



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **88918** (13) **C2**  
(51) МПК (2009)  
**A61K 35/20**  
**A61K 31/201** (2006.01)  
**A61K 31/702**  
**A61P 37/08** (2006.01)

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ  
І НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ

## ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД

(54) ДИТЯЧЕ ХАРЧУВАННЯ, ЯКЕ СТИМУЛЮЄ ІМУНІТЕТ

1

(21) a200702905  
(22) 19.08.2005  
(24) 10.12.2009  
(86) PCT/EP2005/008999, 19.08.2005  
(31) 04019856.6  
(32) 20.08.2004  
(33) EP  
(46) 10.12.2009, Бюл.№ 23, 2009 р.  
(72) БЕМ ГЮНТЕР, DE, БЕСРМАНН КРИСТОФЕР, DE, ШТАЛЬ БЕРНД, DE, М'РАБЕТ ЛАУРА, NL, ГА-РССЕН ЙОХАН, NL  
(73) Н.В. НЮТРИСІА, NL  
(56) US 6245379 B1, 12.06.2001  
US 5792501 A, 11.08.1998  
EP 0756828 A, 05.02.1997  
(57) 1. Поживна або фармацевтична композиція у вигляді дитячого харчування, що містить жировий компонент, білковий компонент і вуглеводний компонент, а також включає молочну сироватку і казеїн, яка **відрізняється** тим, що вагове співвідношення казеїну до молочної сироватки складає від 1:1 до 1:2,4, при цьому композиція містить:  
а) щонайменше 3 г аргініну на 100 г білка;  
б) щонайменше 10 мас. % лінолевої кислоти від загального вмісту жирних кислот;  
с) щонайменше 1 мас. % альфа-лінолевої кислоти від загального вмісту жирних кислот;  
д) щонайменше одну довголанцюжкову поліненасичену жирну кислоту в кількості, що перевищує 0,1 мас. %, від загального вмісту жирних кислот, причому вказана довголанцюжкова поліненасичена жирна кислота вибрана з групи, яка складається з докозагексаєнової кислоти, арахідонової кислоти і ейкозапентаєнової кислоти;  
е) 5-25 мас. % щонайменше однієї поліненасиченої жирної кислоти від загального вмісту жирних кислот;  
ф) 2-12 г незасвоюваних олігосахаридів, що мають міру полімеризації від 2 до 100 на 100 г сухої ваги даної композиції; і  
г) кислі олігосахариди з мірою полімеризації від 2 до 100.  
2. Композиція за п. 1, яка **відрізняється** тим, що містить трансгалактоолігосахариди, пектиновий

2

гідролізат і щонайменше один компонент, вибраний із групи, яка складається з фруктоолігосахаридів і інуліну.  
3. Композиція за будь-яким попереднім пунктом, яка **відрізняється** тим, що містить докозагексаєнову кислоту, арахідонову кислоту і ейкозапентаєнову кислоту.  
4. Композиція за будь-яким попереднім пунктом, яка **відрізняється** тим, що містить 2-100 мг цинку на 100 г сухої ваги даної композиції.  
5. Композиція за будь-яким попереднім пунктом, яка **відрізняється** тим, що білковий компонент становить 5-15 ен % ("енергетичних процентів"), жировий компонент становить 30-60 ен %, а вуглеводний компонент становить 25-75 ен %.  
6. Композиція за будь-яким попереднім пунктом, яка **відрізняється** тим, що вона додатково містить між 5 і 100 мг нуклеотидів і/або між 5 і 100 мг нуклеозидів на 100 г сухої ваги даної композиції.  
7. Композиція за будь-яким попереднім пунктом, яка **відрізняється** тим, що містить 2-6 г треоніну на 100 г білкового компонента.  
8. Композиція за будь-яким попереднім пунктом, яка **відрізняється** тим, що містить докозагексаєнову кислоту в кількості, що перевищує 0,1 мас. %, від загального вмісту жирних кислот, і арахідонову кислоту в кількості, що перевищує 0,1 мас. %, від загального вмісту жирних кислот, і тим, що вагове співвідношення арахідонова кислота/докозагексаєнова кислота складає від 0,25 до 25.  
9. Застосування композиції за будь-яким із пп. 1-8 при промисловому виробництві дитячого харчування або лікарського засобу, що застосовується для немовляти при лікуванні і/або профілактиці запального захворювання, діареї, екземи і/або atopічного дерматиту.  
10. Застосування за п. 9, у якому запальне захворювання являє собою алергічну реакцію.  
11. Застосування за п. 9 або 10, у якому дана композиція вводиться в організм ентерально або перорально.

(19) **UA** (11) **88918** (13) **C2**

Даний винахід стосується харчової або фармацевтичної композиції, яка містить жировий компонент, білковий компонент і вуглеводний компонент, молочну сироватку і казеїн, а також винахід стосується застосування вказаної композиції.

Годування грудьми оптимальне для розвитку немовляти і захисту його від інфекцій. Проте не всі немовлята можуть отримувати грудне молоко. Тому прагнуть створити дитячу суміш, яка імітує функції жіночого грудного молока. Крім необхідної схожості складу дитячого харчування і грудного молока, бажано також відтворити захисну дію грудного молока. Доведено, наприклад, що грудне молоко володіє захисною дією від інфекцій і алергічних реакцій.

У відомих дитячих сумішах співвідношення казеїну і молочної сироватки наближається до цього співвідношення у грудному молоці, наскільки це можливо. Вважається, що це співвідношення визначає оптимальне зростання немовляти. Однак досі існують деякі недоліки, пов'язані з використанням жуйних тварин як джерела білка молочної сироватки. Ці суміші з переважанням сироваткового білка не надають оптимального захисту від інфекцій. Застосування таких дитячих сумішей приводить до затримки розвитку кишкової флори немовляти порівняно з немовлятами, які знаходяться на грудному вигодовуванні, особливо в перші три-чотири тижні життя. Флора немовлят, що отримують суміші з переважанням сироваткового білка, містить практично такі ж бактерійні роди, як і флора немовлят, що знаходяться на грудному вигодовуванні, однак, кількість корисних бактерій знижена у немовлят, що отримують суміші з переважанням сироваткового білка порівняно з немовлятами, що знаходяться на грудному вигодовуванні. Більш того флора немовлят, що отримують суміші, які містять переважно сироваткові білки, що добуваються з коров'ячого молока, містить підвищену кількість патологічних бактерій, таких як клостридії та ешерієбактерії. Таким чином, вигодовування немовляти сумішшю з переважанням сироваткового білка приводить до формування „субоптимальної кишкової флори“.

Оскільки немовлята в перші тижні життя мають недорозвинену імунну систему і недорозвинений кишечник, розвиток субоптимальної кишкової флори може призвести до інфекції, діареї, алергічної реакції і запалення. Головним чином немовлята у віці від 0 до 30 днів, які отримують суміш, що містить в основному сироватковий білок коров'ячого молока, схильні до цих ризиків, оскільки їх фекальна флора найбільш відрізняється від фекальної флори немовлят, які знаходяться на грудному вигодовуванні.

