

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 736 313**

51 Int. Cl.:

A23L 33/17 (2006.01)

A61K 38/01 (2006.01)

A61K 38/07 (2006.01)

A61K 38/08 (2009.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **11.03.2014 PCT/US2014/023608**

87 Fecha y número de publicación internacional: **25.09.2014 WO14150558**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **11.03.2014 E 14717284 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **24.04.2019 EP 2983531**

54 Título: **Composiciones nutricionales que contienen un componente peptídico con propiedades antiinflamatorias y usos de las mismas**

30 Prioridad:

15.03.2013 US 201313833094

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

27.12.2019

73 Titular/es:

**MJN U.S. HOLDINGS LLC (100.0%)
225 North Canal Street, 25th Floor
Chicago, Illinois 60606, US**

72 Inventor/es:

**HONDMANN, DIRK;
VAN TOL, ERIC A.F.;
GROSS, GABRIELE;
SCHOEMAKER, MARIEKE H. y
LAMBERS, TEARTSE TIM**

74 Agente/Representante:

ELZABURU, S.L.P

ES 2 736 313 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Composiciones nutricionales que contienen un componente peptídico con propiedades antiinflamatorias y usos de las mismas

Campo técnico

5 La presente descripción se refiere a composiciones nutricionales que comprenden un componente peptídico, en las que el componente peptídico comprende una combinación de péptidos seleccionados. En ciertas realizaciones, las composiciones nutricionales reducen una respuesta inflamatoria cuando se administran a un sujeto. Más específicamente, las composiciones nutricionales descritas en el presente documento pueden reducir la producción de citocinas proinflamatorias, tales como la interleucina-17 (en lo sucesivo "IL-17"). Las composiciones nutricionales
10 descritas en el presente documento pueden formularse para sujetos adultos y pediátricos.

Antecedentes de la técnica

El documento US2006/286252 se refiere a una fórmula para lactantes con bajo contenido de lactosa y parcialmente hidrolizada que puede reducir o prevenir los síntomas de alergia a los alimentos. El documento US2006/286208 describe un proceso para preparar un hidrolizado parcial de proteínas que se puede usar en una composición
15 nutricional para mejorar o prevenir los síntomas de alergia alimentaria.

Las citocinas son proteínas de señalización celular, inmunomoduladoras, que son secretadas por una variedad de tipos de células y se utilizan ampliamente para la comunicación intercelular. Casi todas las células nucleadas, pero especialmente las células endoteliales y epiteliales y sus macrófagos residentes, son potentes productoras de citocinas. Las citocinas proinflamatorias incluyen interleucina-12 ("IL-12"), interleucina-11 ("IL-11"), interleucina-17 ("IL-17"), interleucina-18 ("IL-18"), interleucina-5 ("IL-5"), interleucina-4 ("IL-4"), interferón-gamma ("IFN- γ "), interleucina-8 ("IL-8"), factor de necrosis tumoral alfa ("TNF- α "), factor de necrosis tumoral beta ("TNF- β "), interleucina 6 ("IL-6"), interleucina-1 ("IL-1"), interleucina-20 ("IL-20"), interleucina-33 ("IL-33"), factor inhibidor de leucocitos ("LIF"), oncostatina M ("OSM"), factor neurotrófico ciliar ("CNTF"), factor de crecimiento transformante beta ("TGF- β "), colonia de granulocitos-macrófagos ("GM-CSF"). En particular, la IL17 es una citocina que actúa como mediador en las reacciones de tipo retardada al aumentar la producción de quimiocinas en varios tejidos para reclutar monocitos y neutrófilos en el sitio de la inflamación. La IL-17 es producida por células T auxiliares y es inducida por IL-23, lo que resulta en daños tisulares destructivos en reacciones de tipo retardado. La IL-17 funciona como una citocina proinflamatoria que responde a la invasión del sistema inmunológico por patógenos extracelulares e induce la destrucción de la matriz celular del patógeno.
20

Se han dado a conocer funciones inmunorreguladoras para la familia de citocinas IL-17, quizás debido al hecho de que las citocinas IL-17 inducen muchas moléculas de señalización inmune. La IL-17 participa en la inclusión y mediación de respuestas proinflamatorias. Además, la IL-17 está asociada con respuestas alérgicas, ya que induce la producción de muchas otras citocinas, que incluyen, entre otras, IL-6, B-CSF, GM-CSF, IL-1 β , TGF- β , TNF- α , quimiocinas, que incluyen IL-8, GRO- α y MCP-1, y prostaglandinas, como PGE₂. La IL-17 incluye la producción de estos compuestos proinflamatorios en una variedad de tipos de células que incluyen fibroblastos, células endoteliales, células epiteliales, queratinocitos y macrófagos.
30

Debido a su capacidad para inducir la respuesta inflamatoria, la IL-17 se ha asociado con muchas enfermedades relacionadas con el sistema inmune y autoinmune. Las afecciones inflamatorias mediadas por la IL-17 incluyen asma, alergias, afecciones de la piel como dermatitis, psoriasis y eczema, enfermedad inflamatoria intestinal y artritis. Los medicamentos tradicionales que se usan para tratar enfermedades autoinmunes intentan detener la inflamación que tiene lugar en el ataque autoinmune. Sin embargo, muchos de estos medicamentos también suprimen la capacidad del sistema inmunitario para combatir las infecciones y tienen, potencialmente, muchos efectos secundarios graves. Además, la respuesta inflamatoria desempeña un papel importante en la aparición de ciertas enfermedades neonatales e infantiles.
40

Por consiguiente, existe la necesidad de composiciones nutricionales seguras pero eficaces que reduzcan la respuesta inflamatoria en un sujeto. Más particularmente, existe la necesidad de fórmulas para lactantes que reduzcan la respuesta inflamatoria en un lactante y, por lo tanto, reduzcan la aparición de ciertas enfermedades neonatales e infantiles sin alterar sustancialmente la capacidad del sistema inmunitario para combatir infecciones, y que no produzcan efectos secundarios no deseados al consumirlas.
45

Descripción de la invención

En resumen, la presente descripción se refiere, en una realización, a una composición nutricional que comprende una fuente de carbohidratos, una fuente de equivalente proteico y una fuente de grasa, en donde del 20% al 80% de la fuente de equivalente proteico incluye un componente peptídico que comprende los péptidos individuales de SEQ ID NO 4, SEQ ID NO 13, SEQ ID NO 17, SEQ ID NO 21, SEQ ID NO 24, SEQ ID NO 30, SEQ ID NO 31, SEQ ID NO 32, SEQ ID NO 51, SEQ ID NO 57, SEQ ID NO 60 y SEQ ID NO 63; y el 20% al 80% de una fuente de equivalente proteico comprende una proteína intacta, una proteína parcialmente hidrolizada o una combinación de las mismas para su uso en la reducción de la producción de citocinas proinflamatorias en un sujeto.
50

En ciertas realizaciones, la composición nutricional es una composición nutricional pediátrica, tal como una fórmula para lactantes o una leche de crecimiento, una composición nutricional para adultos o un suplemento nutricional.

5 Las composiciones nutricionales descritas en el presente documento son capaces de reducir una respuesta proinflamatoria en un sujeto. Por ejemplo, cuando se administra a un sujeto, la composición nutricional reduce la producción de citocinas proinflamatorias, tales como la interleucina 12 ("IL-12", "IL-17"), la interleucina 5 ("IL-5"), la interleucina 4 ("IL-4"), el interferón-gamma ("IFN- γ "), la interleucina 8 ("IL-8"), el factor de necrosis tumoral alfa ("TNF- α "), la interleucina 6 ("IL-6") y la interleucina ("IL-1").

10 Se debe entender que tanto la descripción general anterior como la siguiente descripción detallada presentan realizaciones de la invención y pretenden proporcionar una visión o marco general para comprender la naturaleza y el carácter de la invención como se reivindica. La descripción sirve para explicar los principios y operaciones del objeto reivindicado. Otras características y ventajas de la presente descripción serán fácilmente evidentes para los expertos en la técnica tras una lectura de la siguiente descripción.

Breve descripción de los dibujos

15 La Fig. 1 ilustra la secreción de citocinas proinflamatorias de IL12p70 por células dendríticas humanas primarias activadas expuestas a caseína extensamente hidrolizada.

La Fig. 2 ilustra la secreción de citocinas proinflamatorias de IL12p70 por células dendríticas humanas primarias activadas expuestas a una fracción mayor de 500 Da de caseína extensamente hidrolizada.

La Fig. 3 ilustra la secreción de citocinas proinflamatorias de Interferón-gamma por células dendríticas humanas activadas expuestas a caseína extensamente hidrolizada.

20 La Fig. 4 ilustra la secreción de citocinas proinflamatorias de interferón gamma por células dendríticas humanas primarias activadas expuestas a una fracción mayor de 500 Da de caseína extensamente hidrolizada.

La Fig. 5 ilustra la secreción de citocinas proinflamatorias de la interleucina-8 por células dendríticas humanas activadas expuestas a caseína extensamente hidrolizada.

25 La Fig. 6 ilustra la secreción de citocinas proinflamatorias de la interleucina-8 por células dendríticas humanas primarias activadas expuestas a una fracción mayor de 500 Da de caseína extensamente hidrolizada.

La Fig. 7 ilustra la secreción de citocinas proinflamatorias del factor de necrosis tumoral alfa por células dendríticas humanas activadas expuestas a caseína extensamente hidrolizada.

La Fig. 8 ilustra la secreción de citocinas proinflamatorias del factor de necrosis tumoral alfa por células dendríticas humanas primarias activadas expuestas a una fracción mayor de 500 Da de caseína extensamente hidrolizada.

30 La Fig. 9 ilustra la secreción de citocinas proinflamatorias de la interleucina-6 por células dendríticas humanas activadas expuestas a caseína extensamente hidrolizada.

La Fig. 10 ilustra la secreción de citocinas proinflamatorias de la interleucina-6 por células dendríticas humanas primarias activadas expuestas a una fracción mayor de 500 Da de caseína extensamente hidrolizada.

35 La Fig. 11 ilustra la secreción de citocinas proinflamatorias de la interleucina-1 β por células dendríticas humanas activadas expuestas a caseína extensamente hidrolizada.

La Fig. 12 ilustra la secreción de citocinas proinflamatorias de la interleucina-1 β por células dendríticas humanas activadas expuestas a una fracción mayor de 500 Da de caseína extensamente hidrolizada.

La Fig. 13 muestra la secreción de factor de necrosis tumoral alfa de macrófagos humanos primarios activados cuando se exponen a caseína extensamente hidrolizada.

40 La Fig. 14 ilustra la secreción de factor de necrosis tumoral alfa de macrófagos humanos primarios activados cuando se exponen a una fracción mayor de 500 Da de caseína extensamente hidrolizada.

La Fig. 15 ilustra la secreción de interleucina-1 (IL1) en el íleon de ratones NOD, ratones BALB/C y ratones NOD alimentados con una dieta de caseína extensamente hidrolizada.

45 La Fig. 16 ilustra la secreción de interleucina-18 (IL18) en el íleon de ratones NOD, ratones BALB/C y ratones NOD alimentados con una dieta de caseína extensamente hidrolizada.

La Fig. 17 ilustra la secreción de interleucina-6 (IL6) en el íleon de ratones NOD, ratones BALB/C y ratones NOD alimentados con una dieta de caseína extensamente hidrolizada.

La Fig. 18 ilustra la secreción de interleucina-17 (IL17) en el íleon de ratones NOD, ratones BALB/C y ratones NOD alimentados con una dieta de caseína extensamente hidrolizada.

La Fig. 19 ilustra la secreción de IFN-gamma de células T de ganglios linfáticos que drenan al intestino de ratones NOD, ratones BALB/C y ratones NOD alimentados con una dieta de caseína extensamente hidrolizada.

5 La Fig. 20 ilustra la secreción de interleucina-4 de células T de ganglios linfáticos que drenan al intestino de ratones NOD, ratones BALB/C y ratones NOD alimentados con una dieta de caseína extensamente hidrolizada.

La Fig. 21 ilustra la secreción de interleucina-17 de células T de ganglios linfáticos que drenan al intestino de ratones NOD, ratones BALB/C y ratones NOD alimentados con una dieta de caseína extensamente hidrolizada.

10 La Fig. 22 ilustra la secreción de citocinas proinflamatorias de interleucina-12p40 de macrófagos de ratón expuestos a caseína extensamente hidrolizada, caseína extensamente hidrolizada filtrada no estéril y una fracción mayor de 500 Da de caseína extensamente hidrolizada.

La Fig. 23 ilustra la secreción de citocinas proinflamatorias de interleucina-1 β de los macrófagos de ratón expuestos a caseína extensamente hidrolizada, caseína extensamente hidrolizada filtrada no estéril y una fracción mayor de 500 Da de caseína extensamente hidrolizada.

15 La Fig. 24 ilustra la secreción de citocinas proinflamatorias de interleucina-6 de los macrófagos de ratón expuestos a caseína extensamente hidrolizada, caseína extensamente hidrolizada filtrada no estéril y una fracción mayor de 500 Da de caseína extensamente hidrolizada.

20 La Fig. 25 ilustra la secreción de citocinas proinflamatorias del factor de necrosis tumoral alfa de los macrófagos de ratón expuestos a caseína extensamente hidrolizada, caseína extensamente hidrolizada filtrada no estéril y una fracción superior a 500 Da de caseína extensamente hidrolizada.

La Fig. 26 ilustra la secreción de citocinas proinflamatorias de interleucina-12p40, interleucina-1 β , interleucina-6 y del factor de necrosis tumoral-alfa de macrófagos de ratón expuesto a caseína extensamente hidrolizada, caseína extensamente hidrolizada filtrada no estéril y una fracción mayor de 500 Da de caseína extensamente hidrolizada.

Mejor modo de llevar a cabo la invención

25 Ahora se hará referencia en detalle a las realizaciones de la presente invención, uno o más ejemplos de las cuales se exponen a continuación. Cada ejemplo se proporciona a modo de explicación de la composición nutricional de la presente descripción y no es una limitación. De hecho, será evidente para los expertos en la técnica que pueden realizarse diversas modificaciones y variaciones a la presente descripción sin apartarse del alcance de la misma. Por ejemplo, las características ilustradas o descritas como parte de una realización, pueden utilizarse con otra realización para producir aún otra realización.

30 Por lo tanto, se pretende que la presente descripción cubra las modificaciones y variaciones que estén dentro del alcance de las reivindicaciones adjuntas y sus equivalentes. Otros objetos, características y aspectos de la presente descripción se describen o son evidentes a partir de la siguiente descripción detallada. Un experto en la técnica entenderá que la presente es una descripción de realizaciones ejemplares solamente y no pretende limitar los aspectos más amplios de la presente invención.

35 "Composición nutricional" significa una sustancia o formulación que satisface al menos una parte de los requerimientos de nutrientes de un sujeto. Los términos "nutricional (es)", "fórmula(s) nutricional(es)", "nutricional(es) enteral(es)" y "suplemento(s) nutricional(es)" se emplean como ejemplos no limitativos de la(s) composición(es) nutricional(es) en toda la presente descripción. Además, "composición(es) nutricional (es)" puede referirse a líquidos, polvos, geles, pastas, sólidos, concentrados, suspensiones o formas listas para usar de fórmulas enterales, fórmulas orales, fórmulas para lactantes, fórmulas para sujetos pediátricos, fórmulas para niños, leches de crecimiento y/o fórmulas para adultos.

El término "enteral" significa que se suministra a través o dentro del tracto gastrointestinal o digestivo. La "administración enteral" incluye alimentación oral, alimentación intragástrica, administración transpilórica o cualquier otra administración en el tracto digestivo.

45 La "administración" es más amplia que la "administración enteral" e incluye la administración parenteral o cualquier otra vía de administración por la cual una sustancia se introduce en el cuerpo del sujeto.

50 El término "alimento médico" se refiere a las composiciones enterales que están formuladas o destinadas al control dietético de una enfermedad o trastorno. Un alimento médico puede ser un alimento para ingestión oral o alimentación por sonda (sonda nasogástrica), se puede etiquetar para el control dietético de un trastorno médico específico, enfermedad o afección para la cual existen requisitos nutricionales distintivos, y se puede usar bajo supervisión médica.

El término "péptido", como se utiliza en el presente documento, describe cadenas moleculares lineales de aminoácidos, que incluyen moléculas de cadena única o sus fragmentos. Los péptidos descritos en este documento

5 incluyen no más de 50 aminoácidos totales. Los péptidos pueden formar además oligómeros o multímeros que consisten en al menos dos moléculas idénticas o diferentes. Además, los peptidomiméticos de tales péptidos en los que los aminoácidos y/o enlaces peptídicos han sido reemplazados por análogos funcionales están también comprendidos por el término "péptido". Dichos análogos funcionales pueden incluir, entre otros, todos los aminoácidos conocidos distintos de los 20 aminoácidos codificados por genes, como la selenocisteína.

