після зарахування (контроль), всі інші немовлята (n-119) доглядалися у тому ж шпиталі. Немовлят зараховували (рандомізовано, навмання) у 1 з 3 груп, дві з яких отримували контрольну суміш для годування немовлят протягом їх госпіталізації, інша отримувала експериментальну суміш для годування немовлят (див. Приклад II). Немовлят, яких втрачали протягом госпіталізації, заміщували іншими немовлятами з цієї групи для лікування. Зважаючи на план дослідження, більшість немовлят годували контрольною сумішшю. Загальна кількість немовлят, яких годували контрольною сумішшю, була більшою ніж вдвічі, ніж кількість немовлят, яких годували експериментальною сумішшю.

Результати: неочікуваним результатом було те, що більше захворювань на некротичний ентероколіт (NEC) спостерігалось в контрольних групах, ніж експериментальних групах. У Таблиці VI наведена загальна кількість народжених згідно з лікуванням (співвідношення контроль/експеримент) і наведена кількість народжених в кожній групі, що мали NEC. NEC вважали присутнім або підозрювали присутність, коли клінічні ознаки і симптоми узгоджувались з цією хворобою, такі як здуття живота, залишки у шлунку, блювання, гем-позитивний стул, присутність слизу у стулі і присутність C-реактивного білку >0,5мг/длітр (Pourcyrous et al., "Significance of Serial C-reactive Protein Responses у Neonatal Infection and Other Diseases", Pediatr., 1993, 92:431-435). NEC був доведений у 15 з контрольних немовлят і лише у 1 з експериментальної групи.

Таблиця VI

Результати клінічного дослідження

	Контроль	Експеримент
NEC*	15	1
Не має NEC	70	33
Всього	85	34

* або підозрюваний на NEC

Статистичний аналіз цих даних з використанням точного тесту Фішера (двосторонній критерій) показав, що кількість немовлят з підтвердженим NEC в контрольній лікувальній групі(ах) була значно вищою ($p=0,039$), ніж кількість немовлят в експериментальній лікувальній групі з NEC.

Приклад V

У цьому експерименті визначали включення AA і DHA у парентеральне (внутрішньовенне) введення харчування. Парентеральний розчин може містити різноманітні компоненти, відомі у галузі, з AA і DHA у формі фосфоліпиду, тригліцеридів або метилових естерів. AA і DHA можуть бути єдиними активними інгредієнтами, змішаними з загальноприйнятими парентеральними носіями і наповнювачами, або, ще краще, AA і DHA включені в парентеральну суміш для годування немовлят з метою доповнення або постачання загальної харчової підтримки немовляти. Типові парентеральні харчові розчини містять кількість ліпиду, що дорівнює приблизно 2г/кг/день. Кількість AA і DHA у ліпідній суміші краще створювати введенням від 10 до 30мг/кг/день AA і 3-15мг/кг/день для DHA.

Приклад VI

У цьому експерименті лецитин яйця у експериментальних сумішах для годування немовлят Прикладу II заміщували на соєвий лецитин у кількості, приблизно в 10 разів більшій, ніж у контрольних сумішах для годування немовлят. Соевий лецитин, як і інші фосфоліпіди, одержані з рослинних джерел, не містить поліненасичених кислот з довгим ланцюгом; проте полярна природа фосфоліпідів й їх здатність до легкого потрапляння у слизову оболонку кишок може надавати захист внутрішній оболонці кишок, таким чином даючи результати, які можна співставити з результатами експериментальних сумішей для годування немовлят Прикладу II. Окрім того, соєвий лецитин містить лінолеву кислоту (18:2 n-6 - дієтично незамінний попередник AA) і ліноленову кислоту (18:3 n-3 - дієтично незамінний попередник DHA).

Приклад VII

У цьому експерименті використання фосфоліпідів, що містять AA і DHA у суміші для немовлят порівнюється з тригліцеридами, що містять AA і DHA. Суміш для годування немовлят Прикладу II порівнюється з такою самою сумішшю для годування немовлят, де фосфоліпід яйця заміщено сумішшю мікробних тригліцеридів, що містять кількість AA і DHA, яку можна співставити з сумішшю з фосфоліпідами яйця.

Здорових, вчасно народжених немовлят зараховували у клінічне дослідження для визначення кількості AA і DHA в сироватці крові після ентерального введення. Очікувалось, що немовлята, яких годували фосфоліпідною сумішшю для годування немовлят, матимуть кількість AA і DHA в сироватці крові, яка більше схожа на кількість у тих немовлят, яких годували грудним молоком, ніж при годуванні контрольною сумішшю для годування немовлят, що містить AA і DHA у формі тригліцеридів. Цей експеримент повинен продемонструвати, що фосфоліпіди, які містять AA і DHA, є кращою формою введення, ніж тригліцериди, що містять AA і DHA. Таким чином, поліпшені ентеральні суміші й способи підвищення кількості AA і DHA в сироватці крові запропоновані в цьому винаході.

Модифікації і альтернативні втілення композицій і способів цього винаходу будуть очевидними для фахівців в цій галузі у світлі вищезгаданого опису. Відповідно, цей опис складений лише як ілюстративний, з метою навчити фахівців тому, як його втілювати. Повний об'єм винаходу, для якого створюється захист, описаний в доданій Формулі.