Завдання даного винаходу полягає у створенні харчової або фармацевтичної композиції, яка знижує ризики, пов'язані із застосуванням дитячого харчування, в якій переважає молочна сироватка.

Це завдання вирішується композицією за п. 1 формули винаходу.

Композиція за винаходом характеризується тим, що вагове співвідношення казеїну до сироватки складає від 1:1 до 1:2,4 і що ця композиція містить:

- а) щонайменше 3г аргініну на 100г білка;
- б) щонайменше 10мас. % лінолевої кислоти (LA) від загального вмісту жирних кислот;
- в) щонайменше 1мас. % альфа лінолевої кислоти (ALA) від загального вмісту жирних кислот;
- г) щонайменше одну довголанцюжкову поліненасичену жирну кислоту (LCPUFA) в кількості, що перевищує 0,1мас. %, від загального вмісту жирних кислот, причому вказана довголанцюжкова поліненасичена жирна кислота (LCPUFA) вибрана з групи, яка складається з докозагексаєнової кислоти (DHA), арахідонової кислоти (ARA) і ейкозапентаєнової кислоти (EPA);
- д) 5-25мас. % щонайменше однієї поліненасиченої жирної кислоти від загального вмісту жирних кислот; і

е) 2-12г незасвоєваних олігосахаридів, що мають міру полімеризації від 2 до 100, на 100г сухої маси композиції.

Дана композиція стимулює дозрівання імунної системи і розвиток кишечника. Композиція за винаходом може застосовуватися для профілактики і/або лікування у немовлят запальних захворювань, таких як інфекція, діарея і алергія. Дана композиція:

- стимулює розвиток "оптимальної кишкової флори" (тобто флори, подібної до флори при грудному годуванні);
- стимулює розвиток шлунково-кишкового тракту, запобігаючи у такий спосіб надходженню таких алергенів, як хвороботворні бактерії, токсини і харчові алергени, в загальний кровообіг;
- стимулює дозрівання імунної системи, що забезпечує кращий захист на випадок, коли алерген, патоген або токсин проникне через кишковий бар'єр і/або попаде в загальний кровообіг;
- і водночас забезпечує оптимальне харчування немовляти.

Вважається, що фізіологічні процеси, які лежать в основі розвитку "кишкової флори низького ризику", розвитку кишечника і дозрівання імунної системи є тісно взаємопов'язаними і взаємозалежними. Отже, дитяча суміш повинна містити ті інгредієнти у відповідному співвідношенні, які стимулюють розвиток кишечника, дозрівання імунної системи і розвиток кишкової флори низького ризику. Оптимальна комбінація інгредієнтів краще захищає немовля від алергенів. Дана композиція забезпечує таку оптимальну комбінацію інгредієнтів. Внаслідок того, що інгредієнти часто діють на різні механізми, інгредієнти описаної композиції діють синергічно, забезпечуючи немовляти підвищену опірність і зменшення випадків запального захворювання, зокрема алергії.

Описувана композиція містить олігосахариди з низькою мірою полімеризації. Ці олігосахариди стимулюють формування кишкової флори з низьким ризиком, зокрема знижують кількість (потен-

ційно) патологічних кишкових бактерій, таких як клостридія, ентеробактерії і/або ентерококи, і стимулюють колонізацію біфідобактерій і лактобактерій. Біфідобактерії і лактобактерії стимулюють розвиток кишечника, наприклад, за допомогою стимуляції синтезу фукоолігосахаридів епітеліальними клітинами кишечника. Найкраща стимуляція досягається за допомогою введення суміші різних олігосахаридів, зокрема суміші олігосахаридів, що включає в себе і нейтральні, і кислі олігосахариди. Ці олігосахариди також мають "пряму" дію на імунну систему за допомогою зниження Th2 відповіді і збільшення Th1 відповіді. Було виявлено, що описувану композицію, яка включає в себе олігосахариди, можна з успіхом застосовувати для відновлення порушеного балансу відповідей Th1/Th2 і для лікування захворювань, пов'язаних з наявністю дисбалансу Th1/Th2, таких як аутоімунна реакція і алергічна реакція.

Проте, навіть при поєднанні олігосахаридів з сироватковими білками, які походять з нелюдських джерел, немовлята, які отримують таку композицію, схильні до підвищених ризиків інфекційних захворювань протягом першого місяця життя. Отже, потрібне подальше поліпшення розвитку імунної системи і/або кишечника.

Несподівано було виявлено, що LCPUFA фактично зменшують епітеліальну трансклітинну проникність. Всупереч тому, що повідомлялося Usami et al (Clinical Nutrition 2001, 20(4): 351-359). було виявлено, що C18 і C20 поліненасичені жирні кислоти, зокрема ейкозапентаєнова кислота (EPA; C20:5 n3), докозагексаєнова кислота (DHA; C22:6 n3) і арахідонова кислота (AA; C20:4), здатні ефективно знижувати проникність щільного міжклітинного з'єднання епітелію кишечника, таким чином, стимулюють розвиток кишечника. Отже, описувана композиція успішно містить LCPUFA. Крім того, незамінні жирні кислоти ліноленова кислота (C18:2 n6) і альфа-ліноленова кислота (C18:3 n3) необхідні і для розвитку імунної системи, і для розвитку кишечника. У ще одному надзвичайно переважному варіанті описувана композиція також містить гамма-ліноленову кислоту (GLA; C18:3 (n-6)). Внаслідок цього, описувана композиція містить ліноленову кислоту і альфа-ліноленову кислоту.

Необов'язково, але надзвичайно переважно, що описувана композиція також містить нуклеотиди і/або нуклеозиди. Нуклеотиди стимулюють розвиток кишечника, зменшують кількість випадків діареї і стимулюють імунну систему. Немовлята, які отримують суміші, доповнені нуклеотидами, порівняно з немовлятами, які отримують суміші без нуклеотидів, мають зростаючі титри антитіл після впливу антигеном і стимуляції антигеном активності клітин-кілерів. (Carver et al Acta Paediatrica, (1999) Vol. 88, No. Sup 430, pp. 83-88).

Композиція за винаходом містить білки молочної сироватки, які добуваються з нелюдського джерела, а також довголанцюжкові поліненасичені жирні кислоти і олігосахариди.

Як було вже сказано вище, даний винахід забезпечує композицію, яка містить молочну сироватку і казеїн у ваговому відношенні казеїну до сироватки від 1:1 до 1:2,4 і щонайменше 3г аргініну на 100г білка.