10 El término "péptido" también puede referirse a péptidos modificados naturalmente en los que la modificación se efectúa, por ejemplo, mediante glicosilación, acetilación, fosforilación y modificación similar que son bien conocidas en la técnica. En algunas realizaciones, el componente peptídico se distingue de una fuente de proteína también descrita en el presente documento. Además, los péptidos pueden producirse, por ejemplo, de forma recombinante, semisintética, sintética u obtenida a partir de fuentes naturales, como después de la hidrolización de proteínas, que incluyen pero no se limitan a la caseína, todo según los métodos conocidos en la técnica.

15 El término "grado de hidrólisis" se refiere al grado en que los enlaces peptídicos se rompen mediante un método de hidrólisis. Por ejemplo, la fuente de equivalente proteico de la presente descripción puede, en algunas realizaciones, comprender una proteína que tenga un grado de hidrólisis no superior al 40%.

El término "parcialmente hidrolizado" significa que tiene un grado de hidrólisis que es mayor del 0% pero menor del 50%.

El término "extensamente hidrolizado" significa que tiene un grado de hidrólisis que es mayor o igual al 50%.

20 El término "distribución de masa molar" cuando se emplea en referencia a una proteína hidrolizada o un hidrolizado de proteínas pertenece a la masa molar de cada péptido presente en el hidrolizado de proteínas. Por ejemplo, un hidrolizado de proteínas que tiene una distribución de masa molar de más de 500 Daltons significa que cada péptido incluido en el hidrolizado de proteínas tiene una masa molar de al menos 500 Dalton. Por consiguiente, en algunas realizaciones, los péptidos descritos en la Tabla 1 y la Tabla 2 derivan de un hidrolizado de proteínas que tiene una distribución de masa molar de más de 500 Daltons. Para producir un hidrolizado de proteínas que tiene una distribución de masa molar de más de 500 Daltons, un hidrolizado de proteínas puede someterse a ciertos procedimientos de filtración o cualquier otro procedimiento conocido en la técnica para eliminar péptidos, aminoácidos y/u otro material proteico que tenga una masa molar de menos de 500 Daltons. Para los fines de esta descripción, se puede usar cualquier método conocido en la técnica para producir el hidrolizado de proteínas que tiene una distribución de masa molar de más de 500 Dalton.

30 El término "equivalente proteico" o "fuente de equivalente proteico" incluye cualquier fuente de proteína, como la soja, el huevo, el suero de leche o la caseína, así como las fuentes no proteicas, como los péptidos o los aminoácidos. Además, la fuente de equivalente proteico puede ser cualquiera de las utilizadas en la técnica, por ejemplo, leche descremada, proteína de suero, caseína, proteína de soja, proteína hidrolizada, péptidos, aminoácidos y similares. Las fuentes de proteína de leche bovina útiles en la práctica de la presente descripción incluyen, pero no se limitan a, polvos de proteína de leche, concentrados de proteína de leche, aislados de proteína de leche, sólidos de leche sin grasa, leche sin grasa, leche en polvo sin grasa, proteína de suero, aislados de proteína de suero, concentrados de proteína de suero, suero dulce, suero ácido, caseína, caseína ácida, caseinato (por ejemplo, caseinato de sodio, caseinato de calcio y sodio, caseinato de calcio), proteínas de soja, y cualquier combinación de las mismas. La fuente de equivalente proteico puede, en algunas realizaciones, comprender proteína hidrolizada, que incluye proteína parcialmente hidrolizada y proteína extensamente hidrolizada. La fuente de equivalente proteico puede, en algunas realizaciones, incluir proteína intacta. Más particularmente, la fuente de proteína puede incluir a) de aproximadamente 20% a aproximadamente 80% del componente peptídico descrito en el presente documento, y b) de aproximadamente 20% a aproximadamente 80% de una proteína intacta, una proteína hidrolizada, o una combinación de las mismas.

45 El término "fuente de equivalente proteico" también abarca los aminoácidos libres. En algunas realizaciones, los aminoácidos pueden comprender, pero no se limitan a, histidina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, cisteína, fenilalanina, tirosina, treonina, triptófano, valina, alanina, arginina, asparagina, ácido glutámico, ácido glutámico, glutamina, glicina, prolina, serina, carnitina, taurina y mezclas de los mismos. En algunas realizaciones, los aminoácidos pueden ser aminoácidos de cadena ramificada. En otras realizaciones, pueden incluirse pequeños péptidos de aminoácidos como componente proteico de la composición nutricional. Tales pequeños péptidos de aminoácidos pueden ser naturales o sintetizados.

50 "Sujeto pediátrico" significa un ser humano menor de 13 años de edad. En algunas realizaciones, un sujeto pediátrico se refiere a un sujeto humano que está entre el nacimiento y los 8 años de edad. En otras realizaciones, un sujeto pediátrico se refiere a un sujeto humano entre 1 y 6 años de edad. En otras realizaciones adicionales, un sujeto pediátrico se refiere a un sujeto humano entre 6 y 12 años de edad. El término "sujeto pediátrico" puede referirse a lactantes (prematuros o de término) y/o niños, como se describe a continuación.

55 "Lactante" significa un sujeto humano que varía en edad desde el nacimiento hasta no más de un año e incluye lactantes de 0 a 12 meses de edad corregida. La frase "edad corregida" significa la edad cronológica de un lactante menos la cantidad de tiempo que el lactante nació prematuro. Por lo tanto, la edad corregida es la edad del lactante si ha llegado a término completo. El término lactante incluye lactantes de bajo peso al nacer, lactantes de muy bajo peso

al nacer y prematuros. "Prematuro" significa un bebé nacido antes del final de la semana 37 de gestación. "Término completo" significa un bebé nacido después del final de la semana 37 de gestación.

5 "Niño" significa un sujeto que varía en edad de 12 meses a aproximadamente 13 años. En algunas realizaciones, un niño es un sujeto entre las edades de 1 y 12 años. En otras realizaciones, los términos "niños" o "niño" se refieren a sujetos que tienen entre uno y aproximadamente seis años, o entre aproximadamente siete y aproximadamente 12 años. En otras realizaciones, los términos "niños" o "niño" se refieren a cualquier rango de edades entre 12 meses y aproximadamente 13 años.

"Producto nutricional para niños" se refiere a una composición que satisface al menos una parte de los requerimientos de nutrientes de un niño. Una leche de crecimiento es un ejemplo de un producto nutricional para niños.

10 "Fórmula para lactantes" significa una composición que satisface al menos una parte de los requerimientos de nutrientes de un lactante. En los Estados Unidos, el contenido de una fórmula para lactantes es fijado por las regulaciones federales establecidas en 21 C.F.R. Secciones 100, 106 y 107. Estas regulaciones definen los niveles de macronutrientes, vitaminas, minerales y otros ingredientes en un esfuerzo por simular las propiedades nutricionales y otras propiedades de la leche materna.

15 El término "leche de crecimiento" se refiere a una amplia categoría de composiciones nutricionales destinadas a ser utilizadas como parte de una dieta diversa destinada a apoyar el crecimiento y el desarrollo normal de un niño entre las edades de aproximadamente 1 y aproximadamente 6 años.

20 "Nutricionalmente completa" significa una composición que se puede usar como única fuente de nutrición, que suministraría esencialmente todas las cantidades diarias requeridas de vitaminas, minerales y/u oligoelementos en combinación con proteínas, carbohidratos y lípidos. De hecho, "nutricionalmente completa" describe una composición nutricional que proporciona cantidades adecuadas de carbohidratos, lípidos, ácidos grasos esenciales, proteínas, aminoácidos esenciales, aminoácidos condicionalmente esenciales, vitaminas, minerales y energía necesarios para apoyar el crecimiento y desarrollo normal de un sujeto.

25 Por lo tanto, una composición nutricional que es "nutricionalmente completa" para un lactante prematuro, por definición, proporcionará cantidades cualitativa y cuantitativamente adecuadas de carbohidratos, lípidos, ácidos grasos esenciales, proteínas, aminoácidos esenciales, aminoácidos condicionalmente esenciales, vitaminas, minerales y energía necesarios para el crecimiento del lactante prematuro.

30 Una composición nutricional que es "nutricionalmente completa" para un lactante de término completo, por definición, proporcionará cantidades cualitativa y cuantitativamente adecuadas de todos los carbohidratos, lípidos, ácidos grasos esenciales, proteínas, aminoácidos esenciales, aminoácidos condicionalmente esenciales, vitaminas, minerales y energía necesarios para el crecimiento del lactante nacido a término.

35 Una composición nutricional que es "nutricionalmente completa" para un niño, por definición, proporcionará cantidades cualitativa y cuantitativamente adecuadas de todos los carbohidratos, lípidos, ácidos grasos esenciales, proteínas, aminoácidos esenciales, aminoácidos condicionalmente esenciales, vitaminas, minerales, y la energía necesaria para el crecimiento de un niño.

40 Cuando se aplica a los nutrientes, el término "esencial" se refiere a cualquier nutriente que el cuerpo no puede sintetizar en cantidades suficientes para el crecimiento normal y para mantener la salud y que, por lo tanto, debe suministrarse por la dieta. El término "condicionalmente esencial" aplicado a los nutrientes significa que el nutriente debe ser suministrado por la dieta en condiciones en las que el organismo no pueda disponer de cantidades adecuadas del compuesto precursor para que se produzca la síntesis endógena.

"Prebiótico" significa un ingrediente alimenticio no digerible que afecta de manera beneficiosa al huésped al estimular selectivamente el crecimiento y/o la actividad de una o una cantidad limitada de bacterias en el tracto digestivo que pueden mejorar la salud del huésped.

45 "Probiótico" significa un microorganismo con poca o ninguna patogenicidad que ejerce al menos un efecto beneficioso sobre la salud del huésped.

50 El término "probiótico inactivado" significa un probiótico en el que la actividad metabólica o la capacidad reproductiva del organismo probiótico referido se ha reducido o destruido. Sin embargo, el "probiótico inactivado" aún retiene, a nivel celular, al menos una porción de su estructura de glicol-proteína biológica y ADN/ARN. Como se emplea en el presente documento, el término "inactivado" es sinónimo de "no viable". Más específicamente, un ejemplo no limitante de un probiótico inactivado es el *Lactobacillus rhamnosus* GG ("LGG") inactivado o "LGG inactivado".

Todos los porcentajes, partes y relaciones como se utilizan en esta memoria son en peso de la formulación total, a menos que se especifique de otro modo.

La composición nutricional de la presente descripción puede estar sustancialmente libre de cualquier ingrediente opcional o seleccionado descrito en el presente documento, siempre que la composición nutricional restante aún

contenga todos los ingredientes o características requeridas descritas en esta memoria. En este contexto, y salvo que se especifique de otro modo, el término "sustancialmente libre" significa que la composición seleccionada puede contener menos de una cantidad funcional del ingrediente opcional, típicamente menos del 0,1% en peso, y también, incluyendo cero por ciento en peso de dicho ingrediente opcional o seleccionado.

- 5 Todas las referencias a características o limitaciones singulares de la presente descripción incluirán la característica o limitación plural correspondiente, y viceversa, a menos que se especifique o se indique claramente de otro modo en el contexto en el que se hace la referencia.

10 Todas las combinaciones de métodos o etapas de proceso, como se usan en esta memoria, pueden realizarse en cualquier orden, a menos que se especifique o se indique claramente de otro modo por el contexto en el que se realiza la combinación de referencia.

Los métodos y composiciones de la presente descripción, incluyendo componentes de los mismos, pueden comprender, consistir en, o consistir esencialmente en los elementos esenciales y limitaciones de las realizaciones descritas en el presente documento, así como cualquier ingrediente adicional u opcional, componentes o limitaciones descritos aquí o de otro modo útiles en composiciones nutricionales.

- 15 Tal como se usa en el presente documento, el término "aproximadamente" debe interpretarse con referencia a los dos números especificados como punto(s) final(es) de cualquier intervalo. Cualquier referencia a un intervalo debe considerarse como un apoyo para cualquier subconjunto dentro de ese intervalo.

20 La respuesta proinflamatoria, o inflamación, es inducida por ciertos estímulos, tales como patógenos, células dañadas, o irritantes. Una respuesta inflamatoria puede llevar a una variedad de trastornos que afectan a numerosos tipos de tejidos, incluyendo epiteliales, conectivos, neurológicos e intestinales. Por ejemplo, las respuestas inflamatorias pueden provocar o empeorar los síntomas de trastornos de la piel (como psoriasis, eccema y otras erupciones), enfermedad inflamatoria intestinal, fibrosis quística, esclerosis múltiple, artritis (por ejemplo, artritis reumatoide), alergias e incluso cáncer. Las enfermedades inflamatorias se están generalizando y muchas no tienen cura. Por consiguiente, sería ventajoso proporcionar composiciones nutricionales que puedan modular la respuesta proinflamatoria en un sujeto.

30 Por consiguiente, la presente descripción se refiere en general a composiciones nutricionales que comprenden una fuente de equivalente proteico, en donde la fuente de equivalente proteico incluye un componente peptídico que comprende los péptidos individuales de SEQ ID 4, SEQ ID NO 13, SEQ ID NO 17, SEQ ID NO 21, SEQ ID NO 24, SEQ ID NO 30, SEQ ID NO 31, SEQ ID NO 32, SEQ ID NO 51, SEQ ID NO 57, SEQ ID NO 60 y SEQ ID NO 63, y 20% al 80% de la fuente de equivalente proteico comprende una proteína intacta, una proteína parcialmente hidrolizada o combinaciones de las mismas para usar en la reducción de la producción de citocinas proinflamatorias en un sujeto. El componente peptídico puede comprender péptidos adicionales descritos en la Tabla 1. En una realización la composición puede incluir al menos 10 péptidos adicionales descritos en la Tabla 1. El término adicional significa seleccionar péptidos diferentes a los enumerados.

- 35 La Tabla 1 a continuación identifica las secuencias de aminoácidos de los péptidos que pueden incluirse en el componente peptídico de las presentes composiciones nutricionales.

Tabla 1

Número ID de secuencia	Secuencia de aminoácidos								(aa)
1	Ala	Ile	Asn	Pro	Ser	Lys	Glu	Asn	8
2	Ala	Pro	Phe	Pro	Glu				5
3	Asp	Ile	Gly	Ser	Glu	Ser			6
4	Asp	Lys	Thr	Glu	Ile	Pro	Thr		7
5	Asp	Met	Glu	Ser	Thr				5
6	Asp	Met	Pro	Ile					4
7	Asp	Val	Pro	Ser					4
n/d	Glu	Asp	Ile						3
n/d	Glu	Leu	Phe						3
n/d	Glu	Met	Pro						3

ES 2 736 313 T3

Número ID de secuencia	Secuencia de aminoácidos									(aa)
8	Glu	Thr	Ala	Pro	Val	Pro	Leu			7
9	Phe	Pro	Gly	Pro	Ile	Pro				6
10	Phe	Pro	Gly	Pro	Ile	Pro	Asn			7
11	Gly	Pro	Phe	Pro						4
12	Gly	Pro	Ile	Val						4
13	Ile	Gly Gln	Ser	Glu	Ser	Thr	Glu	Asp		9
14	Ile	Gly	Ser	Ser	Ser	Glu	Glu	Ser		8
15	Ile	Gly	Ser	Ser	Ser	Glu	Glu	Ser	Ala	9
16	Ile	Asn	Pro	Ser	Lys	Glu				6
17	Ile	Pro	Asn	Pro	Ile					5
18	Ile	Pro	Asn	Pro	Ile	Gly				6
19	Ile	Pro	Pro	Leu	Thr	Gln	Thr	Pro	Val	9
20	Ile	Thr	Ala	Pro						4
21	Ile	Val	Pro	Asn						4
22	Lys	His	Gln	Gly	Leu	Pro	Gln			7
23	Leu	Asp	Val	Thr	Pro					5
24	Leu	Glu	Asp	Ser	Pro	Glu				6
25	Leu	Pro	Leu	Pro	Leu					5
26	Met	Glu	Ser	Thr	Glu	Val				6
27	Met	His Pro	Gln Pro	Pro Thr	His	Gln	Pro	Leu		11
28	Asn	Ala	Val	Pro	Ile					5
29	Asn	Glu	Val	Glu	Ala					5
n/d	Asn	Leu	Leu							3
30	Asn	Gln	Glu	Gln	Pro	Ile				6
31	Asn	Val	Pro	Gly	Glu					5
32	Pro	Phe	Pro	Gly	Pro	Ile				6
33	Pro	Gly	Pro	Ile	Pro	Asn				6
34	Pro	His	Gln	Pro	Leu	Pro	Pro	Thr		8
35	Pro	Ile	Thr	Pro	Thr					5
36	Pro	Asn	Pro	Ile						4
37	Pro	Asn	Ser	Leu	Pro	Gln				6
38	Pro	Gln	Leu	Glu	Ile	Val	Pro	Asn		8
39	Pro	Gln	Asn	Ile	Pro	Pro	Leu			7

ES 2 736 313 T3

Número ID de secuencia	Secuencia de aminoácidos	(aa)
40	Pro Val Leu Gly Pro Val	6
41	Pro Val Pro Gln	4
42	Pro Val Val Val Pro	5
43	Pro Val Val Val Pro Pro	6
44	Ser Ile Ser Gly Ala Ser Glu Ser Ser Glu Glu	11
45	Ser Ile Ser Ser Ser Glu Glu	7
46	Ser Ile Pro Ser Asn Ser Ser Glu Glu Ile Val	11
47	Ser Lys Asp Ile Gly Ser Glu	7
48	Ser Pro Pro Glu Ile Asn	6
49	Ser Pro Pro Glu Ile Asn Thr	7
50	Thr Asp Ala Pro Ser Phe Ser	7
51	Thr Glu Asp Glu Leu	5
52	Val Ala Thr Glu Glu Val	6
53	Val Leu Pro Val Pro	5
54	Val Pro Gly Glu	4
55	Val Pro Gly Glu Ile Val	6
56	Val Pro Ile Thr Pro Thr	6
57	Val Pro Ser Glu	4
58	Val Val Pro Pro Phe Leu Gln Pro Glu	9
59	Val Val Val Pro Pro	5
60	Tyr Pro Phe Pro Gly Pro	6
61	Tyr Pro Phe Pro Gly Pro Ile Pro	8
62	Tyr Pro Phe Pro Gly Pro Ile Pro Asn	9
63	Tyr Pro Ser Gly Ala	5
64	Tyr Pro Val Glu Pro	5

La Tabla 2 a continuación identifica además un subconjunto de secuencias de aminoácidos de la Tabla 1 que pueden incluirse en el componente peptídico descrito en el presente documento.