Діапазон співвідношення казеїн/сироватка від 1:1 до 1:2,4 охоплює всі значення, які лежать всередині цього діапазону, і, отже, наступні значення співвідношень казеїну до сироватки такі: 1:1, 1:1,1, 1:1,2, 1:1,3, 1:1,4, 1:1,5, 1:1,6, 1:1,7, 1:1,7, 1:1,9, 1:2,0, 1:2,1, 1:2,2, 1:2,3, і 1:2,4 в переважному варіанті здійснення співвідношення казеїн:сироватка становить 1:1,4-1,6, навіть більш переважно біля 1:1,5 (40:60).

Переважно аргінін представлений у кількості від 3 до 8г аргініну на 100г білкового компонента. Цей діапазон виявляє всі значення і зокрема всі цілі значення, які лежать у цьому діапазоні, наприклад 3, 4, 5, 6, 7 і 8г. У даній композиції переважно міститься 4-5г аргініну на 100г білка.

Представлені в композиції LCPUFA вибрані з групи, що включає в себе DHA, AA і EPA. Це означає, що до складу можуть входити одна або дві, або три вказані довголанцюжкові поліненасичені жирні кислоти.

Діапазон від 5 до 25мас. %, встановлений для поліненасичених жирних кислот, охоплює всі значення, що попадають у цей діапазон.

Дана композиція не включає в себе композицію, що має у своєму складі жіноче грудне молоко. Даний спосіб не включає в себе спосіб застосування композиції, що має у своєму складі жіноче грудне молоко. Отже, переважно описуваний спосіб включає в себе застосування композиції, яка має у своєму складі речовину, що має нелюдське походження, переважно волокнисті вуглеводи, жир і/або білок, переважно рослинного, тваринного, бактерійного або синтетичного походження. Переважно всі компоненти і складові, що входять до складу композиції за винаходом, отримані з джерел, які не відносяться до людського роду.

#### Макронутрієнти

Описану композицію можна успішно застосовувати як дитяче харчування. Така дитяча суміш переважно містить жировий компонент, білковий компонент і вуглеводний компонент і переважно вводиться в організм немовляти в рідкій формі.

Переважний варіант здійснення даного винаходу відноситься до композиції і зокрема до дитячого харчування, що містить 30-60en% ліпідів, 5-15en% білка і 25-75en% вуглеводів. Переважно дана композиція містить 5-15en% білка, 30-60en% жиру і 25-65en% вуглеводів. Більш переважно, дана композиція містить 43-53en% ліпідів, 7-11en% білка і 43-53en% вуглеводів (en% є скороченням від "енергетичний процент" і показує внесок кожного компонента в загальну калорійність композиції).

Білковий компонент описуваного дитячого харчування містить казеїн і сироватку в зазначеному ваговому відношенні. Казеїн і/або сироватка переважно отримані з молока ссавця, що не відноситься до людського роду. Для забезпечення оптимального харчування немовляти в даній композиції міститься аргінін у нормованій кількості. Термін "білок" або "білковий компонент" у даному контексті означає загальний білок, поліпептиди, пептиди й амінокислоти. Аргінін є незамінним у даній композиції. Він знижує поширеність запальних станів кишечника (Amin et al Journal of Pediatrics, (2002) Vol. 140, No. 4, pp. 425-431). Більш того, аргінін стимулює імунну систему і потрібен для

підтримання здорової імунної системи (Niever et al, Biomedicine & Pharmacotherapy, (2002) Vol. 56, No. 10, pp. 471-482). І казеїн, і сироватка містять аргінін, але в більшості молочних джерел (наприклад, сироватка і казеїн коров'ячого молока) казеїн і сироватка забезпечують недостатню кількість аргініну. Переважно щонайменше частина аргініну додана в композицію у формі вільної амінокислоти, наприклад, L-аргініну, або у формі її солі або ефіру, при цьому вільна амінокислота переважна. В описуваній композиції переважно міститься 75-500мг аргініну у формі вільної амінокислоти на 100г сухого дитячого харчування, більш переважно 150-400мг аргініну у формі вільної амінокислоти на 100г сухого дитячого харчування.

Вуглеводи в описуваній композиції переважно забезпечені в основному лактозою, тобто переважно щонайменше 75мас. % загальних перетравлюваних вуглеводів забезпечені лактозою, переважно щонайменше 90мас. %.

Білок з низьким вмістом треоніну

Дитяча суміш з переважанням молочної сироватки, отримана з джерела білка, що не відноситься до людського роду, порівняно з грудним молоком звичайно має високий вміст біодоступного треоніну. Жіноче молоко містить відносно невеликі кількості біодоступного треоніну. Таким чином, у рівні техніки забезпечені технологічні прийоми для зменшення вмісту треоніну в сумішах з переважанням молочної сироватки (наприклад, див. EP 1048226, WO 01/11990 і EP 741522). Застосування дитячого харчування з переважанням молочної сироватки зі зниженим вмістом треоніну забезпечує *in vivo* вміст треоніну, сумірний з таким вмістом у немовлят, що знаходяться на грудному вигодовуванні. Описувана композиція переважно являє собою композицію з низьким вмістом треоніну, тобто композицію, в якій міститься 2-6г треоніну на 100г білка. Низький вміст треоніну, наприклад, може бути досягнутий за допомогою використання продуктів з молочної сироватки, отриманих ультрафільтрацією або деяких кислих сироваткових продуктів.

Вміст незамінних жирних кислот

Описувана композиція містить щонайменше 10мас. % лінолевої кислоти (LA) від загального вмісту жирних кислот, переважно між 11 і 20мас. %, більш переважно між 12 і 15мас. %. Описувана композиція містить щонайменше 1мас. % альфа-лінолевої кислоти (ALA) від загального вмісту жирних кислот, переважно між 1,5 і 4мас. % ALA, навіть більш переважно між 2 і 2,5мас. %. Для зменшення навантаження на кишечник вагове співвідношення LA/ALA переважно між 2 і 10, більш переважно між 5 і 7,5.

Описувана композиція переважно містить між 0,05 і 5мас. % гамма-лінолевої кислоти (GLA) від загального вмісту жирних кислот, переважно між 0,1 і 1мас. %,.

Вміст довголанцюжкових поліненасичених жирних кислот

Описувана композиція містить щонайменше одну довголанцюжкову поліненасичену жирну кислоту з 20 або 22 атомами вуглецю (LCPUFA) в кількості, що перевищує 0,1мас. %, від загального вмісту жирних кислот, вибрану з групи, яка скла-

дається з докозагексаєнної кислоти (DHA), арахідонової кислоти (AA) і ейкозапентаєнної кислоти (EPA). Переважно дана композиція містить DHA в кількості, що перевищує 0,1мас. %, від загального вмісту жирних кислот, і AA в кількості, що перевищує 0,1мас. %, від загального вмісту жирних кислот.

Переважно щонайменше одна LCPUFA з цієї групи включена в дану композицію в кількості між 0,15 і 1мас. % від загального вмісту жирних кислот. Переважно щонайменше дві з цих LCPUFA представлені у кількості між 0,15 і 1мас. % від загального вмісту жирних кислот у даній композиції. Переважно дана композиція містить AA і DHA, навіть більш переважно AA, DHA і EPA.

Вміст AA переважно не перевищує 5мас. %, більш переважно не перевищує 1мас. %, більш переважно між 0,1 і 0,6мас. % від загального вмісту жирних кислот. В описану композицію успішно додані EPA і/або DHA для збереження балансу дії AA, наприклад, зниження потенційної протизапальної дії метаболітів AA. Надлишок метаболітів AA може спричинити запалення. Таким чином, в даній композиції переважно містяться AA, EPA і/або DHA, де вагове співвідношення AA/DHA переважно складає вище 0,25, переважно вище 0,5, більш переважно вище 1. Співвідношення AA/DHA переважно нижче 25, переважно нижче 10. Вагове співвідношення AA/EPA переважно між 1 і 100, більш переважно між 5 і 20. Вагове співвідношення EPA/DHA переважно 1 або нижче, більш переважно нижче 0,5.

У переважному варіанті здійснення, вміст LCPUFA не перевищує 3мас. % від загального вмісту жирних кислот, оскільки це необхідно для імітації грудного молока якнайближче. З цієї ж причини описувана композиція переважно містить менше 1г омега-3 LCPUFA на 100г жирних кислот, більш переважно між 0,1 і 0,75г на 100г жирних кислот. Вміст омега-6 LCPUFA переважно не перевищує 2г на 100г жирних кислот і складає переважно між 0,1 і 0,75г на 100г жирних кислот.

Дані LCPUFA й інші жирні кислоти можуть бути забезпечені у вигляді вільних жирних кислот, у вигляді тригліцеридів, у вигляді фосфоліпідів або як суміш однієї або декількох із вищеперелічених форм. Описувана композиція успішно містить щонайменше одну з кислот AA і DHA у фосфоліпідній формі, оскільки це зменшує поширеність запальних захворювань кишечника. Описувана композиція переважно містить між 0,1 і 5мг AA з фосфоліпиду на грам загального жиру і між 0,1 і 5мг DHA з фосфоліпиду на грам загального жиру. Переважно AA і/або DHA щонайменше частково представлені у формі фосфатидилхоліну (ФХ) і/або фосфатидилетаноламіну (ФЕ), наприклад AA і/або DHA, що містять ФЕ і/або ФХ.

Мононенасичена жирна кислота

Описувана харчова суміш для забезпечення адекватного харчування переважно також містить омега-9 (n-9) жирну кислоту (переважно олеїнову кислоту, 18:1). Переважно дана композиція забезпечує щонайменше 15мас. % n-9 жирної кислоти від загального вмісту жирних кислот, більш переважно щонайменше 25 мас. %. Вміст n-9 жирних кислот переважно складає менше 80мас. % від

загального вмісту жирних кислот. Для забезпечення адекватного харчування в описуваній композиції переважне вагове співвідношення насичена жирна кислота/поліненасичена жирна кислота між 2 і 5. Переважне вагове співвідношення мононенасичена жирна кислота/насичена жирна кислота між 0,5 і 2.

Описувана композиція переважно містить між 5 і 25мас. % поліненасичених жирних кислот від загального вмісту жирних кислот, переважно між 10 і 20мас. %.

Описувана композиція далі може бути вдосконалена шляхом включення стеаридонової кислоти (C18:4n3). Дана композиція переважно містить між 0,05 і 2мас. % стеаридонової кислоти від загального вмісту жирних кислот, навіть більш переважно між 0,1 і 1мас. %.

#### Олігосахариди

Описувана композиція містить 2-12г незасвоєваних олігосахаридів з мірою полімеризації (DP) 2 і 100 на 100г сухої маси композиції, переважно між 3 і 8г більш переважно між 5 і 7,5г. Після перетворення порошку на рідину і введення в організм немовляти рідкої суміші ці кількості незасвоєваних олігосахаридів забезпечують бажані ефекти, не викликаючи кишковий дискомфорт. Відповідні незасвоєвані олігосахариди не перетравлюються або тільки частково перетравлюються у кишечнику під впливом кислот або травних ферментів, представлених у верхніх відділах травного тракту людини (тонкий кишечник і шлунок), але не зазнають ферментації кишковою флорою людини. Ці олігосахариди - переважно водорозчинні (розчинність, що перевищує 1г олігосахариду на 1 літр води). Середнє значення DP даного олігосахариду переважно менше 40, навіть більш переважно 20. Оптимально, описувана композиція містить між 2 і 12г олігосахаридів зі значенням DP 2-60, більш переважно зі значенням DP 2-10 (тобто сума маси тих нуклеотидів зі значенням DP 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 і 10).

Відповідно до ще одного варіанту здійснення щонайменше один олігосахарид, який входить до складу описуваної композиції, вибраний із групи, яка складається з інуліну, фруктоолігосахаридів, неперетравлюваних декстринів, галактоолігосахаридів (у тому числі трансгалактоолігосахаридів), ксилоолігосахаридів, арабіноолігосахаридів, глюкоолігосахаридів, манноолігосахаридів, лакто-N-неотетраози, фукоолігосахаридів (що містять щонайменше одну фукозну сахаридну одиницю), кислих олігосахаридів (див. нижче, наприклад, олігосахариди уронової кислоти, такі як пектиновий гідролізат) і їх сумішей.

Переважно писувана композиція містить щонайменше один компонент, вибраний із групи, яка складається з інулінів і фруктоолігосахаридів, і щонайменше один компонент, вибраний із групи, яка складається з галактоолігосахаридів (у тому числі трансгалактоолігосахаридів) і пектинового гідролізату. У дуже переважному варіанті здійснення, дана композиція містить 2-12г олігосахаридів з DP від 2 до 10 і β-зв'язаних сахаридів галактози і глюкози, більш переважно

трансгалактоолігосахариди (тобто  $[gal]_n\text{-glu}$ , де n дорівнює від 2 до 10). В особливо переважному варіанті здійснення описувана композиція містить трансгалактоолігосахариди (тобто  $[gal]_n\text{-glu}$ , де n дорівнює від 2 до 10), пектиновий гідролізат і щонайменше один із компонентів, вибраний із групи, яка складається з фруктоолігосахаридів та інуліну. Запропонованим олігосахаридом також може бути олігосахарид, отриманий із тваринного молока, суміш олігосахаридів, отримана з тваринного молока, або фукозильований олігосахарид (олігосахарид, що містить щонайменше одну одиницю фукозного сахариду).

Для подальшого поліпшення розвитку кишки уздовж усього кишечника, в описуваній композиції переважно 10мас. % олігосахаридів мають DP від 2 до 5 (тобто 2, 3, 4 і/або 5), і щонайменше 5мас. % мають DP від 10 до 100. Переважно щонайменше 50мас. %, більш переважно щонайменше 75мас. % олігосахаридів мають DP від 2 до 10 (тобто 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 і/або 10), тому що вважається, що вони працюють уздовж усієї клубової кишки і проксимальної та середньої частини товстої кишки, і тому що знижується ваговий процент олігосахаридів, необхідних для введення до складу композиції для досягнення бажаного ефекту.