Tabla 2

Número ID de secuencia	Secuencia de aminoácidos	(aa)
4	Asp Lys Thr Glu Ile Pro Thr	7
13	Ile Gly Ser Glu Ser Thr Glu Asp Gln	9
17	Ile Pro Asn Pro Ile Gly	6
21	Ile Val Pro Asn	4
24	Leu Glu Asp Ser Pro Glu	6
30	Asn Gln Glu Gln Pro Ile	6
31	Asn Val Pro Gly Glu	5
32	Pro Phe Pro Gly Pro Ile	6
51	Thr Glu Asp Glu Leu	5
57	Val Pro Ser Glu	4
60	Tyr Pro Phe Pro Gly Pro	6
63	Tyr Pro Ser Gly Ala	5

5 En algunas realizaciones, el componente peptídico puede estar presente en la composición nutricional en una cantidad de aproximadamente 0,2 g/100 kcal a aproximadamente 5,6 g/100 kcal. En otras realizaciones, el componente peptídico puede estar presente en la composición nutricional en una cantidad de aproximadamente 1 g/100 kcal a aproximadamente 4 g/100 kcal. En otras realizaciones, el componente peptídico puede estar presente en la composición nutricional en una cantidad de aproximadamente 2 g/100 kcal a aproximadamente 3 g/100 kcal.

10 El componente peptídico descrito en el presente documento puede formularse con otros ingredientes en la composición nutricional para proporcionar niveles de nutrientes apropiados para el sujeto objetivo. En algunas realizaciones, el componente peptídico se incluye en una fórmula nutricional completa que es adecuada para apoyar el crecimiento normal.

15 En otras realizaciones, el componente peptídico puede comprender un suplemento o aditivo nutricional que se puede añadir a otras formulaciones nutricionales que incluyen, pero no se limitan a, productos alimenticios y/o bebidas. Para los fines de esta descripción, "suplemento nutricional" incluye una fuente concentrada de nutriente, por ejemplo, los péptidos identificados en esta memoria, o alternativamente otras sustancias con un efecto nutricional o fisiológico cuyo propósito es complementar la dieta normal. El componente peptídico puede proporcionarse como un elemento de una fuente de equivalente proteico. En algunas realizaciones, los péptidos identificados en las Tablas 1 y 2, pueden proporcionarse mediante una fuente de equivalente proteico obtenida de las proteínas de la leche de vaca, que incluyen pero no se limitan a caseína bovina y suero bovino. En algunas realizaciones, la fuente de equivalente proteico comprende caseína bovina hidrolizada o suero bovino hidrolizado. Por consiguiente, en algunas realizaciones, los péptidos identificados en la Tabla 1 y la Tabla 2 pueden proporcionarse mediante un hidrolizado de caseína. Dichos péptidos pueden obtenerse por hidrólisis o pueden sintetizarse in vitro por métodos conocidos por los expertos.

25 Un ejemplo no limitante de un método de hidrólisis se describe en este documento. En algunas realizaciones, este método puede usarse para obtener el hidrolizado de proteínas y los péptidos de la presente descripción. Las proteínas se hidrolizan utilizando una enzima proteolítica, la proteasa N. La proteasa N "Amano" está disponible comercialmente en Amano Enzyme USA Co., Ltd., Elgin, Ill. La proteasa N es una preparación de enzimas proteolíticas que deriva de la especie bacteriana *Bacillus subtilis*. El polvo de proteasa se especifica como "no menos de 150.000 unidades/g", lo que significa que una unidad de proteasa N es la cantidad de enzima que produce un aminoácido equivalente a 100 microgramos de tirosina durante 60 minutos a un pH de 7,0. Para producir la fórmula para lactantes de la presente invención, la proteasa N se puede usar a niveles de aproximadamente 0,5% a aproximadamente 1,0% en peso de la proteína total que se está hidrolizando.

35 La hidrólisis proteica por proteasa N se realiza típicamente a una temperatura de aproximadamente 50°C a aproximadamente 60°C. La hidrólisis se produce durante un período de tiempo para obtener un grado de hidrólisis entre aproximadamente el 4% y el 10%. En una realización particular, la hidrólisis se produce durante un período de tiempo para obtener un grado de hidrólisis entre aproximadamente el 6% y el 9%. En otra realización, la hidrólisis ocurre durante un período de tiempo para obtener un grado de hidrólisis de aproximadamente 7,5%. Este nivel de hidrólisis puede durar entre aproximadamente media hora y aproximadamente 3 horas.

Se debe mantener un pH constante durante la hidrólisis. En el método de la presente invención, el pH se ajusta y se mantiene entre aproximadamente 6,5 y 8. En una realización particular, el pH se mantiene a aproximadamente 7,0.

5 Para mantener el pH óptimo de la solución de proteína de suero, caseína, agua y proteasa N, se puede usar una solución cáustica de hidróxido de sodio y/o hidróxido de potasio para ajustar el pH durante la hidrólisis. Si se usa hidróxido de sodio para ajustar el pH, la cantidad de hidróxido de sodio añadido a la solución debe controlarse al nivel en que comprenda menos de aproximadamente el 0,3% del sólido total en el hidrolizado de proteínas terminado. También se puede usar una solución de hidróxido de potasio al 10% para ajustar el pH de la solución al valor deseado, ya sea antes de añadir la enzima o durante el proceso de hidrólisis para mantener el pH óptimo.

10 La cantidad de solución cáustica añadida a la solución durante la hidrólisis de la proteína puede controlarse mediante un pH-stat o añadiendo la solución cáustica de forma continua y proporcional. El hidrolizado se puede fabricar por procesos estándar por lotes o por procesos continuos.

15 Para garantizar mejor la calidad constante del hidrolizado parcial de proteínas, el hidrolizado se somete a una desactivación de la enzima para finalizar el proceso de hidrólisis. La etapa de desactivación de la enzima puede consistir en un tratamiento térmico a una temperatura de aproximadamente 82°C durante aproximadamente 10 minutos. Alternativamente, la enzima se puede desactivar calentando la solución a una temperatura de aproximadamente 92°C durante aproximadamente 5 segundos. Una vez completada la desactivación de la enzima, el hidrolizado se puede almacenar en estado líquido a una temperatura menor a 10°C.

20 En algunas realizaciones, la fuente de equivalente proteico comprende una proteína hidrolizada, que incluye proteína parcialmente hidrolizada y proteína extensamente hidrolizada, tal como caseína. En algunas realizaciones, la fuente de equivalente proteico comprende una proteína hidrolizada que incluye péptidos que tienen una distribución de masa molar de más de 500 Daltons. En algunas realizaciones, la proteína hidrolizada comprende péptidos que tienen una distribución de masa molar en el intervalo de aproximadamente 500 Daltons a aproximadamente 1.500 Daltons. Aun así, en algunas realizaciones, la proteína hidrolizada puede comprender péptidos que tienen un intervalo de distribución de masa molar de aproximadamente 500 Daltons a aproximadamente 2.000 Daltons.

25 En algunas realizaciones, la fuente de equivalente proteico puede comprender el componente peptídico, la proteína intacta, la proteína hidrolizada, que incluye la proteína parcialmente hidrolizada, y combinaciones de las mismas. En algunas realizaciones, del 20% al 80% de la fuente de equivalente proteico comprende el componente peptídico descrito en el presente documento. En algunas realizaciones, del 30% al 60% de la fuente de equivalente proteico comprende el componente peptídico descrito en este documento. En aún otras realizaciones, 40% a 50% de la fuente de equivalente proteico comprende el componente peptídico.

30 En algunas realizaciones, del 20% al 80% de la fuente de equivalente proteico comprende la proteína intacta, la proteína parcialmente hidrolizada, o combinaciones de las mismas. En algunas realizaciones, del 40% al 70% de la fuente de equivalente proteico comprende proteínas intactas, proteínas parcialmente hidrolizadas, o una combinación de las mismas. En otras realizaciones adicionales, del 50% al 60% de la fuente de equivalente proteico puede comprender proteínas intactas, proteínas parcialmente hidrolizadas, o una combinación de las mismas.

35 En algunas realizaciones, la fuente de equivalente proteico comprende proteínas parcialmente hidrolizadas que tienen un grado de hidrólisis de menos del 40%. En otras realizaciones más, la fuente de equivalente proteico puede comprender proteínas parcialmente hidrolizadas que tienen un grado de hidrólisis de menos del 25%, o menos del 15%.

40 En algunas realizaciones, la composición nutricional comprende entre aproximadamente 1 g y aproximadamente 7 g de una fuente de equivalente proteico por 100 kcal. En otras realizaciones, la composición nutricional comprende entre aproximadamente 3,5 g y aproximadamente 4,5 g de una fuente de equivalente proteico por 100 kcal.

45 Adicionalmente, la fuente de equivalente proteico que incluye el componente peptídico puede añadirse o incorporarse en la composición nutricional mediante cualquier método bien conocido en la técnica. En algunas realizaciones, el componente peptídico se puede añadir a una composición nutricional para suplementar la composición nutricional. Por ejemplo, en una realización, el componente peptídico puede añadirse a una fórmula para lactantes disponible comercialmente. Por ejemplo, Enfalac, Enfamil®, Enfamil® fórmula para prematuros, Enfamil® con hierro, Enfamil® LIPIL®, Lactofree®, Nutramigen®, Pregestimil® y ProSobee® (disponibles en Mead Johnson & Company, Evansville, IN, EE.UU.) pueden ser complementados con niveles adecuados del componente peptídico y utilizados en la práctica de la presente descripción.

50 La(s) composición(es) nutricional(es) de la presente descripción que incluye(n) el componente peptídico, se puede(n) administrar en una o más dosis diarias. La presente descripción contempla cualquier forma de dosificación oralmente aceptable. Los ejemplos de tales formas de dosificación incluyen, pero no se limitan a, píldoras, tabletas, cápsulas, geles blandos, líquidos, concentrados líquidos, polvos, elixires, soluciones, suspensiones, emulsiones, pastillas, perlas, omeas y combinaciones de los mismos.

En algunas realizaciones, el componente peptídico se puede añadir a un producto nutricional más completo. En esta realización, la composición nutricional puede contener componentes de proteínas, grasas y carbohidratos y se puede utilizar para suplementar la dieta o como la única fuente de nutrición.

5 En algunas realizaciones, la composición nutricional comprende al menos una fuente de carbohidratos. La fuente de carbohidratos puede ser cualquiera de las utilizadas en la técnica, por ejemplo, lactosa, glucosa, fructosa, sólidos de jarabe de maíz, maltodextrinas, sacarosa, almidón, sólidos de jarabe de arroz y similares. La cantidad del componente de carbohidrato en la composición nutricional puede variar típicamente entre aproximadamente 5 g/100 kcal y aproximadamente 25 g/100 kcal. En algunas realizaciones, la cantidad de carbohidrato es de entre aproximadamente 6 g/100 kcal y aproximadamente 22 g/100 kcal. En otras realizaciones, la cantidad de carbohidrato es de entre aproximadamente 12 g/100 kcal y aproximadamente 14 g/100 kcal. En algunas realizaciones, se prefieren los sólidos de jarabe de maíz. Además, los carbohidratos hidrolizados, parcialmente hidrolizados y/o extensamente hidrolizados pueden ser convenientes para su inclusión en la composición nutricional debido a su fácil digestibilidad. Específicamente, es menos probable que los carbohidratos hidrolizados contengan epítotos alergénicos.

15 Los ejemplos no limitantes de materiales de carbohidratos adecuados para su uso en esta memoria incluyen almidones hidrolizados o intactos, modificados natural o químicamente, procedentes de maíz, tapioca, arroz o papa, en formas cerosas o no cerosas. Los ejemplos no limitantes de carbohidratos adecuados incluyen varios almidones hidrolizados caracterizados como almidón de maíz hidrolizado, maltodextrina, maltosa, jarabe de maíz, dextrosa, sólidos de jarabe de maíz, glucosa y varios otros polímeros de glucosa y combinaciones de los mismos. Los ejemplos no limitantes de otros carbohidratos adecuados incluyen aquellos a menudo referidos como sacarosa, lactosa, fructosa, jarabe de maíz con alto contenido de fructosa, oligosacáridos no digeribles tales como fructooligosacáridos y combinaciones de los mismos.

20 La composición nutricional puede estar libre de proteínas en algunas realizaciones y comprender aminoácidos libres como un elemento de la fuente de equivalente proteico. En algunas realizaciones, los aminoácidos pueden ser aminoácidos de cadena ramificada. En ciertas otras realizaciones, pueden incluirse pequeños péptidos de aminoácidos como el componente proteico de la composición nutricional. Tales pequeños péptidos de aminoácidos pueden ser naturales o sintetizados. La cantidad de aminoácidos libres en la composición nutricional puede variar de aproximadamente 1 g/100 kcal a aproximadamente 5 g/100 kcal.

25 La composición nutricional también puede comprender una fuente de grasa. Las fuentes de grasa o lípidos adecuadas para la composición nutricional de la presente descripción pueden ser conocidas o utilizadas en la técnica, incluidas, entre otras, fuentes animales, por ejemplo, grasa de leche, manteca, grasa de manteca, lípidos de yema de huevo; fuentes marinas, tales como aceites de pescado, aceites marinos, aceites unicelulares; aceites vegetales y vegetales, tales como aceite de maíz, aceite de canola, aceite de girasol, aceite de soja, aceite de oleína de palma, aceite de coco, aceite de girasol con alto contenido oleico, aceite de onagra, aceite de colza, aceite de oliva, aceite de linaza (linaza), aceite de semilla de algodón, aceite de cártamo alto en aceite, estearina de palma, aceite de semilla de palma, 30 aceite de germen de trigo, aceites de triglicéridos de cadena media y emulsiones y ésteres de ácidos grasos, y cualquier combinación de los mismos.

35 En alguna realización, la composición nutricional comprende entre aproximadamente 1,3 g/100 kcal y aproximadamente 7,2 g/100 kcal de una fuente de grasa. En otras realizaciones, la fuente de grasa puede estar presente en una cantidad de aproximadamente 2,5 g/100 kcal a aproximadamente 6,0 g/100 kcal. En otras realizaciones más, la fuente de grasa puede estar presente en la composición nutricional en una cantidad de aproximadamente 3,0 g/100 kcal a aproximadamente 4,0 g/100 kcal.

40 La composición nutricional de la presente descripción también puede contener una fuente de ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga ("LCPUFA" por sus siglas en inglés). Los LCPUFA adecuados incluyen, pero no se limitan a, DHA, ácido eicosapentaenoico ("EPA"), ARA, ácidos linoleico (18:2 n-6), γ -linolénico (18:3 n-6), dihomo- γ -linolénico (20:3 n-6) en la ruta n-6, α -linolénico (18:3 n-3), estearidónico (18:4 n-3), eicosatetraenoico (20:4 n-3), eicosapentaenoico (20:5 n-3) y docosapentaenoico (22: 6 n-3).

45 La cantidad de LCPUFA en la composición nutricional es de al menos aproximadamente 5 mg/100 kcal, y puede variar de aproximadamente 5 mg/100 kcal a aproximadamente 100 mg/100 kcal, más preferiblemente de aproximadamente 10 mg/100 kcal a aproximadamente 50 mg/100 kcal.

50 Las fuentes de LCPUFA incluyen productos lácteos como huevos y grasa de manteca; aceites marinos, como de bacalao, menhaden, sardina, atún y muchos otros pescados; ciertas grasas animales, manteca de cerdo, sebo y aceites microbianos como los aceites fúngicos y de algas, o de cualquier otro recurso fortificado o no, a partir de los cuales los LCPUFA se pueden obtener y usar en una composición nutricional. Los LCPUFA podrían ser parte de una mezcla compleja obtenida por tecnología de separación conocida en la técnica dirigida al enriquecimiento de los LCPUFA y los derivados o precursores de los LCPUFA en tales mezclas.