Переважні вагові співвідношення:

(олігосахариди з DP 2-5):(олігосахариди з DP 6-9); і

(олігосахариди з DP 10-100):(олігосахариди з DP 6-9).

І те, й інше більше 1.

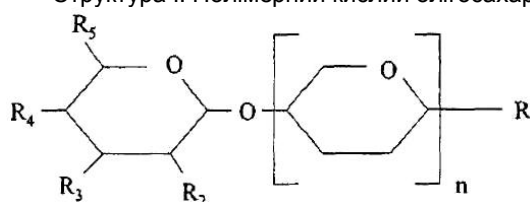
Переважно обидва вагових співвідношення більше 2, навіть більш переважно більше 5.

Описувана композиція переважно містить 0,5-10г галактоолігосахаридів з DP між 2 і 10 на 100г сухої ваги композиції, більш переважно від 1 до 5г. Переважним галактоолігосахаридом є трансгалактоолігосахарид, оскільки він максимально відповідає олігосахаридам грудного молока. Даний винахід переважно включає в себе 0,5-10г фруктополісахариду з DP між 10 і 60 на 100г сухої ваги композиції, більш переважно між 1 і 5г. Термін "фруктополісахарид" відноситься до вуглеводного полісахариду, що містить щонайменше 10 β-зв'язаних фруктозних одиниць.

#### Кислі олігосахариди

Для додаткового поліпшення цілісності бар'єра. Дана композиція містить кислі олігосахариди з DP між 2 і 100, переважно від 2 до 60. Термін кислі або кислотні олігосахариди відноситься до олігосахаридів, які містять щонайменше одну кислотну групу, вибрану з групи, яка складається з N-ацетилнейрамінової кислоти, N-гліколоїлнейрамінової кислоти, вільної або етерифікованої карбонової кислоти, сірчаної кислоти групи і фосфорнокислої групи. Кислий олігосахарид переважно містить одиниці уронової кислоти (а саме полімер уронової кислоти), більш переважно одиниці галактуронової кислоти. Дана композиція переважно містить між 0,1 і 10г кислих олігосахаридів на 100г сухої ваги даної композиції, більш переважно між 1 і 6г на 100г сухої ваги.

Структура I: Полімерний кислий олігосахарид



де R переважно вибраний з групи, яка складається з водню, гідрокси або кислотної групи, переважно гідрокси; і

щонайменше один із радикалів групи, яка складається з R2, R3, R4 і R5, представляє N-ацетилнейрамінову кислоту, N-глікоїлнейрамінову кислоту, вільну або етерифіковану карбонову кислоту, сірчаноокислу групу і фосфорнокислу групу, і залишені R2, R3, R4 і R5 представляють гідрокси і/або водень. Переважно один із радикалів групи, яка складається з R2, R3, R4 і R5, представляє N-ацетилнейрамінову кислоту, N-глікоїлнейрамінову кислоту, вільну або етерифіковану карбонову кислоту, сірчаноокислу групу або фосфорнокислу групу, і радикали, що залишилися, представляють гідрокси або водень. Ще більш переважно один із радикалів групи, яка складається з R2, R3, R4 і R5, представляє вільну або етерифіковану карбонову групу, а R2, R3, R4 і R5, що залишилися, представляють гідрокси і/або водень; і

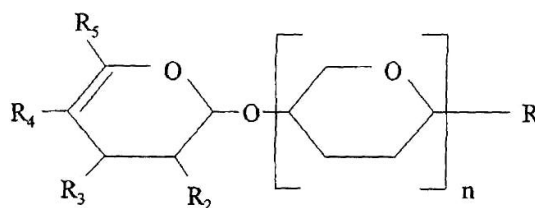
n є цілим числом і відноситься до числа гексозних одиниць (також див. нижче Ступінь полімеризації), які можуть бути будь-якою гексозною одиницею. Відповідно, n є цілим числом між 1-5000. Переважно гексозна одиниця (одиниці) являє собою одиницю уронової кислоти.

Найбільш переважно R1, R2 і R3 представляють гідрокси, R4 представляє водень, R5 представляє карбонову кислоту, n є будь-яким числом між 1 і 250, переважно між 1 і 10, і гексозною одиницею є галактуронова кислота.

Виявлення, вимірювання й аналіз переважних кислих олігосахаридів, які використовуються у способі за винаходом, описані у заявників раніше виданої патентної заявки, що відноситься до кислих олігосахаридів, тобто міжнародної патентної публікації WO 00/160378.

Переважно кислий олігосахарид має одну, переважно дві кінцеві одиниці уронової кислоти, які можуть бути вільними або етерифікованими. Переважно кінцева одиниця уронової кислоти вибрана з групи, яка складається з галактуронової кислоти, глюкуронової кислоти, галактуронової кислоти, ідурунової кислоти, манурунової кислоти, рибурунової кислоти й альтрурунової кислоти. Ці одиниці можуть бути вільними або етерифікованими. У ще більш переважному варіанті здійснення, кінцева гексозна одиниця має подвійний зв'язок, який переважно розташовується між позиціями C4 і C5 термінальної гексозної одиниці. Переважно одна з термінальних гексозних одиниць містить подвійний зв'язок. Термінальна гексоза (наприклад, уронова кислота) переважно має структуру, що відповідає наступній структурі II.

Структура II: Переважна термінальна гексозна кислотна група



де R переважно вибраний із групи, яка складається з водню, гідрокси або кислотної групи, переважно гідрокси (див. вище); і

щонайменше один компонент із групи, яка складається з R2, R3, R4 і R5, представляє N-ацетилнейрамінову кислоту, N-глікоїлнейрамінову кислоту, вільну або етерифіковану карбонову кислоту, сірчаноокислу групу і фосфорнокислу групу, і R2, R3, R4 і R5, що залишилися, представляють гідрокси і/або водень. Переважно один із радикалів групи, яка складається з R2, R3, R4 і R5, представляє N-ацетилнейрамінову кислоту, N-глікоїлнейрамінову кислоту, вільну або етерифіковану карбонову кислоту, сірчаноокислу групу або фосфорнокислу групу, і R2, R3, R4 і R5, що залишилися, представляють гідрокси і/або водень. Навіть більш переважно один із радикалів групи, яка складається з R2, R3, R4 і R5, представляє вільну або етерифіковану карбонову кислоту, а R2, R3, R4 і R5, що залишилися, представляють гідрокси і/або водень; і n є цілим числом і означає кількість гексозних одиниць (також див. нижче Ступінь полімеризації), які можуть бути будь-якою гексозною одиницею. Відповідно n є цілим числом між 1-5000, означаючи кількість гексозних одиниць, причому вказані гексозні одиниці переважно є одиницями уронової кислоти, навіть більш переважно є одиницями галактуронової кислоти. Групи карбонових кислот у цих одиницях можуть бути вільними або (частково) етерифікованими і переважно, щонайменше частково, метильованими.