55 Los LCPUFA pueden proporcionarse en la composición nutricional en forma de ésteres de ácidos grasos libres, mono, di y triglicéridos, fosfoglicéridos, incluyendo lecitinas, y/o mezclas de los mismos. Además, se pueden proporcionar LCPUFA en la composición nutricional en forma de fosfolípidos, especialmente fosfatidilcolina. En una realización,

especialmente si la composición nutricional es una fórmula para lactantes, la composición nutricional se complementa con DHA y ARA. En esta realización, la relación en peso de ARA:DHA puede ser de entre aproximadamente 1:3 y aproximadamente 9:1. En una realización particular, la relación en peso de ARA: DHA es de aproximadamente 1:2 a aproximadamente 4:1.

- 5 El DHA está ventajosamente presente en la composición nutricional, en algunas realizaciones, en al menos aproximadamente 17 mg/100 kcal, y puede variar de aproximadamente 5 mg/100 kcal a aproximadamente 75 mg/100 kcal. En algunas realizaciones, el DHA está presente en aproximadamente 10 mg/100 kcal a aproximadamente 50 mg/100 kcal.

10 La composición nutricional puede complementarse con aceites que contienen DHA y/o ARA utilizando técnicas estándar conocidas en la técnica. Por ejemplo, se puede agregar DHA y ARA a la composición reemplazando una cantidad equivalente de un aceite, como el aceite de girasol con alto contenido de ácido oleico, normalmente presente en la composición. Como otro ejemplo, los aceites que contienen DHA y ARA se pueden agregar a la composición reemplazando una cantidad equivalente del resto de la mezcla grasa total normalmente presente en la composición sin DHA y ARA.

15 Si se utiliza, la fuente de DHA y/o ARA puede ser cualquier fuente conocida en la técnica, como aceite marino, aceite de pescado, aceite de origen microbiano, lípidos de yema de huevo y lípidos de cerebro. En algunas realizaciones, el DHA y ARA se obtienen de aceites de origen microbiano de Martek, DHASCO® y ARASCO®, o sus variaciones. El DHA y el ARA pueden estar en la forma natural, siempre que el resto de la fuente de LCPUFA no produzca ningún efecto perjudicial importante en el lactante. Alternativamente, el DHA y el ARA se pueden utilizar en forma refinada.

20 En una realización, las fuentes de DHA y ARA son aceites de origen microbiano como se describe en las patentes de EE.UU. Nos. 5.374.567, 5.550.156, y 5,397,591, cuyas descripciones se incorporan en el presente documento en su totalidad por referencia. Sin embargo, la presente descripción no se limita solamente a tales aceites.

25 Además, algunas realizaciones de la composición nutricional pueden imitar ciertas características de la leche materna humana. Sin embargo, para cumplir con los requisitos de nutrientes específicos de algunos sujetos, la composición nutricional puede comprender una mayor cantidad de algunos componentes nutricionales que la leche humana. Por ejemplo, la composición nutricional puede comprender una cantidad mayor de DHA que la leche materna humana. El nivel mejorado de DHA de la composición nutricional puede compensar un déficit nutricional de DHA existente.

30 La composición nutricional también puede contener uno o más prebióticos (también referidos como una fuente de prebióticos) en ciertas realizaciones. Los prebióticos pueden estimular el crecimiento y/o la actividad de los microorganismos probióticos ingeridos, reducir selectivamente los patógenos encontrados en el intestino e influir favorablemente en el perfil de ácidos grasos de cadena corta del intestino. Dichos prebióticos pueden ser naturales, sintéticos o desarrollados a través de la manipulación genética de organismos y/o plantas, ya sea que esta nueva fuente sea conocida actualmente o se desarrolle más adelante. Los prebióticos útiles en la presente descripción pueden incluir oligosacáridos, polisacáridos y otros prebióticos que contienen fructosa, xilosa, soja, galactosa, glucosa y manosa.

35 Más específicamente, los prebióticos útiles en la presente descripción pueden incluir polidextrosa, polvo de polidextrosa, lactulosa, lactosucrosa, rafinosa, gluco-oligosacáridos, inulina, fructooligosacáridos, oligosacáridos de isomalto, oligosacáridos de soja, lactosucrosa, xilo-oligosacárido, quito-oligosacárido, mano-oligosacárido, aribino-oligosacárido, sialil-oligosacáridos, galacto-oligosacáridos y gentio-oligosacáridos. En algunas realizaciones, la cantidad total de prebióticos presentes en la composición nutricional puede ser de aproximadamente 0,1 g/100 kcal a aproximadamente 1 g/100 kcal. En ciertas realizaciones, la cantidad total de prebióticos presentes en la composición nutricional puede ser de aproximadamente 0,3 g/100 kcal a alrededor de 0,7 g/100 kcal. Además, la composición nutricional puede comprender un componente prebiótico que comprende polidextrosa ("PDX") y/o galacto-oligosacárido ("GOS"). En algunas realizaciones, el componente prebiótico comprende al menos 20% de GOS, PDX o una mezcla de los mismos.

40 Si se utiliza PDX en la composición prebiótica, la cantidad de PDX en la composición nutricional puede, en una realización, estar dentro del intervalo de aproximadamente 0,1 g/100 kcal a aproximadamente 1 g/100 kcal. En otra realización, la cantidad de polidextrosa está dentro del intervalo de aproximadamente 0,2 g/100 kcal a aproximadamente 0,6 g/100 kcal. Y aún en otras realizaciones, la cantidad de PDX en la composición nutricional puede ser de aproximadamente 0,1 mg/100 kcal a aproximadamente 0,5 mg/100 kcal.

45 Si se utiliza GOS en la composición prebiótica, la cantidad de GOS en la composición nutricional puede ser, en una realización, de aproximadamente 0,1 g/100 kcal a aproximadamente 1 g/100 kcal. En otra realización, la cantidad de GOS en la composición nutricional puede ser de aproximadamente 0,2 g/100 kcal a aproximadamente 0,5 g/100 kcal. En otras realizaciones, la cantidad de GOS en la composición nutricional puede ser de aproximadamente 0,1 mg/100 kcal a aproximadamente 1,0 mg/100 kcal o de aproximadamente 0,1 mg/100 kcal a aproximadamente 0,5 mg/100 kcal.

50 En una realización particular de la composición nutricional, el PDX se administra en combinación con el GOS. En esta realización, PDX y GOS se pueden administrar en una relación de PDX: GOS de entre aproximadamente 9:1 y 1:9.

En otra realización, la relación de PDX:GOS puede ser de entre aproximadamente 5:1 y 1:5. En otra realización más, la relación de PDX:GOS puede ser de entre aproximadamente 1:3 y 3:1. En una realización particular, la relación de PDX a GOS puede ser de aproximadamente 5:5. En otra realización particular, la relación de PDX a GOS puede ser aproximadamente 8:2.

- 5 En una realización particular, el GOS y el PDX se complementan en la composición nutricional en una cantidad total de al menos aproximadamente 0,2 mg/100 kcal o aproximadamente 0,2 mg/100 kcal a aproximadamente 1,5 mg/100 kcal. En algunas realizaciones, la composición nutricional puede comprender GOS y PDX en una cantidad total de aproximadamente 0,6 a aproximadamente 0,8 mg/100 kcal.

- 10 En algunas realizaciones, la composición nutricional puede contener uno o más probióticos. Cualquier probiótico conocido en la técnica puede ser aceptable en esta realización. En una realización particular, el probiótico puede seleccionarse de cualquier especie de *Lactobacillus*, *Lactobacillus rhamnosus* GG (número ATCC 53103), especies de *Bifidobacterium*, *Bifidobacterium longum* BB536 (BL999, ATCC: BAA-999), *Bifidobacterium longum* AH1206 (NCIMB: 41382), *Bifidobacterium breve* AH1205 (NCIMB: 41387), *Bifidobacterium infantis* 35624 (NCIMB: 41003) y *Bifidobacterium animales subsp. lactis* BB-12 (DSM No. 10140) o cualquier combinación de las mismas.

- 15 Si se incluye en la composición, la cantidad del probiótico puede variar de aproximadamente 1×10^4 a aproximadamente $1,5 \times 10^{10}$ ufc de probióticos por 100 kcal, más preferiblemente de aproximadamente 1×10^6 a aproximadamente 1×10^9 ufc de probióticos por 100 kcal. En ciertas otras realizaciones, la cantidad de probiótico puede variar de aproximadamente 1×10^7 ufc/100 kcal hasta aproximadamente 1×10^8 ufc/100 kcal.

- 20 En una realización, el(los) probiótico(s) puede(n) ser viable(s) o no viable(s). Como se utiliza en esta memoria, el término "viable" se refiere a microorganismos vivos. El término "no viable" o "probiótico no viable" significa microorganismos probióticos no vivos, sus componentes celulares y/o sus metabolitos. Dichos probióticos no viables pueden haber sido eliminados por calor o inactivados, pero conservan la capacidad de influir favorablemente en la salud del huésped. Los probióticos útiles en la presente descripción pueden ser naturales, sintéticos o desarrollados a través de la manipulación genética de organismos, ya sea que dicha fuente se conozca actualmente o se desarrolle más tarde.

- 25 En algunas realizaciones, aparte de un probiótico en sí mismo, la(s) composición(es) nutricional(es) de la presente descripción puede(n) comprender un sobrenadante de cultivo de una fase de crecimiento exponencial tardía de un proceso de cultivo por lotes de probióticos (en lo sucesivo denominado "sobrenadante de cultivo"); en realizaciones específicas, el probiótico es LGG. El sobrenadante de cultivo por lotes (que también se puede denominar "medio agotado") puede poseer protección contra la infección por patógenos, incluida la infección por *C. sakazakii*. Específicamente, el sobrenadante de cultivo recolectado puede prevenir la invasión de *C. sakazakii* a órganos como el cerebro y reducir la mortalidad asociada con *C. sakazakii*.

- 30 En algunas realizaciones, la composición nutricional comprende un sobrenadante de cultivo de una fase de crecimiento exponencial tardía de un proceso de cultivo por lotes de probióticos, para uso en el tratamiento o prevención de la infección por patógenos. En ciertas realizaciones, el probiótico es LGG, y el patógeno es *C. sakazakii*.

- 35 Sin pretender ajustarse a la teoría, se cree que la actividad del sobrenadante de cultivo se puede atribuir a la mezcla de componentes (incluidos los materiales proteínicos y, posiblemente, los materiales de (exo)polisacáridos) como se encuentran liberados en el medio de cultivo en una etapa tardía de la fase exponencial (o "log") del cultivo por lotes de LGG. Se cree que la composición química del sobrenadante de cultivo es una mezcla de una pluralidad de aminoácidos, oligo y polipéptidos y proteínas, de diversos pesos moleculares. El sobrenadante de cultivo puede comprender además estructuras de polisacáridos y/o nucleótidos. En algunas realizaciones, el sobrenadante de cultivo pertenece al sobrenadante de cultivo entero, es decir, no fraccionado. Además, en algunas realizaciones, el sobrenadante de cultivo pertenece al sobrenadante de cultivo entero, es decir, no fraccionado.

- 40 Las etapas reconocidas en el cultivo por lotes de bacterias son conocidas por los expertos. Estas son las fases de "retardo", "log" ("logarítmica" o "exponencial"), la fase "estacionaria" y de "muerte" (o "declinación logarítmica"). En todas las fases en las que hay presentes bacterias vivas, las bacterias metabolizan los nutrientes de los medios y secretan (infunden, liberan) materiales en el medio de cultivo. La composición del material secretado en un punto determinado en el tiempo de las etapas de crecimiento no es generalmente predecible.

- 45 En algunas realizaciones, una composición de acuerdo con la descripción y/o las realizaciones de la misma se puede obtener mediante un proceso que comprende las etapas de (a) someter un probiótico tal como LGG a un cultivo en un medio de cultivo adecuado usando un proceso por lotes; (b) recoger el sobrenadante de cultivo en una fase de crecimiento exponencial tardía de la etapa de cultivo, cuya fase se define con referencia a la segunda mitad del tiempo entre la fase de retardo y la fase estacionaria del proceso de cultivo por lotes; (c) eliminar opcionalmente los constituyentes de bajo peso molecular del sobrenadante para retener los constituyentes de peso molecular por encima de 5 kiloDaltons (kDa) o incluso por encima de 6 kDa; (d) eliminar los contenidos líquidos del sobrenadante del cultivo para obtener la composición.

50 En la presente descripción y las realizaciones de la misma, los materiales secretados se recolectan de una fase exponencial tardía. La fase exponencial tardía se produce en el tiempo después de la fase exponencial media (que es

la mitad del tiempo de la duración de la fase exponencial, y, por lo tanto, la referencia a la fase exponencial tardía es la segunda mitad del tiempo entre la fase de retraso y la fase estacionaria). En particular, el término "fase exponencial tardía" se utiliza en el presente documento con referencia a la tercer última parte del tiempo entre la fase de retraso y la fase estacionaria del proceso de cultivo por lotes. En algunas realizaciones de la presente descripción, la recolección del sobrenadante del cultivo se encuentra en un punto en el tiempo del 75% al 85% de la duración de la fase exponencial, y más preferiblemente está en aproximadamente 5/6 del tiempo transcurrido en la fase exponencial.

El término "cultivo" o "cultivar" se refiere a la propagación de microorganismos, en este caso LGG, sobre o en un medio adecuado. Dicho medio de cultivo puede ser de una variedad de tipos, y es particularmente un caldo líquido, como es habitual en la técnica. Un caldo preferido, por ejemplo, es caldo MRS como se utiliza generalmente para el cultivo de lactobacilos. El caldo MRS generalmente comprende polisorbato, acetato, magnesio y manganeso, que se sabe que actúan como factores de crecimiento especiales para los lactobacilos, así como una base nutritiva rica. Una composición típica comprende (cantidades en g/litro): peptona de caseína 10,0; extracto de carne 8,0; extracto de levadura 4,0; D(+)-glucosa 20,0; fosfato de hidrógeno dipotásico 2,0; Tween® 80 1,0; citrato de triamonio 2,0; acetato de sodio 5,0; sulfato de magnesio 0,2; sulfato de manganeso 0,04.

En algunas realizaciones, el sobrenadante de cultivo de la presente descripción puede incluirse en una composición nutricional que es una fórmula para lactantes. La recolección de productos bacterianos secretados provoca el problema de que los medios de cultivo no pueden despojarse fácilmente de los componentes no deseados. Esto se relaciona específicamente con productos nutricionales para sujetos relativamente vulnerables, tales como fórmulas para lactantes o la nutrición clínica. No se incurre en este problema si los componentes específicos de un sobrenadante de cultivo se aíslan, purifican y luego se aplican en un producto nutricional. Sin embargo, se desea hacer uso de un sobrenadante de cultivo más completo. Esto serviría para proporcionar una composición que refleje mejor la acción natural del probiótico (es decir, LGG). Sin embargo, no se puede usar el sobrenadante de cultivo como base para que los materiales probióticos no viables se utilicen específicamente en fórmulas para lactantes y similares.

En algunas realizaciones, el sobrenadante de cultivo recolectado del cultivo de LGG no contiene componentes (como pueden estar presente en el medio de cultivo) que no son deseados, o generalmente aceptados, en composiciones nutricionales, tales como una fórmula para lactantes. Con referencia al polisorbato presente regularmente en el caldo MRS, los medios para el cultivo de bacterias pueden incluir un agente tensioactivo no iónico emulsionante, p. ej., sobre la base de sorbitán polietoxilado y ácido oleico (típicamente disponible como polisorbatos Tween®, tal como Tween® 80). Si bien estos surfactantes se encuentran con frecuencia en productos alimenticios, p. ej. helados, y son generalmente reconocidos como seguros, no en todas las jurisdicciones se los considera convenientes, o incluso aceptables para su uso en productos nutricionales para sujetos relativamente vulnerables, tal como en las fórmulas para lactantes o la nutrición clínica.

La presente descripción, por lo tanto, en algunas realizaciones utiliza un medio de cultivo en el que se pueden evitar los polisorbatos mencionados anteriormente. Para este fin, un medio de cultivo de la descripción carece de polisorbatos tales como Tween 80. En una realización preferida de la descripción y/o en las realizaciones de la misma, el medio de cultivo puede comprender un ingrediente oleoso seleccionado del grupo que consiste en ácido oleico, aceite de linaza, aceite de oliva, aceite de colza, aceite de girasol y mezclas de los mismos. Se entenderá que se obtiene el beneficio completo del ingrediente oleoso si se evita de manera esencial o total la presencia de un agente tensioactivo polisorbato.

El sobrenadante de cultivo, en algunas realizaciones, puede tener un pH neutro, tal como un pH entre pH 5 y pH 7, preferiblemente pH 6.

Además de lo anterior, se debe tener en cuenta que el cultivo por lotes de lactobacilos, incluyendo LGG, es de conocimiento general común y disponible para el experto en la técnica. Por lo tanto, estos métodos no requieren una explicación más detallada en esta memoria. El sobrenadante de cultivo de la presente descripción se puede recolectar mediante cualquier técnica conocida para separar el sobrenadante de cultivo de un cultivo bacteriano. Dichas técnicas son bien conocidas en la técnica e incluyen, por ejemplo, centrifugación, filtración, sedimentación y similares.