Найбільш переважно, R2 і R3 представляють гідрокси, R4 представляє водень, і R5 представляє вільну або етерифіковану карбонову кислоту.

Кислі олігосахариди, що використовуються в даному винаході, переважно отримані з пектину, пектату, альгунату, хондроїтину, гіалуринових кислот, гепарину, гепарану, бактерійних вуглеводів, сіалогліканів, фукоїдану, фукоолігосахаридів або карагенану, більш переважно з пектину і/або альгінату. Переважно використовують пектиновий гідролізат.

#### Нуклеотиди

Дана композиція переважно також містить між 5 і 100мг нуклеозидів і/або між 5 і 100мг нуклеотидів на 100г сухої ваги даної композиції, більш переважно між 5 і 50мг. Нуклеотиди і/або нуклеозиди додатково стимулюють імунну систему, діючи синергічно з іншими інгредієнтами описуваної композиції.

#### Цинк

Цинк є поживним мікроелементом, необхідним для зростання і розвитку імунної функції. Дефіцит цинку погіршує загалом імунну функцію і стійкість до інфекції. Тому описувана композиція успішно містить цинк, переважно в кількості 2-100мг цинку на 100г сухої ваги даної композиції, навіть більш переважно щонайменше 4-25мг цинку на 100г су-

хої ваги даної композиції. Маса цинку розрахована як елементарний цинк.

#### Рідкий склад

Описувана композиція переважно знаходиться в порошковій або рідкій формі, або таблетованій формі, де вказана таблетка має масу між 5 і 25г. Переважно описувана композиція забезпечена в порошкоподібній формі, оскільки це збільшує термін придатності. Описувану композицію переважно застосовують перорально в рідкій формі. Перед застосуванням описуваної композиції її переважно змішують з рідиною, переважно з водою. У вигляді рідини композицію переважно застосовують, поки вона має температуру 35-40°C (переважно біля 37°C), рідкий склад переважно готують у такий спосіб:

Спосіб а: змішують воду температурою нижче 30°C і композицію, відповідно до будь-кого з пунктів 1-10, з ваговим співвідношенням вода:композиція 1-10:1; і підігрівають суміш, отриману на етапі а), до температури між 35 і 50°C; або

Спосіб б: змішують воду температурою нижче 60°C і композицію, відповідно до будь-кого з пунктів 1-10, з ваговим співвідношенням вода:композиція 1-10:1; і охолоджують суміш, отриману на етапі а), до температури між 35 і 40°C. Спосіб а) більш підходить для отримання рідкої суміші з порошку, в той час як спосіб б) більш підходить для отримання рідкої суміші з таблеток.

Нерегулярність випорожнення (наприклад, тверде випорожнення, недостатній об'єм випорожнення, діарея) є головною проблемою у багатьох немовлят і хворих людей, які отримують рідку їжу.

Було виявлено, що проблеми з випорожненням можна зменшити за допомогою застосування описуваної композиції в рідкій формі, що має об'ємність між 50 і 500мОсм/кг, більш переважно між 100 і 400мОсм/кг, найбільш переважно між 220 і 300мОсм/кг.

У зв'язку з вищевикладеною проблемою діареї, також важливо те, що рідка їжа не має надмірної щільності калорій, оскільки це є причиною вираженого кишкового стресу. Однак дана суміш необхідна для забезпечення достатньої кількості калорій для харчування немовляти. Таким чином, рідка їжа переважно має щільність калорій між 0,5 і 0,9ккал/мл, переважно між 0,6 і 0,8ккал/мл.

#### Застосування

Описувана композиція успішно застосовується у немовлят у віці від 0 до 2 років. Описувана композиція також успішно використовується в способі забезпечення потреби в поживних речовинах у недошених немовлят (немовлята, народжені до 37 тижнів вагітності). У переважному варіанті здійснення даний винахід відноситься до способу виготовлення немовлят у віці від 0 до 30 днів.

Описувану композицію можна успішно використовувати для лікування або профілактики захворювань, при яких причиною розвитку захворювання є недорозвиток імунної системи і/або кишкового бар'єра. Описувану композицію можна таким чином використовувати для лікування або профілактики діареї або алергічної реакції, зокрема у немовлят у віці від 0 до 2 років. Описувана композиція зокрема придатна для лікування і/або профілактики алергічного риніту, алергічного кон'юнктивіту,

алергічного дерматиту, atopічного дерматиту і/або харчової алергії.

Описувана композиція переважно надана у вигляді розфасованого порошку або у вигляді розфасованої готової до вживання суміші. Для запобігання псуванню продукту, розмір упаковки готової до вживання суміші переважно не перевищує об'єму одного застосування, наприклад, переважно не перевищує 500мл; і розмір упаковки описуваної композиції в формі порошку переважно не перевищує 250 прийомів. Відповідний розмір упаковки для порошкової форми становить 2000г або менше, переважно 1000г або менше.

Розфасований продукт забезпечений етикеткою, на якій споживачеві ясно і недвозначно роз'яснено застосування вказаного продукту відповідно до одного з вище або нижчезазначених призначень, які охоплює даний винахід. Такі етикетки можуть містити, наприклад, такі слова, як "стимулює розвиток кишечника і/або імунної системи", "зменшує алергічну реакцію", "знижує стрес", "підвищує опірність" або "зменшує чутливість" або подібні слова.

Таким чином, суттю даного винаходу є застосування композиції, як описано тут, для виробничого отримання харчової суміші або лікарського засобу для застосування у ссавця для лікування і/або профілактики запального захворювання, діареї, екземи і/або atopічного дерматиту.

Крім того, суттю даного винаходу є використання описаної тут композиції для виробничого отримання лікарського засобу для використання у способі лікування і/або профілактики запального захворювання, діареї, екземи і/або atopічного дерматиту, вказаний спосіб включає в себе застосування вказаної композиції ентерально або перорально у ссавців і зокрема у немовлят. У переважному варіанті здійснення даний спосіб відноситься до способу лікування і/або профілактики інфекцій, причому вказаний спосіб включає в себе застосування описаної композиції.

Винахід додатково ілюструється наступними прикладами:

#### Приклад 1: Дитяче харчування

Рідке дитяче харчування, отримане за допомогою змішування 13,9г порошку з водою до отримання 100мл готового продукту, в 100мл вказаного рідкого продукту міститься:

Енергія:	66ккал
Білок:	8en%
1,3г (включаючи 0,6г казеїну; 0,8г сироватки; 0,072г L-аргініну)	
Перетравлювані вуглеводи:	44en%
7,4г (включаючи 7,3г лактози)	
Жир:	48en%
3,5г (включаючи 0,41г лінолевої кислоти; 0,08г α-лінолевої кислоти; 0,012г арахідонової кислоти; 0,002г ейкозапентаєнової кислоти; 0,006г докозагексаєнової кислоти; 1,4г олеїнової кислоти)	

Волокна: 0,8г (включаючи 0,05г фруктополісахариду (Raftiline HP™, Orafit, Tienen, Belgium); 0,55г трансгалактоолігосахаридів (Vivinal-GOS™ (Borculo Domo Ingredients, Netherlands); 0,20г пектинового гідролізату, отриманого як описано в EP 1373543, приклад 1.

Нуклеотиди: 0,89мг Цитидин-5-монофосфату;  
0,55мг Уридин-5-монофосфату;  
0,82мг Аденозин-5-монофосфату;  
0,20мг Гуанозин-5-монофосфату;  
0,34мг Інозин-5-монофосфату.  
Обсмолюваність: 300мОсмоль/л

У композиції додатково містяться холін (6мг/100мл) і таурин (6,3мг/100мл); мінерали і мікроелементи (в тому числі цинк 2мг/100мл) і вітаміни в кількостях, що відповідають міжнародним стандартам для дитячої молочної суміші.

#### Приклад 2:

Упакована дитяча молочна суміш відповідно до прикладу 1, де упаковка забезпечена етикеткою із зазначенням того, що застосування даної суміші підходить для запобігання або лікуванню алергічної реакції.

#### Приклад 3:

Експериментальна модель

Дія раціону, що включає в себе кислі олігосахариди, за бажанням у поєднанні з нейтральними олігосахаридами, тестували за реакцією гіперчутливості сповільненого типу (ГЧСТ), що є параметром Th1 імунологічної відповіді і визначається за допомогою вимірювання збільшення набряку вуха після локальної антигенної стимуляції.

Використовували кислі олігосахариди (AcOI), з середнім значенням DP між 2 і 10, отримували за допомогою способу, описаного в міжнародній публікації WO 02/42484 (див. приклад 1). Досліджували раціони, що містять 1мас. %, 2,5мас. %, 5мас. % і 10мас. % AcOI від загальної ваги раціону. Використали суміш нейтральних олігосахаридів (GF), що містить галактоолігосахариди (GOS) (Vivinal-GOS™ (Borculo Domo Ingredients, Netherlands) і фруктоолігосахариди (FOS) (Raftiline HP™, Orafiti, Tienen, Belgium), у ваговому відношенні GOS:FOS, що дорівнює 9:1. Вивчали раціони, що містять 1, 2,5 і 5мас. % GF від загальної ваги раціону. Вплив комбінації кислот і нейтральних олігосахаридів (GF і AcOI) вивчали з використанням раціону, що містить 1мас. % GF і 1мас. % AcOI від загальної ваги раціону.

Всі параметри представлені в процентах від контрольних значень, тобто відносні значення у групі, що отримувала раціон, доповнений олігосахаридами, у порівнянні з групою, що отримувала контрольний раціон (без олігосахаридів).

#### Тварини і раціони

Самиць мишей C57Bl/6 у віці 6 тижнів (Harlan Nederland BV, Horst, the Netherlands) розміщували групами в умовах звичайного 12-годинного світло-темнового режиму. Розмір групи становив 10 тварин у групі і 3 тварин у групі негативного контролю. Тварини отримували напівсинтетичні раціони (Research Diet Services, Wijk bij Duurstede, the Netherlands). Контрольні раціони були виготовлені відповідно до AIN93G специфікаціями (Reeves et al (1993) Development and Testing of the AIN93 purified diets for rodents: results on growth kidney calcification and bone mineralisation in rats and mice. J Nutrition 123 (11): 1923-31), раціони з додаванням олігосахаридів основані на цих специфікаціях. Вміст вуглеводів у доповнених раціонах зберігали постійним за допомогою заміщення загальних вуглеводів на олігосахариди у ваговому відношенні.

Окремі вуглеводні компоненти заміняли, відповідаючи їх нормальному співвідношенню в раціоні. Вуглеводи в нормальному раціоні складаються з крохмалю (40% від загальної ваги), кукурудзяного крохмалю (13,2%), сахарози (10%) і целюлози (5%).

#### Схема вакцинації

Вакцинації починали після періоду від двох до чотирьох тижнів після адаптації до нових жител і дієт. У день 0 збирали зразки крові до вакцинації. У день 1 проводили першу вакцинацію, підшкірно. Через три тижні збирали зразки крові (день 21) і проводили бустер-вакцинацію (день 22). Через дев'ять днів після бустер-ін'єкції (день 31) вимірювали товщину основи вуха, використовуючи мікрометр для вимірювання зовнішніх розмірів Digimatic (Mitutoyo, Veenendaal, the Netherlands), і реакцію гіперчутливості сповільненого типу (ГЧСТ) індукували за допомогою ін'єкції у вушну раковину миші розчину антигену в/ш (внутрішньошкірно). Через 24 години після цього моменту (день 32) визначали реакцію ГЧСТ, брали зразок крові і мишей умертвляли. Селезінки ізолювали і готували для повторної стимуляції ex-vivo.

Вакцини складалися зі 100мкл п/ш (підшкірно) ін'єкції суміші 1:1 розчину антигену і ад'юванту Stimune (Specol, Cedi-diagnostics BV, Lelystad, the Netherlands). Розчин антигену являв собою розведення 1:100 вакцини Інфлувак 2002/2003 (Solvay Pharmaceuticals, Weesp, the Netherlands) в PBS. Інфлувак є тривалентною білковою вакциною, що містить 3×30мкг/мл гемаглютиніну трьох різних штамів грипу.

Для визначення реакцій ГЧСТ мишам в обидва вуха підшкірно вводили як стимул ГЧСТ 25мкл діалізованої вакцини Інфлувак.

#### Клітинні культури

Спленоцити виділяли з селезінок, використовуючи дрібнопористого сита (Becton Dickinson, Erembodegem, Belgium). Еритроцити лізували за допомогою інкубування протягом 5 хвилин на льоду. Після відмивання культуральним середовищем, що не містить фенолового червоного, підраховували клітини (Coulter Counter, Beckman Coulter, the Netherlands) і зберігали замороженими. Для стимуляції культури обробляли 0,1мкг/мл діалізованої вакциною Інфлувак. Клітини висівали в 96-лункові планшети в розведенні 1×10<sup>6</sup> клітин на лунку. Культуральне середовище перебувало з RPMI-1640 з буфером HEPES і 2мМ L-глутаміну (Invitrogen, Merelbeke, Belgium) з 10% фетальною телячою сироваткою (FCS). Культури інкубували протягом 5 днів при 37°C і 5% CO<sub>2</sub>. Потім збирали надосадкові рідини і заморожували при -80°C до проведення аналізу. Клітинну проліферацію вимірювали в паралельних культурах по включенню <sup>3</sup>H-тимідину, який був доданий до культур в останні 18 годин в концентрації 0,4мкКи/лунку. Через 5 днів, використовуючи харвестер Filtermate (Perkin Elmer, Zaventem, Belgium), клітини збирали і підраховували лічильником клітин Micro-Beta (Perkin Elmer, Zaventem, Belgium). Радиоактивний розпад вимірювали протягом 1 хвилини на лунку, і кількість імпульсів за хвилину (cpm) реєстрували як міру швидкості проліферації.