La(s) composición(es) nutricional(es) descrita(s) puede(n) proporcionarse en cualquier forma conocida en la técnica, tal como un polvo, un gel, una suspensión, una pasta, un sólido, un líquido, un concentrado líquido, un sustituto de leche en polvo reconstituible, o un producto listo para usar. La composición nutricional puede, en ciertas realizaciones, comprender un suplemento nutricional, un producto nutricional para niños, una fórmula para lactantes, un fortificante de leche humana, leche de crecimiento o cualquier otra composición nutricional diseñada para un lactante o un sujeto pediátrico. Las composiciones nutricionales de la presente descripción incluyen, por ejemplo, sustancias ingeribles por vía oral que promueven la salud y que incluyen, por ejemplo, alimentos, bebidas, tabletas, cápsulas y polvos. Además, la composición nutricional de la presente descripción se puede estandarizar a un contenido calórico específico, se puede proporcionar como un producto listo para usar, o se puede proporcionar en una forma concentrada. En algunas realizaciones, la composición nutricional está en forma de polvo con un tamaño de partícula en el intervalo de 5 µm a 1500 µm, más preferiblemente en el intervalo de 10 µm a 300 µm.

Si la composición nutricional es en forma de un producto listo para usar, la osmolalidad de la composición nutricional puede ser de entre aproximadamente 100 y aproximadamente 1100 mOsm/kg de agua, más típicamente de aproximadamente 200 a aproximadamente 700 mOsm/kg de agua.

5 En ciertas realizaciones, la composición nutricional es hipoalergénica. En otras realizaciones, la composición nutricional es kosher y/o halal. En otras realizaciones adicionales, la composición nutricional contiene ingredientes no modificados genéticamente. En una realización, la formulación nutricional está libre de sacarosa. La composición nutricional también puede estar libre de lactosa. En otras realizaciones, la composición nutricional no contiene ningún aceite triglicérido de cadena media. En algunas realizaciones, no hay carragenina presente en la composición. En otras realizaciones, la composición nutricional está libre de todas las gomas.

10 La composición nutricional de la presente descripción no se limita a composiciones que comprenden nutrientes enumerados específicamente en esta memoria. Cualquier nutriente puede suministrarse como parte de la composición con el fin de satisfacer las necesidades nutricionales y/o para optimizar el estado nutricional de un sujeto.

15 Además, en algunas realizaciones, la composición nutricional es nutricionalmente completa, y contiene tipos y cantidades adecuadas de lípidos, carbohidratos, proteínas, vitaminas y minerales para ser la única fuente de nutrición del sujeto. De hecho, la composición nutricional puede incluir opcionalmente cualquier número de proteínas, péptidos, aminoácidos, ácidos grasos, probióticos y/o sus subproductos metabólicos, prebióticos, carbohidratos y cualquier otro nutriente u otro compuesto que pueda proporcionar muchos beneficios nutricionales y fisiológicos a un sujeto. Además, la composición nutricional de la presente descripción puede comprender sabores, potenciadores del sabor, edulcorantes, pigmentos, vitaminas, minerales, ingredientes terapéuticos, ingredientes alimenticios funcionales, 20 ingredientes alimenticios, ingredientes de procesamiento o combinaciones de los mismos.

La composición nutricional de la presente descripción puede estandarizarse a un contenido calórico específico, puede proporcionarse como un producto listo para usar, o puede proporcionarse en una forma concentrada.

25 En algunas realizaciones, la composición nutricional de la presente descripción es una leche de crecimiento. Las leches de crecimiento son bebidas a base de leche fortificada destinadas a niños mayores de 1 año (generalmente de 1 a 3 años de edad, de 4 a 6 años de edad o de 1 a 6 años de edad). No son alimentos médicos y no pretenden ser un sustituto de comidas o un suplemento para tratar una deficiencia nutricional en particular. En cambio, las leches de crecimiento están diseñadas para servir como complemento de una dieta diversa para brindar una seguridad adicional de que el niño logra una ingesta diaria y continua de todas las vitaminas y minerales esenciales, macronutrientes y componentes dietéticos funcionales adicionales, tales como nutrientes no esenciales con supuestas propiedades 30 promotoras de la salud.

La composición exacta de una composición nutricional de acuerdo con la presente descripción puede variar de un mercado a otro, dependiendo de las regulaciones locales y de la información sobre ingesta dietética de la población de interés. En algunas realizaciones, las composiciones nutricionales según la descripción consisten en una fuente de 35 proteínas de la leche, tal como leche entera o descremada, más azúcar y edulcorantes agregados para lograr las propiedades sensoriales deseadas, y vitaminas y minerales agregados. La composición de grasa deriva típicamente de las materias primas de la leche. La proteína total puede estar destinada a coincidir con la de la leche humana, la leche de vaca o un valor inferior. Los carbohidratos totales generalmente tienen como objetivo proporcionar la menor cantidad de azúcar agregada, como sacarosa o fructosa, según sea posible para lograr un sabor aceptable. Por lo general, la vitamina A, el calcio y la vitamina D se añaden a niveles que igualan el aporte de nutrientes de la leche de vaca regional. De lo contrario, en algunas realizaciones, se pueden añadir vitaminas y minerales a niveles que 40 proporcionan aproximadamente el 20% de la ingesta dietética de referencia (DRI, por sus siglas en inglés) o el 20% del valor diario (DV, por sus siglas en inglés) por porción. Además, los valores de los nutrientes pueden variar entre los mercados dependiendo de las necesidades nutricionales identificadas de la población, los aportes de materias primas y las regulaciones regionales.

45 También se pueden añadir una o más vitaminas y/o minerales a la composición nutricional en cantidades suficientes para satisfacer los requerimientos nutricionales diarios de un sujeto. Un experto en la técnica entenderá que los requerimientos de vitaminas y minerales variarán, por ejemplo, en función de la edad del niño. Por ejemplo, un lactante puede tener requerimientos de vitaminas y minerales diferentes a un niño entre las edades de uno y trece años. Por lo tanto, las realizaciones no pretenden limitar la composición nutricional a un grupo de edad en particular, sino más bien proporcionar un rango aceptable de componentes de vitaminas y minerales. 50

En realizaciones que proporcionan una composición nutricional para un niño, la composición puede incluir opcionalmente, pero no se limita a, una o más de las siguientes vitaminas o sus derivados: vitamina B₁ (tiamina, pirofosfato de tiamina, TPP, trifosfato de tiamina, TTP, clorhidrato de tiamina, mononitrato de tiamina), vitamina B₂ (riboflavina, mononucleótido de flavina, FMN, flavina- adenina- dinucleótido, FAD, lactoflavina, ovoflavina), vitamina B₃ (niacina, ácido nicotínico, nicotinamida, nicotinamida, nicotinamida), precursor triptófano de vitamina B₃, vitamina B₆ (piridoxina, piridoxal, piridoxamina, hidrocloreuro de piridoxina), ácido pantoténico (pantotenato, pantenol), folato (ácido fólico, folacina, ácido pteroilglutámico), vitamina B₁₂ (cobalamina, metilcobalamina, desoxiadensilcobalamina, cianocobalamina, hidroxicobalamina, adenosilcobalamina), biotina, vitamina C (ácido ascórbico), vitamina A (retinol, acetato de retinilo, palmitato de retinilo, ésteres de retinilo con otros ácidos grasos de cadena larga, retinal, ácido 55

retinoico, ésteres de retinol), vitamina D (calciferol, colecalciferol, vitamina D₃, 1,25,-dihidroxitamina D), vitamina E (α -tocoferol, acetato de α -tocoferol, succinato de α -tocoferol, nicotinato de α -tocoferol, α -tocoferol), vitamina K (vitamina K₁, filoquinona, naftoquinona, vitamina K₂, menaquinona-7, vitamina K₃, menaquinona-4, menadiona, menaquinona-8, menaquinona-8H, menaquinona-9, menaquinona-9H, menaquinona-10, menaquinona-11, menaquinona-12, menaquinona-13), colina, inositol, β -caroteno y cualquier combinación de los mismos.

En las realizaciones que proporcionan un producto nutricional para niños, tal como una leche de crecimiento, la composición puede incluir opcionalmente, pero no se limita a, uno o más de los siguientes minerales o derivados de los mismos: boro, calcio, acetato de calcio, gluconato de calcio, cloruro de calcio, lactato de calcio, fosfato de calcio, sulfato de calcio, cloruro, cromo, cloruro de cromo, picolonato de cromo, cobre, sulfato de cobre, gluconato de cobre, sulfato cúprico, fluoruro, hierro, carbonil hierro, hierro férrico, fumarato ferroso, ortofosfato férrico, trituración de hierro, hierro polisacárido, yoduro, yodo, magnesio, carbonato de magnesio, hidróxido de magnesio, óxido de magnesio, estearato de magnesio, sulfato de magnesio, manganeso, molibdeno, fósforo, potasio, fosfato de potasio, yoduro de potasio, cloruro de potasio, acetato de potasio, acetato de potasio, selenio, azufre, sodio, docusato de sodio, cloruro de sodio, selenato de sodio, molibdato de sodio, zinc, óxido de zinc, sulfato de zinc y mezclas de los mismos. Los derivados ejemplares no limitativos de compuestos minerales incluyen sales, sales alcalinas, ésteres y quelatos de cualquier compuesto mineral.

Los minerales se pueden añadir a leches de crecimiento o a otras composiciones nutricionales para niños en forma de sales tales como fosfato de calcio, fosfato de glicerol de calcio, citrato de sodio, cloruro de potasio, fosfato de potasio, fosfato de magnesio, sulfato ferroso, sulfato de zinc, sulfato cúprico, sulfato de manganeso y selenito de sodio. Se pueden agregar vitaminas y minerales adicionales como se conoce en la técnica.

En una realización, la composición nutricional de los niños puede contener entre aproximadamente 10 y aproximadamente 50% de la recomendación dietética máxima para cualquier país, o entre aproximadamente el 10 y aproximadamente el 50% de la recomendación dietética promedio para un grupo de países, por porción de vitaminas A, C y E, zinc, hierro, yodo, selenio y colina. En otra realización, la composición nutricional para los niños puede proporcionar alrededor del 10-30% de la recomendación dietética máxima para un país determinado, o alrededor del 10-30% de la recomendación dietética promedio para un grupo de países, por porción de vitaminas B. En otra realización más, los niveles de vitamina D, calcio, magnesio, fósforo y potasio en el producto nutricional para niños pueden corresponder con los niveles promedio encontrados en la leche. En otras realizaciones, otros nutrientes en la composición nutricional para niños pueden estar presentes en aproximadamente el 20% de la recomendación dietética máxima para cualquier país, o aproximadamente el 20% de la recomendación dietética promedio para un grupo de países, por porción.

La composición o composiciones nutricionales de la presente descripción pueden incluir opcionalmente uno o más de los siguientes agentes saborizantes, que incluyen, entre otros, extractos saborizados, aceites volátiles, saborizantes de cacao o chocolate, saborizantes de mantequilla de maní, migas de galletas dulces, vainilla o cualquier saborizante disponible en el mercado. Los ejemplos de saborizantes útiles incluyen, pero no se limitan a, extracto de anís puro, extracto de banana sintético, extracto de cereza sintético, extracto de chocolate, extracto de limón puro, extracto de naranja puro, extracto de menta puro, miel, extracto de piña sintético, extracto de ron sintético, extracto de fresa sintético, uva y extracto de semilla de uva, extracto de manzana, extracto de arándano o extracto de vainilla; o aceites volátiles, como aceite de bálsamo, aceite de laurel, aceite de bergamota, aceite de madera de cedro, aceite de cereza, aceite de canela, aceite de clavo o aceite de menta; mantequilla de maní, sabor a chocolate, migas de galletas de vainilla, caramelo, toffee y mezclas de los mismos. Las cantidades de agente saborizante pueden variar mucho dependiendo del agente saborizante utilizado. El tipo y la cantidad de agente saborizante pueden seleccionarse según se conoce en la técnica.

Las composiciones nutricionales de la presente descripción pueden incluir opcionalmente uno o más emulsionantes que pueden añadirse para la estabilidad del producto final.

Los ejemplos de emulsionantes adecuados incluyen, pero no se limitan a, lecitina (por ejemplo, de huevo o soja o cualquier otra fuente vegetal y animal), alfa lactoalbúmina y/o mono y diglicéridos, y mezclas de los mismos. Otros emulsionantes son fácilmente evidentes para el experto en la técnica y la selección de emulsionante(s) adecuado(s) dependerá, en parte, de la formulación y del producto final.

Las composiciones nutricionales de la presente descripción pueden incluir opcionalmente uno o más conservantes que también pueden añadirse para prolongar la vida útil del producto. Los conservantes adecuados incluyen, pero no se limitan a, sorbato de potasio, sorbato de sodio, benzoato de potasio, benzoato de sodio, EDTA de calcio disódico y mezclas de los mismos.

Las composiciones nutricionales de la presente descripción pueden incluir opcionalmente uno o más estabilizantes. Los estabilizantes adecuados para usar en la práctica de la composición nutricional de la presente descripción incluyen, pero no se limitan a, goma arábiga, goma ghatti, goma karaya, goma tragacanto, agar, furcellaran, goma guar, goma gellan, goma de algarroba, pectina, baja metoxil pectina, gelatina, celulosa microcristalina, CMC (carboximetilcelulosa sódica), metilcelulosa, hidroxipropil metil celulosa, hidroxipropilcelulosa, DATEM (ésteres de ácido diacetil tartárico de mono y diglicéridos), dextrano, carragenanos, CITREM, y mezclas de los mismos.

Las composiciones nutricionales descritas en la presente memoria ventajosamente reducen la respuesta inflamatoria en un sujeto.

5 En algunas realizaciones, el sujeto objetivo puede ser un sujeto pediátrico. Además, en una realización, la composición nutricional proporcionada al sujeto pediátrico puede ser una fórmula para lactantes. El componente peptídico identificado en el presente documento y agregado a la fórmula para lactantes puede seleccionarse de una fuente específica y sus concentraciones pueden ajustarse para maximizar los beneficios para la salud. En otra realización de este método, la composición nutricional que comprende el componente peptídico descrito aquí es una leche de crecimiento.

10 En las realizaciones en donde la composición nutricional es una fórmula para lactantes, la composición puede reducir ventajosamente una respuesta proinflamatoria en el lactante y, por lo tanto, reducir la incidencia de enfermedad inflamatoria. Además, la reducción de la enfermedad inflamatoria puede durar toda la infancia y hasta la edad adulta. De manera similar, cuando la composición nutricional es una leche de crecimiento, un niño que ingiere leche de crecimiento puede experimentar una reducción en la incidencia de la enfermedad inflamatoria en la edad adulta, así como durante la infancia.

15 Ejemplo 1

El Ejemplo 1 ilustra además un método para producir una proteína parcialmente hidrolizada. Inicialmente, se mezclaron 60,3 kg de sólidos no lácteos (leche en polvo) y 37,4 kg de concentrado de proteína de suero (60%) en un tanque que contenía agua a 54°C. La suspensión tenía un contenido total de sólidos de entre 20% y 23%. Después se midió el pH de la suspensión. Se añadieron hidróxido de sodio y potasio a la suspensión para ajustar el pH de la suspensión a 7,0. Después de ajustar el pH, se añadieron 0,5 kg de enzima Amano N a la suspensión. Después de la adición de Amano N a la suspensión, el pH se ajustó continuamente a un pH de 7,0 utilizando hidróxido de sodio e hidróxido de potasio. La cantidad total de hidróxido de sodio añadido a la suspensión fue de 0,3 kg. La cantidad total de hidróxido de potasio añadido a la suspensión fue de 1,5 kg.

25 Se permitió la hidrólisis durante 90 minutos, comenzando el tiempo con la adición de la enzima Amano N a la suspensión. Al final de los 90 minutos, la suspensión se trató con calor para inactivar la enzima. El tratamiento térmico consistió en elevar la temperatura de la suspensión a 82°C durante 10 minutos. El grado de hidrólisis obtenido en este ejemplo fue entre 6% y 9%. La suspensión se enfrió luego y se secó por pulverización para obtener un hidrolizado en polvo.

Ejemplo 2

30 El Ejemplo 2 proporciona un método no limitante para determinar la distribución del peso molecular de los péptidos hidrolizados.

Se utilizó la cromatografía de exclusión por tamaño (SEC) para determinar la distribución del peso molecular de los péptidos hidrolizados creados por el proceso de hidrólisis actualmente descrito. Específicamente, se pesó una cantidad suficiente de la fórmula para lactantes en polvo para proporcionar 0,5 gramos de proteína en un tubo de centrifuga cónico de 50 ml. Se añadió agua para llevar el tubo a un volumen de 45 ml. La mezcla se colocó en un mezclador Sarstedt D-5223 y se mezcló durante una hora. Después de mezclar, se creó una solución de proteína al 1% agregando otros 5 ml de agua al tubo. Se preparó una mezcla estándar y también se mezcló durante una hora.

40 Por separado, se añadieron 14,91 gramos de cloruro de potasio (KCl) a un vaso de precipitados de 1000 ml. El KCl se disolvió agregando 700 ml de agua al vaso de precipitados. Luego se agregaron 250 ml de acetonitrilo y 1,0 ml de ácido trifluoroacético a la solución de KCl (eluyente). El pH se ajustó a 3,0 usando una solución de K₂HPO₄ 0,2M.