Цитокини досліджували в надосадових рідинах культур, стимульованих Інфлуваком. IL-2, IL-5, IL-10 і IFN-гамма досліджували на системі Bio-Plex, використовуючи спеціально змішані гранули для згаданих цитокинів (Bio-Rad, Veenendaal, the Netherlands). Цитокини досліджували відповідно до інструкцій фірми-виробника. IL-4 вимірювали за допомогою ІФА, використовуючи набір Pharmingen OptEIA mouse IL-4 (Becton Dickinson, Erembodegem, Belgium), відповідно до інструкцій фірми-виробника.

#### Результати

##### Реакція ГЧСТ на кислі олігосахариди

Раціони, що містять AcOI в дозуванні 1мас. %, 2,5мас. % і 5мас. %, індукували статистично значуще підвищення реакції ГЧСТ, демонструючи дозозалежне підвищення (див. Таблицю 1). Спостережена дія характеризує успішне застосування кислих олігосахаридів у способі за винаходом.

Таблиця 1

Ваговий процентний вміст кислих олігосахаридів у раціоні	Реакція ГЧСТ (%)
0 (контроль)	100
1	122
2,5	136*
5	140*

\* означає достовірну відмінність ( $P < 0,05$ ) з контролем

##### Реакція ГЧСТ на кислі і нейтральні олігосахариди

Поєднання 1мас. % GF, 2,5мас. % GF і суміш 1мас. % GF 1мас. % AcOI спричинює статистично значуще підвищення реакції ГЧСТ (див. Таблицю 2). Спостережена дія характеризує успішне застосування незасвоєваних олігосахаридів, зокрема комбінації кислих і нейтральних олігосахаридів, у способі за винаходом.

Таблиця 2

Мас. % кислих олігосахаридів у раціоні	Реакція ГЧСТ (%)
0 (контроль)	100
1мас. % GF	132*
1мас. % AcOI	122
2,5мас. % GF	129*
2,5мас. % AcOI	136*
1мас. % GF і 1мас. % AcOI	159*

\* означає достовірну відмінність ( $P < 0,05$ ) з контролем

##### Інфлувак-специфічна проліферація кислих олігосахаридів

Застосування раціонів, що містять 2,5мас. % і 5мас. % кислих олігосахаридів (AcOI), індукує значне зниження дії на Інфлувак-специфічну проліферацію ex vivo (див. Таблицю 3). Спостережена дія характеризує успішне застосування кислих олігосахаридів у способі за винаходом.

Інфлувак-специфічна проліферація суміші кислих і нейтральних олігосахаридів

Застосування комбінації 1мас. % GF і 1мас. % AcOI індукує значне зменшення ефектів на антиген-специфічну проліферацію (див. Таблицю 3). Оскільки ефект на реакції ГЧСТ значно поліпшується при застосуванні раціонів, що містять тільки кислі або нейтральні олігосахариди, ці результати характеризують синергетичну дію, забезпечену застосуванням кислих і нейтральних олігосахаридів. Спостережена дія характеризує успішне застосування комбінації кислих і нейтральних олігосахаридів у способі за винаходом. Знижена проліферація є характерною для зменшення Th2 відповіді, урівноваження дії Th1/Th2, при використанні даного способу.

Таблиця 3

Мас. % олігосахаридів у раціоні	Інфлувак-специфічна проліферація (%)
0 (контроль)	100
1мас. % GF	100
1мас. % AcOI	92
2,5мас. % AcOI	61*
5мас. % AcOI	54*
1мас. % GF і 1мас. % AcOI	50*

\* означає достовірну відмінність ( $P < 0,05$ ) з контролем

##### Th1/Th2 баланс: цитокинові профілі після застосування кислих олігосахаридів

Цитокинові профілі вимірювали в надосадових рідинах культур Інфлувак-специфічних спленоцитів. Результати представлені в процентах у порівнянні зі значеннями вакцинованої контрольної групи (яка не одержує олігосахариди). У порівнянні з контрольними, застосування раціонів, що містять 2,5мас. % і 5мас. % AcOI, приводило до зменшення Th2-зв'язаних цитокинів IL-4, IL-5 і IL-10, у той час як Th1-зв'язаний цитокин IL-2 був підвищений, і IFN- $\gamma$  не був значно знижений (див. Таблицю 4). Ці результати є характерними для Th1/Th2 врівноважувальної дії кислих олігосахаридів і характерними для успішного застосування кислих олігосахаридів у способі за винаходом, наприклад, при лікуванні і/або профілактиці захворювань, для яких характерний відносно низький Th1 імунітет.

##### Th1/Th2 баланс: цитокинові профілі після застосування кислих і нейтральних олігосахаридів

У порівнянні з контрольними, застосування комбінації 1мас. % GT і 1мас. % AcOI приводило до підвищення Th2-зв'язаних цитокинів IL-4, IL-5 і IL-10, у той час як Th1-зв'язані цитокини IL-2 і IFN- $\gamma$  не були знижені (див. Таблицю 4, де дані представлені в процентах у порівнянні зі значеннями у вакцинованій контрольній групі (яка не одержує олігосахариди). Ці результати є характерними для Th1/Th2 врівноважувальної дії комбінації кислих і нейтральних олігосахаридів і характеризують успішне застосування кислих олігосахаридів у способі за винаходом, наприклад, при лікуванні і/або профілактиці захворювань, для яких характерний відносно низький Th1 імунітет. Зокрема співвідношення IL-4/IFN відображає баланс Th2/Th1. Інши-

ми словами, знижене співвідношення характеризує стимуляцію Th1 і/або інгібування Th2, і в будь-

якому випадку характеризує Th1-Th2 врівноважувальну дію описуваних олігосахаридів.

Таблиця 4

Мас. % олігосахаридів в раціоні	Цитокін					
	IFN- $\gamma$ (%)	IL2 (%)	IL10 (%)	IL4 (%)	IL5 (%)	співвідношення IL4/IFN- $\gamma$
0 (контроль)	100	100	100	100	100	100
1мас. % АсОІ	100	196*	70	83	72	85
2,5мас. % АсОІ	75	116	58*	55	66	75
5мас. % АсОІ	69	161*	44*	33*	56*	51*
1мас. % GF і 1мас. % АсОІ	93	123	45*	44*	55*	45*

\* означає достовірну відмінність ( $P < 0,05$ ) з контролем