Se llenó una botella del reactivo de HPCL y la botella se lavó con eluyente, reservando aproximadamente 50 ml para la dilución de muestras y estándares. Las líneas de la bomba inteligente Hitachi L-6200 A se purgaron con eluyente y las columnas se equilibraron con el eluyente durante una hora.

45 Después de mezclar las muestras durante una hora, se pipetearon 5,0 ml de cada muestra en tubos de vidrio con tapón de rosca. También se pipetearon 5,0 ml de diclorometano en cada tubo. Los tubos se taparon y se mezclaron por inversión cuatro veces. Las muestras se centrifugaron durante cinco minutos a 200 xg.

Mientras las muestras estaban en la centrifuga, los estándares de solución 1-5 se diluyeron con eluyente (800 ul + 3200 ul). Aproximadamente 1 ml de cada estándar se pipeteó en cada uno de los dos viales del inyector automático y se tapó.

50 La capa superior (acuosa) de las muestras centrifugadas 1-10 se diluyó con eluyente (100 ul + 900 ul). Los viales se cargaron en la bandeja del inyector automático de la siguiente manera: blanco, estándar, muestras y segundo estándar. La bandeja se colocó en el inyector automático Hitachi. El número total de viales a ejecutar se ingresó en el programa del inyector automático utilizando las teclas en la parte frontal del inyector automático, y se ejecutaron las muestras. Los resultados indicaron el perfil de peso molecular de la proteína.

Ejemplo 3

El ejemplo 3 está dirigido a inhibir las citocinas proinflamatorias en ensayos de células dendríticas humanas primarias por caseína extensamente hidrolizada y una fracción mayor de 500 Da de la misma. Específicamente, las citocinas proinflamatorias inhibidas incluyen, interleucina-12p70 ("IL12p70"), Interferón-gamma (IFN- γ), interleucina-8 ("IL8"), Factor de Necrosis Tumoral-alfa ("TNF α "), Interleucina-6 ("IL6"), e interleucina-1beta ("IL1 β ").

5 Los monocitos CD14+ aislados se suspendieron en medio RPMI y se suplementaron con suero bovino fetal inactivado por calor al 10% ("FBS"), penicilina/estreptomicina, 500 UI/ml de interleucina 4 recombinante ("rhIL-4") y 800 UI/ml de rhGM-CSF y se cultivaron en matraces de cultivo de tejidos a 37°C y 5% de CO₂ durante 5 días, para permitir la diferenciación en células dendríticas.

10 En el día 5, las células se sembraron en el mismo medio a 20.000 células/pocillo en placas de fondo en U de 96 pocillos, seguido de la adición de las muestras de hidrolizado que incluyen caseína extensamente hidrolizada y una fracción de la misma de más de 500 Da a una concentración final de 0,007, 0,02, 0,08 y 0,2% m/v. Se utilizó dexametasona ("Dex") a una concentración final de 1 μ g/ml como control positivo para la inhibición de la producción de citocinas. Todas las muestras fueron analizadas en duplicado biológico.

15 En el día 6, se realizó un refresco de las células con muestras de hidrolizado en medio (RPMI + 10% FBS + pen/estrep) sin GM-CSF e IL-4. Una hora después de la adición del hidrolizado, se añadió el potenciador CD40L + (Alexis) a una concentración final de 0,5 μ g/ml.

20 Las células se incubaron luego a 37°C y 5% de CO₂ durante 24 horas y, posteriormente, los sobrenadantes se recogieron y almacenaron a -20°C hasta la cuantificación de las citocinas utilizando el ensayo multiplex de citocinas proinflamatorias Meso Scale Discovery de acuerdo con las instrucciones de los fabricantes.

Como se muestra en las Figs. 1-2, la secreción de citocinas proinflamatorias de la interleucina-12p70 (IL12p70) por células dendríticas humanas primarias activadas se inhibe por la caseína extensamente hidrolizada y una fracción mayor de 500Da del hidrolizado extensivo de caseína.

25 Como se muestra en las Figs. 3-4, la secreción de citocinas proinflamatorias de interferón gamma (IFN- γ) por células dendríticas humanas activadas se inhibe mediante caseína extensamente hidrolizada y una fracción mayor de 500 Da del hidrolizado extenso de caseína.

Como se muestra en las Figs. 5-6, la secreción de citocinas proinflamatorias de la interleucina-8 (IL8) por células dendríticas humanas activadas primarias se inhibe por la caseína extensamente hidrolizada y una fracción mayor de 500 Da del hidrolizado extenso de caseína.

30 Como se muestra en las Figs. 7-8, la secreción de citocinas proinflamatorias del factor de necrosis tumoral alfa (TNF α) por células dendríticas humanas activadas primarias se inhibe mediante la caseína extensamente hidrolizada y una fracción mayor de 500 Da del hidrolizado extenso de caseína.

35 Como se muestra en las Figs. 9-10, la secreción de citocinas proinflamatorias de la interleucina-6 (IL6) por las células dendríticas humanas activadas primarias se inhibe mediante la caseína extensamente hidrolizada y una fracción mayor de 500 Da del hidrolizado extenso de caseína.

Como se muestra en las Figs. 11-12, la secreción de citocinas proinflamatorias de la interleucina-1 beta (IL1 β) por células dendríticas humanas primarias activadas se inhibe mediante la caseína extensamente hidrolizada y una fracción mayor de 500 Da del hidrolizado extenso de caseína

Ejemplo 4

40 El ejemplo 4 está dirigido a la inhibición del factor alfa de necrosis tumoral alfa ("TNF α ") de la citocina proinflamatoria en un ensayo de macrófagos humanos primarios por hidrolizado de caseína extensamente hidrolizada y una fracción mayor de 500 Da del mismo.

45 Los monocitos aislados se suspendieron en el medio RPMI complementado con suero bovino fetal inactivado por calor (FBS) al 10% y penicilina/estreptavidina. Se añadió M-CSF humano recombinante a una concentración final de 100 ng/ml y las células se incubaron a 37°C y 5% de CO₂ durante 5 días.

En el día 5, las muestras de hidrolizado que incluyen caseína extensamente hidrolizada y una fracción mayor de 500 Da de la misma a una concentración final de 0,007, 0,02, 0,08 y 0,2% m/v se agregaron en medio RPMI con M-CSF.

50 En el día 6, se retiró el medio que incluía las muestras de hidrolizado y las células se refrescaron con muestras de hidrolizado en medio sin M-CSF. Una hora después de la adición del hidrolizado, se añadió LPS (*E. Coli* (0111: 84) a una concentración final de 10 ng/ml. Las células se incubaron a 37°C y 5% de CO₂ durante 24 horas y posteriormente los sobrenadantes se recogieron y se almacenaron a -20°C hasta la cuantificación de TNF α utilizando el ensayo de TNF α de Meso Scale Discovery según las instrucciones del fabricante

Como se muestra en las Figs. 13-14, la secreción de citocinas proinflamatorias del factor de necrosis tumoral alfa (TNF α) de los macrófagos humanos primarios activados se inhibe mediante la caseína extensamente hidrolizada y una fracción de más de 500 Da del hidrolizado extenso de caseína

Ejemplo 5

- 5 El ejemplo 5 está dirigido a la evaluación de la expresión de ARN mensajero de citocinas proinflamatorias en el íleon de ratones diabéticos no obesos (NOD).

10 Brevemente, se usaron ratones BALB/c hembra de la misma edad como ratones control sanos. Los ratones BALB/c se mantuvieron con la alimentación balanceada regular si no se indicaba de otro modo, mientras que los ratones NOD se mantuvieron con la alimentación balanceada regular o con una formulación dietética que contenía caseína (CH) extensamente hidrolizada, a partir del momento del destete.

El aislamiento de ARN a partir de muestras de íleon se realizó mediante un kit de aislamiento de ARN. Se sintetizó ADNc y se evaluó la expresión de citocinas por PCR cuantitativa en tiempo real. Los números de copias absolutos de ARN (moléculas/ μ g) se calcularon mediante estándares de funcionamiento y gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa (GAPDH) como control de carga.

- 15 Como se puede ver en las Figs. 15-18, la secreción de citocinas proinflamatorias de IL1, IL6, IL18 e IL17 en el íleon de ratones NOD se eleva en comparación con los ratones control sanos (BALB/C) de la misma edad. Estos niveles elevados disminuyen en los ratones NOD alimentados con una dieta de caseína extensamente hidrolizada.

Ejemplo 6

- 20 El ejemplo 6 está dirigido a la evaluación de perfiles de citocinas proinflamatorias de células T aisladas de ganglios linfáticos que drenan al intestino de ratones no obesos diabéticos (NOD).

Brevemente, se usaron ratones BALB/c hembra de la misma edad como ratones de control sanos. Los ratones BALB/c se mantuvieron con alimentación balanceada regular si no se indicaba de otro modo, mientras que los ratones NOD se mantuvieron con alimentación balanceada regular o una formulación dietética que contenía caseína (CH) extensamente hidrolizada, a partir del momento del destete.

- 25 Las células ganglionares mesentéricas aisladas de cada grupo de ratones se estimularon con anti-CD3 unido a la placa en medio completo (DMEM con 10% (vol./vol.) de FBS, 2 mmol/l de L-glutamina, 100 U/ml de penicilina más estreptomycinina). Las fracciones del sobrenadante se recogieron 48 h después para el análisis de citocinas con matrices de perlas de citocinas multiplex según las instrucciones de los fabricantes.

- 30 Como se muestra en las Figs. 19-21, la secreción de citocinas proinflamatorias IFN- γ , IL4 e IL17 de las células T del ganglio linfático que drenan al intestino de ratones NOD está elevada en comparación con los ratones control sanos (BALB/C) de la misma edad. Estos niveles elevados se redujeron en ratones NOD mediante una dieta de caseína extensamente hidrolizada.

Ejemplo 7

El Ejemplo 7 está dirigido al análisis de la secreción de citocinas en una línea celular de macrófagos murinos.

- 35 La línea celular de macrófagos murinos J774A.1 se mantuvo en RPMI-1640 suplementado con suero de ternera fetal al 10% (v/v), 50 UI/ml de penicilina y 0,5 mg/ml de estreptomycinina. Las células se incubaron a 37°C con 5% de CO₂.

40 Las muestras de hidrolizado de caseína que incluyen caseína extensamente hidrolizada y una fracción mayor de 500Da de la misma se agregaron a agua estéril a una concentración de 100 mg/ml y se esterilizaron por filtración a través de filtros de nailon de 0,2 μ m. Como control adicional, también se sometió a ensayo la caseína extensamente hidrolizada esterilizada sin filtrar. Las células se colocaron en placas a 1x10⁶ células/ml y se incubaron por triplicado con una concentración final de 1 mg/ml de hidrolizado durante 1 hora. Las células se trataron luego con 100ng/ml de LPS o se dejaron sin tratar durante 24 horas antes de recoger los sobrenadantes mediante centrifugación y almacenamiento a -20°C.

- 45 Los sobrenadantes se evaluaron para cada concentración de citocinas utilizando ensayos ELISA individuales para IL-1 β , IL-6, IL12p40 y TNF- α según las instrucciones de los fabricantes. Las muestras se analizaron por triplicado y las diferencias significativas se calcularon utilizando el análisis ANOVA unidireccional ordinario en el software Graphpad Prism 6. p<0,05 se consideró significativo.

- 50 Como puede verse en las Figs. 22-25, la secreción de citocinas proinflamatorias IL-12p40 e IL-1 β de macrófagos de ratón estimulados con LPS se redujo mediante caseína extensamente hidrolizada, con o sin filtración estéril antes de la incubación de las células (* p<0,05). La secreción de la citocina proinflamatoria IL6 se redujo significativamente por la caseína extensamente hidrolizada (* p<0,05). La secreción de la citocina proinflamatoria TNF α se redujo

significativamente en la fracción mayor de 500 Da del hidrolizado extenso de caseína (* p<0,05). Los resultados también se muestran en formato de tabla en la Fig. 26.

Ejemplos de formulación

La Tabla 3 proporciona un ejemplo de realización de un componente peptídico que incluye 8 péptidos de la Tabla.

5

Tabla 3. Ejemplo de componente peptídico

Ejemplo de péptidos seleccionados para componente péptido
SEQ ID NO 5
SEQ ID NO 24
SEQ ID NO 33
SEQ ID NO 56
SEQ ID NO 64
SEQ ID NO 13
SEQ ID NO 24
SEQ ID NO 60

La Tabla 4 proporciona un ejemplo de realización de un componente peptídico que incluye ciertos péptidos de la Tabla 1.

Tabla 4. Ejemplo de componente peptídico

Ejemplo de péptidos seleccionados para componente péptido
SEQ ID NO 13
SEQ ID NO 24
SEQ ID NO 60
SEQ ID NO 5
SEQ ID NO 11
SEQ ID NO 22
SEQ ID NO 25
SEQ ID NO 33
SEQ ID NO 45
SEQ ID NO 46
SEQ ID NO 47
SEQ ID NO 48
SEQ ID NO 52
SEQ ID NO 34
SEQ ID NO 36
SEQ ID NO 61
SEQ ID NO 62

SEQ ID NO 64

La Tabla 5 proporciona un ejemplo de realización de una composición nutricional según la presente descripción y describe la cantidad de cada ingrediente a incluir por porción de 100 kcal.

Tabla 5. Perfil nutricional de un ejemplo de composición nutricional.

Nutriente	Por 100 kcal	
	Mínimo	Máximo
Fuente de equivalente proteico (g)	1,0	7,0
Carbohidratos (g)	6	22
Grasa (g)	1,3	7,2
Prebiótico (g)	0,3	1,2
DHA (g)	4	22
Beta glucano (mg)	2,9	17
Probióticos (ufc)	0,5	5,0
Vitamina A (UI)	9,60 x 10 ⁵	3,80 x 10 ⁸
Vitamina D (UI)	134	921
Vitamina E (UI)	22	126
Vitamina K (mcg)	0,8	5,4
Tiamina (mcg)	2,9	18
Riboflavina (mcg)	63	328
Vitamina B6 (mcg)	68	420
Vitamina B12 (mcg)	52	397
Niacina (mcg)	0,2	0,9
Ácido fólico (mcg)	690	5881
Ácido pantoténico (mcg)	8	66
Biotina (mcg)	232	1211
Vitamina C (mg)	1,4	5,5
Colina (mg)	4,9	24
Calcio (mg)	4,9	43
Fósforo (mg)	68	297
Magnesio (mg)	54	210
Sodio (mg)	4,9	34
Potasio (mg)	24	88
Cloruro (mg)	82	346

ES 2 736 313 T3

Yodo (mcg)	53	237
Hierro (mg)	8,9	79
Zinc (mg)	0,7	2,8
Manganeso (mcg)	0,7	2,4
Cobre (mcg)	7,2	41

Listado de secuencias

- 5 <110> Mead Johnson Nutritional Co. Ltd. Asia Pacífico
- <120> Composiciones nutricionales que contienen un componente peptídico con propiedades y usos antiinflamatorios de los mismos.
- <130> MJE00375NP
- 10 <160> 64
- <170> PatentIn versión 3.5
- 15 <210> 1
<211> 8
<212> PRT
<213> Bovinos
- <400> 1
- 20 Ala Ile Asn Pro Ser Lys Glu Asn
1 5
- <210> 2
<211> 5
<212> PRT
25 <213> Bovino
- <400> 2
- Ala Pro Phe Pro Glu
1 5
- 30 <210> 3
<211> 6
<212> PRT
<213> Bovino
- 35 <400> 3
- Asp Ile Gly Ser Glu Ser
1 5
- <210> 4
<211> 7
40 <212> PRT
<213> Bovino
- <400> 4
- Asp Lys Thr Glu Ile Pro Thr
1 5
- 45 <210> 5
<211> 5
<212> PRT
<213> Bovino
- 50 <400> 5
- Asp Met Glu Ser Thr
1 5

ES 2 736 313 T3

<210> 6
<211> 4
<212> PRT
5 <213> Bovino

<400> 6

Asp Met Pro Ile
1

10 <210> 7
<211> 4
<212> PRT
<213> Bovino

15 <400> 7

Asp Val Pro Ser
1

20 <210> 8
<211> 7
<212> PRT
<213> Bovino

<400> 8

Glu Thr Ala Pro Val Pro Leu
1 5

25 <210> 9
<211> 6
<212> PRT
<213> Bovino

30 <400> 9

Phe Pro Gly Pro Ile Pro
1 5

35 <210> 10
<211> 7
<212> PRT
<213> Bovino

<400> 10

Phe Pro Gly Pro Ile Pro Asn
1 5

40 <210> 11
<211> 4
<212> PRT
45 <213> Bovino

<400> 11

Gly Pro Phe Pro
1

50 <210> 12
<211> 4
<212> PRT
<213> Bovino

55 <400> 12

Gly Pro Ile Val
1

<210> 13
<211> 9

ES 2 736 313 T3

<212> PRT
 <213> Bovino

 <400> 13
 5 Ile Gly Ser Glu Ser Thr Glu Asp Gln
 1 5

 <210> 14
 <211> 8
 <212> PRT
 10 <213> Bovino

 <400> 14
 Ile Gly Ser Ser Ser Glu Glu Ser
 1 5

 <210> 15
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Bovino

 20 <400> 15
 Ile Gly Ser Ser Ser Glu Glu Ser Ala
 1 5

 <210> 16
 <211> 6
 25 <212> PRT
 <213> Bovino

 <400> 16
 Ile Asn Pro Ser Lys Glu
 1 5

 30
 <210> 17
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Bovino

 35 <400> 17
 Ile Pro Asn Pro Ile
 1 5

 <210> 18
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Bovino

 <400> 18
 Ile Pro Asn Pro Ile Gly
 1 5

 45
 <210> 19
 <211> 9
 <212> PRT
 50 <213> Bovino
 <400> 19
 Ile Pro Pro Leu Thr Gln Thr Pro Val
 1 5

 <210> 20
 <211> 4
 <212> PRT
 <213> Bovino

 55 <400> 20

ES 2 736 313 T3

	<211> 5		
	<212> PRT		
	<213> Bovino		
5	<400> 28	Asn Ala Val Pro Ile	
		1	5
	<210> 29		
	<211> 5		
10	<212> PRT		
	<213> Bovino		
	<400> 29	Asn Glu Val Glu Ala	
		1	5
15	<210> 30		
	<211> 6		
	<212> PRT		
	<213> Bovino		
20	<400> 30	Asn Gln Glu Gln Pro Ile	
		1	5
	<210> 31		
	<211> 5		
	<212> PRT		
	<213> Bovino		
	<400> 31	Asn Val Pro Gly Glu	
30		1	5
	<210> 32		
	<211> 6		
	<212> PRT		
35	<213> Bovino		
	<400> 32	Pro Phe Pro Gly Pro Ile	
		1	5
40	<210> 33		
	<211> 6		
	<212> PRT		
	<213> Bovino		
45	<400> 33	Pro Gly Pro Ile Pro Asn	
		1	5
	<210> 34		
	<211> 8		
50	<212> PRT		
	<213> Bovino		
	<400> 34	Pro His Gln Pro Leu Pro Pro Thr	
55		1	5
	<210> 35		
	<211> 5		
	<212> PRT		
	<213> Bovino		

ES 2 736 313 T3

	<400> 35		Pro Ile Thr Pro Thr
			1 5
5	<210> 36 <211> 4 <212> PRT <213> Bovino		
10	<400> 36		Pro Asn Pro Ile
			1
15	<210> 37 <211> 6 <212> PRT <213> Bovino		
	<400> 37		Pro Asn Ser Leu Pro Gln
20			1 5
	<210> 38 <211> 8 <212> PRT <213> Bovino		
25	<400> 38		Pro Gln Leu Glu Ile Val Pro Asn
			1 5
30	<210> 39 <211> 7 <212> PRT <213> Bovino		
	<400> 39		Pro Gln Asn Ile Pro Pro Leu
35			1 5
	<210> 40 <211> 6 <212> PRT <213> Bovino		
40	<400> 40		Pro Val Leu Gly Pro Val
			1 5
45	<210> 41 <211> 4 <212> PRT <213> Bovino		
50	<400> 41		Pro Val Pro Gln
			1
55	<210> 42 <211> 5 <212> PRT <213> Bovino		
	<400> 42		Pro Val Val Val Pro
			1 5

ES 2 736 313 T3

<210> 43
 <211> 6
 <212> PRT
 5 <213> Bovino

 <400> 43
 Pro Val Val Val Pro Pro
 1 5

 10 <210> 44
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Bovino

 15 <400> 44
 Ser Ile Gly Ser Ser Ser Glu Glu Ser Ala Glu
 1 5 10

 <210> 45
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Bovino

 <400> 45
 Ser Ile Ser Ser Ser Glu Glu
 1 5

 25 <210> 46
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Bovino

 30 <400> 46
 Ser Ile Ser Ser Ser Glu Glu Ile Val Pro Asn
 1 5 10

 <210> 47
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Bovino

 <400> 47
 Ser Lys Asp Ile Gly Ser Glu
 1 5

 <210> 48
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Bovino

 <400> 48
 Ser Pro Pro Glu Ile Asn
 1 5

 50 <210> 49
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Bovino

 55 <400> 49
 Ser Pro Pro Glu Ile Asn Thr
 1 5

 <210> 50
 <211> 7

ES 2 736 313 T3

	<212> PRT						
	<213> Bovino						
	<400> 50						
5		Thr	Asp	Ala	Pro	Ser	Phe Ser
		1				5	
	<210> 51						
	<211> 5						
10	<212> PRT						
	<213> Bovino						
	<400> 51						
		Thr	Glu	Asp	Glu	Leu	
		1				5	
15	<210> 52						
	<211> 6						
	<212> PRT						
	<213> Bovino						
20	<400> 52						
		Val	Ala	Thr	Glu	Glu	Val
		1				5	
	<210> 53						
	<211> 5						
25	<212> PRT						
	<213> Bovino						
	<400> 53						
		Val	Leu	Pro	Val	Pro	
		1				5	
30	<210> 54						
	<211> 4						
	<212> PRT						
	<213> Bovino						
35	<400> 54						
		Val	Pro	Gly	Glu		
		1					
40	<210> 55						
	<211> 6						
	<212> PRT						
	<213> Bovino						
	<400> 55						
45		Val	Pro	Gly	Glu	Ile	Val
		1				5	
	<210> 56						
	<211> 6						
	<212> PRT						
50	<213> Bovino						
	<400> 56						
		Val	Pro	Ile	Thr	Pro	Thr
		1				5	
55	<210> 57						
	<211> 4						
	<212> PRT						
	<213> Bovino						
	<400> 57						

ES 2 736 313 T3

		Val Pro Ser Glu
		1
	<210> 58	
	<211> 9	
5	<212> PRT	
	<213> Bovino	
	<400> 58	
		Val Val Pro Pro Phe Leu Gln Pro Glu
10		1 5
	<210> 59	
	<211> 5	
	<212> PRT	
	<213> Bovino	
15	<400> 59	
		Val Val Val Pro Pro
		1 5
	<210> 60	
20	<211> 6	
	<212> PRT	
	<213> Bovino	
	<400> 60	
		Tyr Pro Phe Pro Gly Pro
25		1 5
	<210> 61	
	<211> 8	
	<212> PRT	
30	<213> Bovino	
	<400> 61	
		Tyr Pro Phe Pro Gly Pro Ile Pro
35		1 5
	<210> 62	
	<211> 9	
	<212> PRT	
	<213> Bovino	
40	<400> 62	
		Tyr Pro Phe Pro Gly Pro Ile Pro Asn
		1 5
	<210> 63	
45	<211> 5	
	<212> PRT	
	<213> Bovino	
	<400> 63	
		Tyr Pro Ser Gly Ala
50		1 5
	<210> 64	
	<211> 5	
	<212> PRT	
55	<213> Bovino	
	<400> 64	
		Tyr Pro Val Glu Pro
		1 5

REIVINDICACIONES

1. Una composición nutricional que comprende:
 - (i) una fuente de carbohidratos;
 - (ii) una fuente de grasa; y
 - 5 (iii) una fuente de equivalente proteico,en donde
 - a) 20% al 80% de la fuente de equivalente proteico incluye un componente peptídico que comprende los péptidos individuales de SEQ ID NO 4, SEQ ID NO 13, SEQ ID NO 17, SEQ ID NO 21, SEQ ID NO 24, SEQ ID NO 30, SEQ ID NO 31, SEQ ID NO 32, SEQ ID NO 51, SEQ ID NO 57, SEQ ID NO 60 y SEQ ID NO 63; y
 - 10 b) 20% al 80% de la fuente de equivalente proteico comprende una proteína intacta, una proteína parcialmente hidrolizada, o combinaciones de las mismas,para uso en la reducción de la producción de citocinas proinflamatorias en un sujeto.
2. La composición nutricional para uso de la reivindicación 1, en donde el componente peptídico está presente en una cantidad de aproximadamente 0,2 g/100 kcal a aproximadamente 5,6 g/100 kcal.
- 15 3. La composición nutricional para uso de la reivindicación 1, en donde el componente peptídico además comprende al menos 10 péptidos adicionales seleccionados de SEQ ID NO 1, SEQ ID NO 2, SEQ ID NO 3, SEQ ID NO 4, SEQ ID NO 5, SEQ ID NO 6, SEQ ID NO 7, SEQ ID NO 8, SEQ. ID NO 9, SEQ ID NO 10, SEQ ID NO 11, SEQ ID NO 12, SEQ ID NO 13, SEQ ID NO 14, SEQ ID NO 15, SEQ ID NO 16, SEQ ID NO 17, SEQ ID NO 18, SEQ. ID NO 19, SEQ ID NO 20, SEQ ID NO 21, SEQ ID NO 22, SEQ ID NO 23, SEQ ID NO 24, SEQ ID NO 25, SEQ ID NO 26, SEQ ID NO 27, SEQ ID NO 28, SEQ ID NO 29, SEQ ID NO 30, SEQ ID NO 31, SEQ ID NO 32, SEQ ID NO 33, SEQ ID NO 34, SEQ ID NO 35, SEQ ID NO 36, SEQ ID NO 37, SEQ ID NO 38, SEQ. ID NO 39, SEQ ID NO 40, SEQ ID NO 41, SEQ ID NO 42, SEQ ID NO 43, SEQ ID NO 44, SEQ ID NO 45, SEQ ID NO 46, SEQ ID NO 47, SEQ ID NO 48, SEQ. ID NO 49, SEQ ID NO 50, SEQ ID NO 51, SEQ ID NO 52, SEQ ID NO 53, SEQ ID NO 54, SEQ ID NO 55, SEQ ID NO 56, SEQ ID NO 57, SEQ ID NO 58, SEQ. ID NO 59, SEQ ID NO 60, SEQ ID NO 61, SEQ ID NO 62, SEQ ID NO 63 y SEQ ID NO 64.
- 20 4. La composición nutricional para uso de la reivindicación 1, en donde la fuente de equivalente proteico comprende una proteína parcialmente hidrolizada que tiene un grado de hidrólisis menor que 40%.
5. La composición nutricional para uso de la reivindicación 1, que comprende además al menos un ácido graso poliinsaturado de cadena larga.
- 30 6. La composición nutricional para uso de la reivindicación 5, en la que al menos un ácido graso poliinsaturado de cadena larga se selecciona del grupo que consiste en ácido docosahexaenoico y ácido araquidónico.
7. La composición nutricional para uso de la reivindicación 1, que comprende además un probiótico.
8. La composición nutricional para uso de la reivindicación 1, que comprende además un prebiótico.
- 35 9. La composición nutricional para uso de la reivindicación 1, en donde las citocinas proinflamatorias se seleccionan del grupo que consiste en IL-12, IL-17, IL-5, IL-4, IFN- γ , IL-8, TNF- α , IL-6 e IL-1.

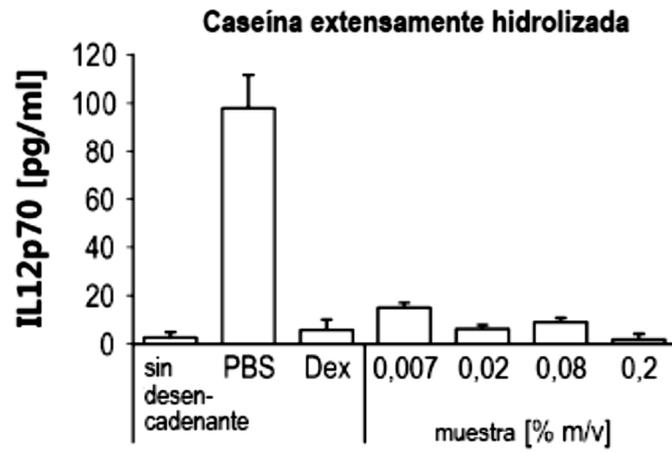


FIG. 1

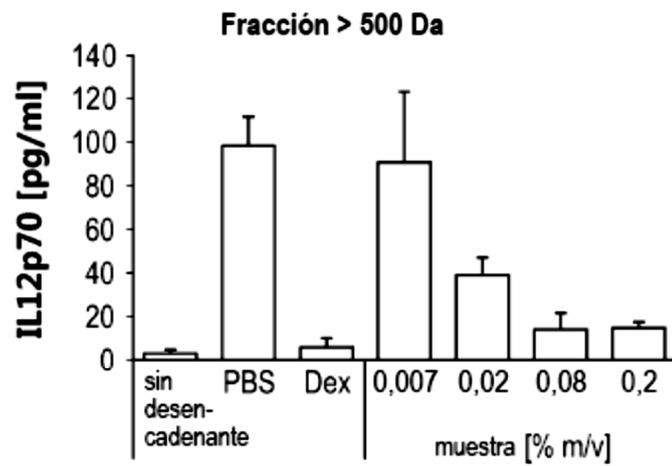


FIG. 2

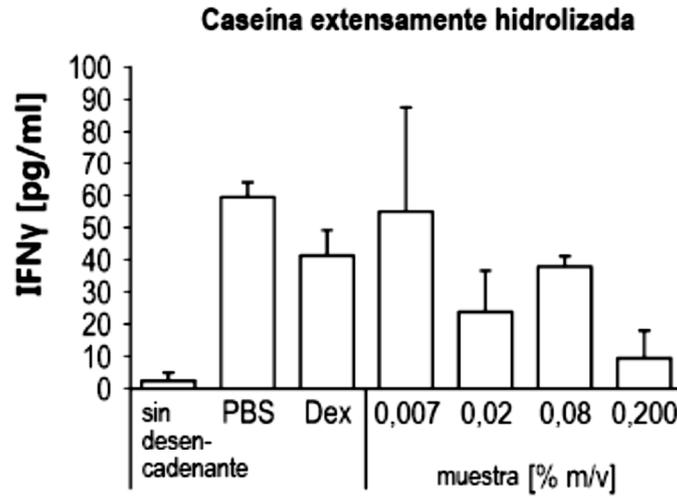


FIG. 3

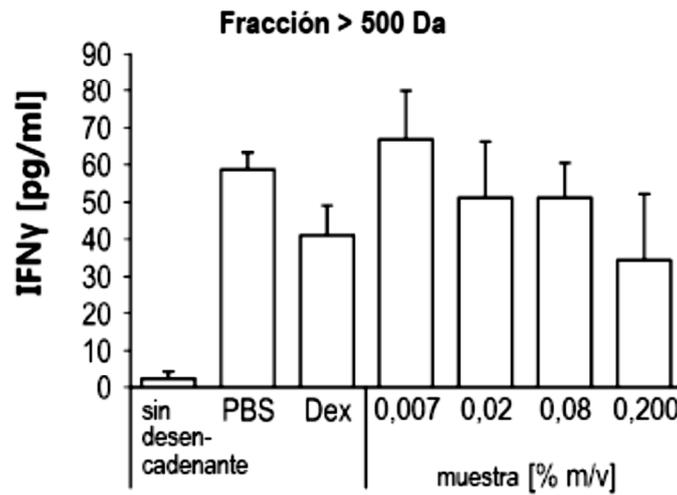


FIG. 4

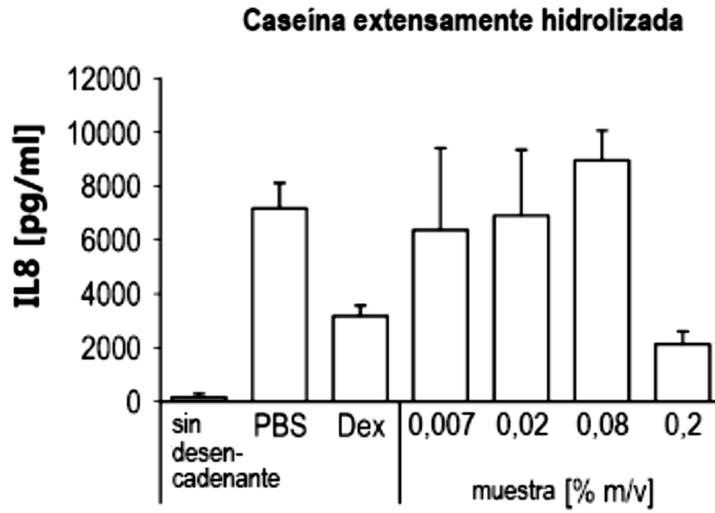


FIG. 5

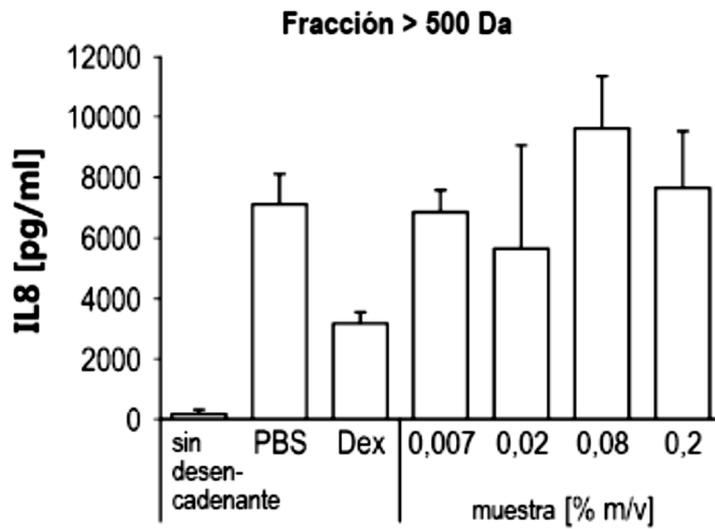


FIG. 6

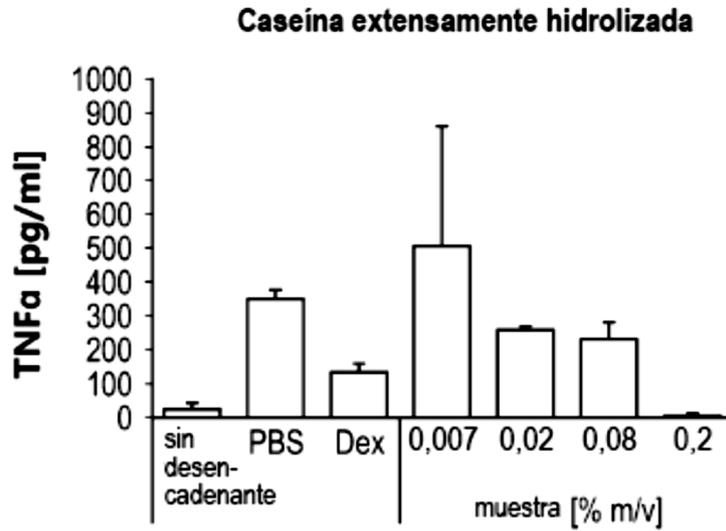


FIG. 7

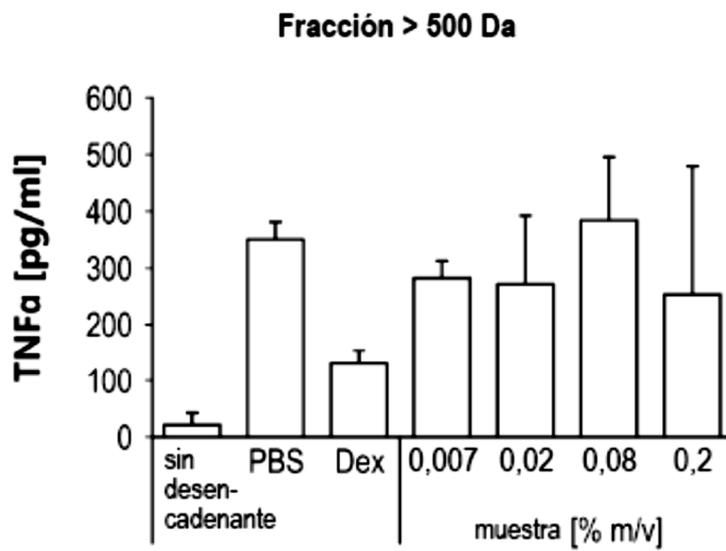


FIG. 8

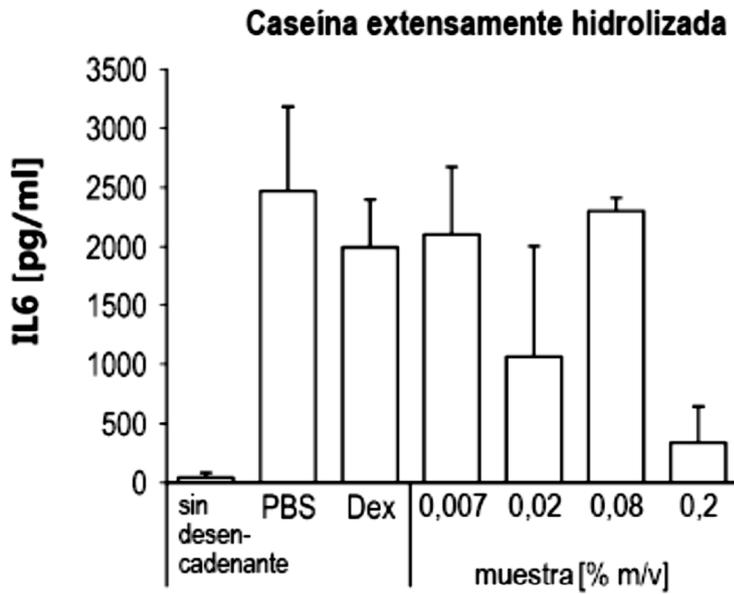


FIG. 9

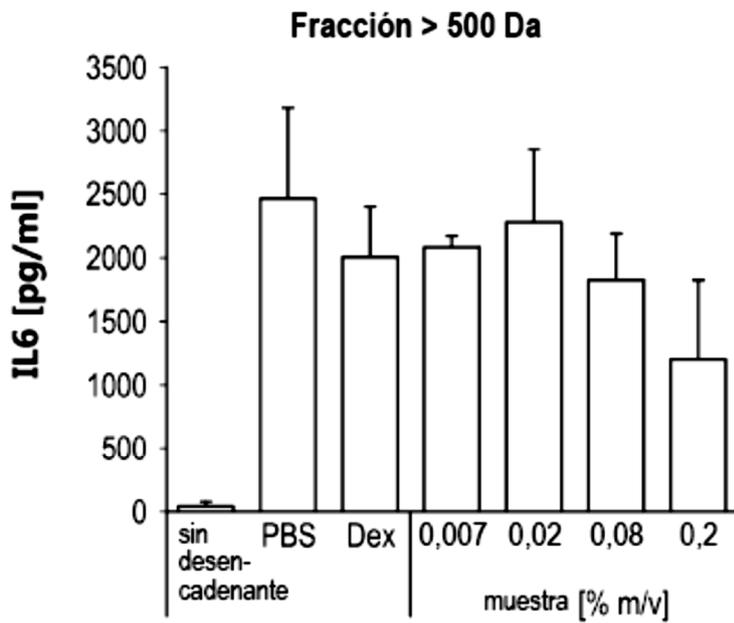


FIG. 10

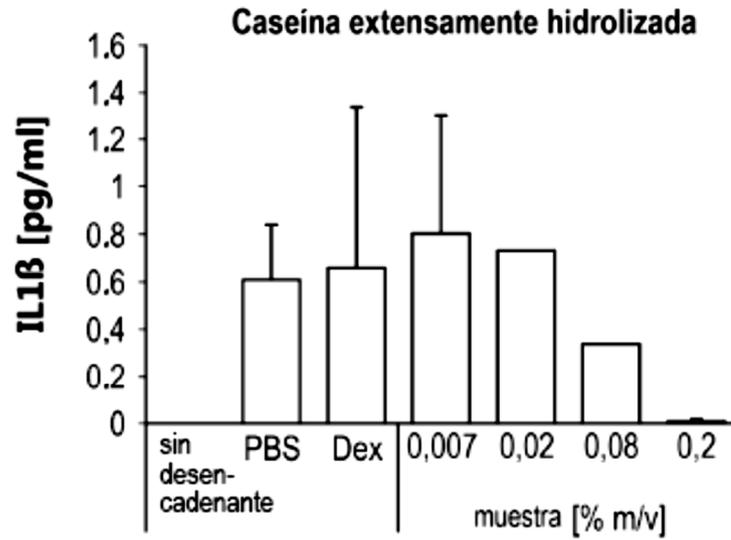


FIG. 11

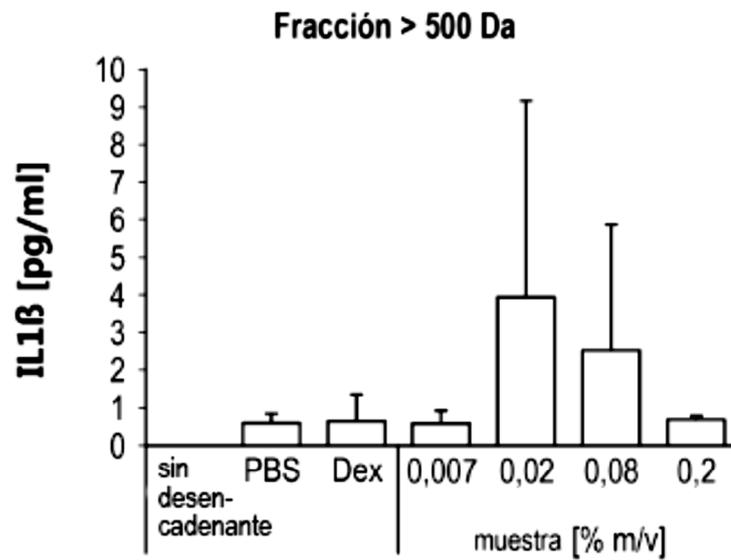


FIG. 12

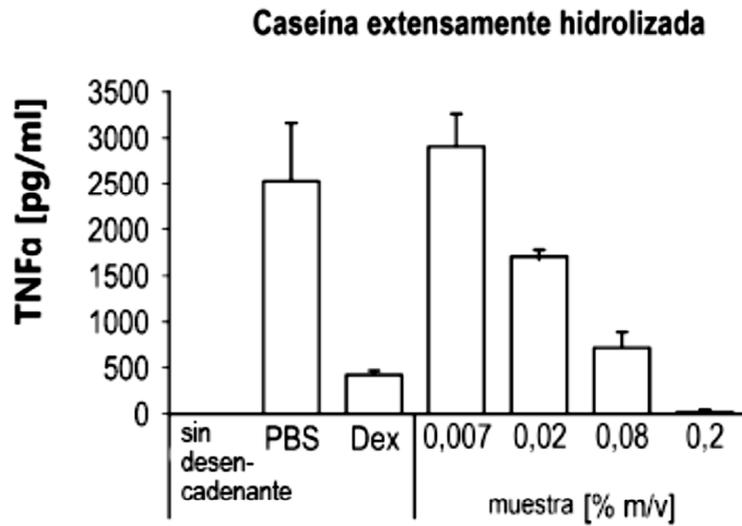


FIG. 13

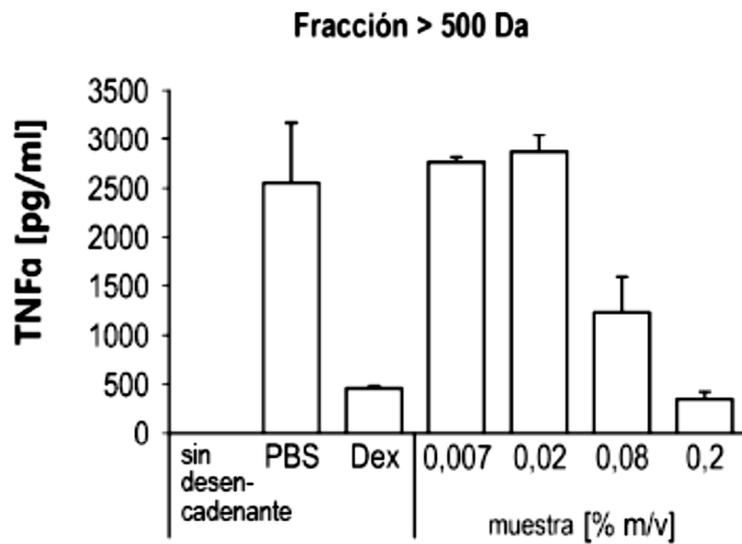


FIG. 14

FIG. 15

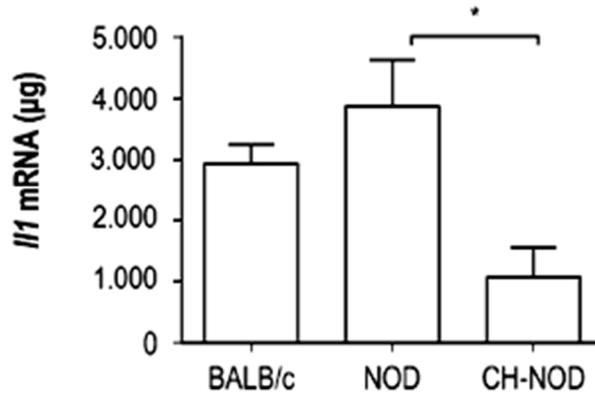


FIG. 16

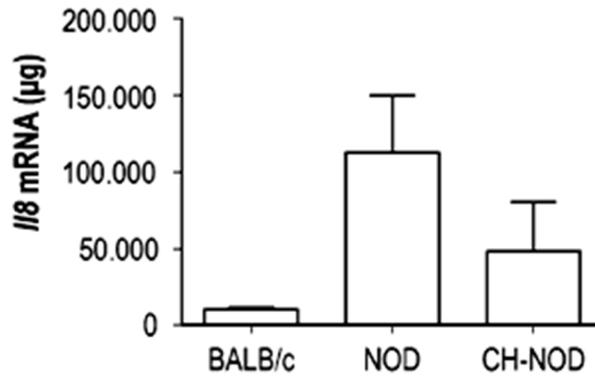


FIG. 17

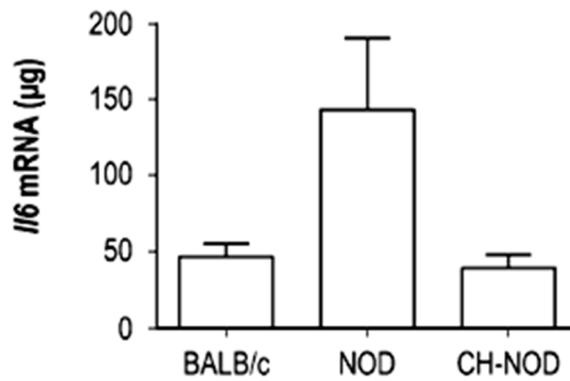


FIG. 18

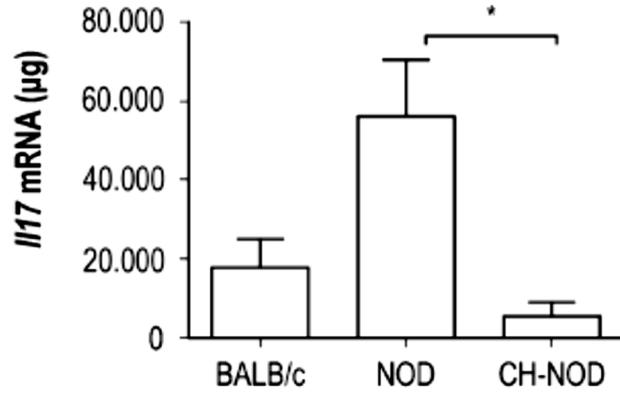


FIG. 19

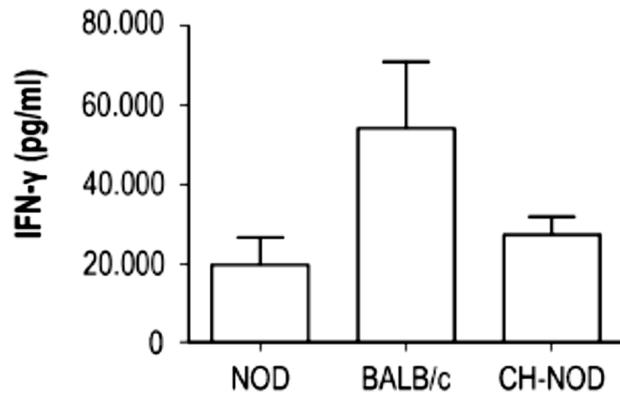
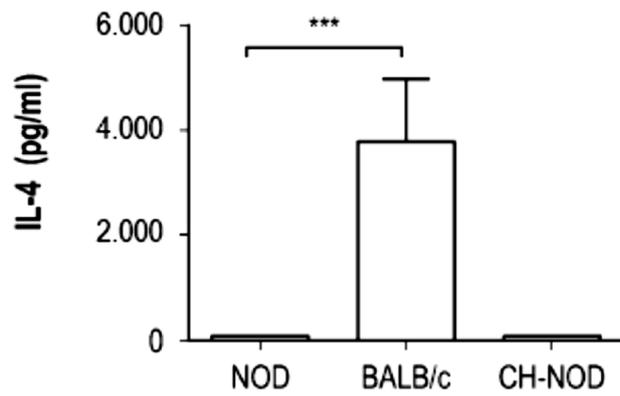


FIG. 20



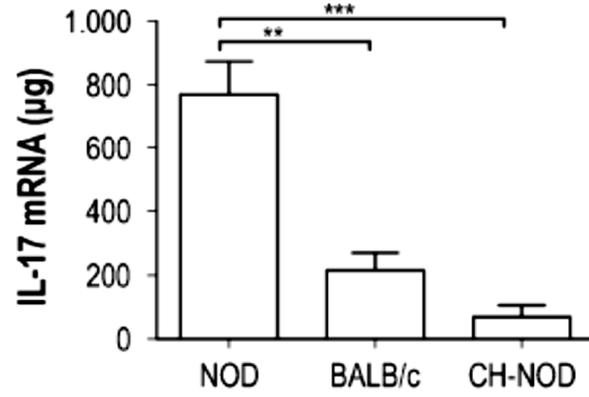


FIG. 21

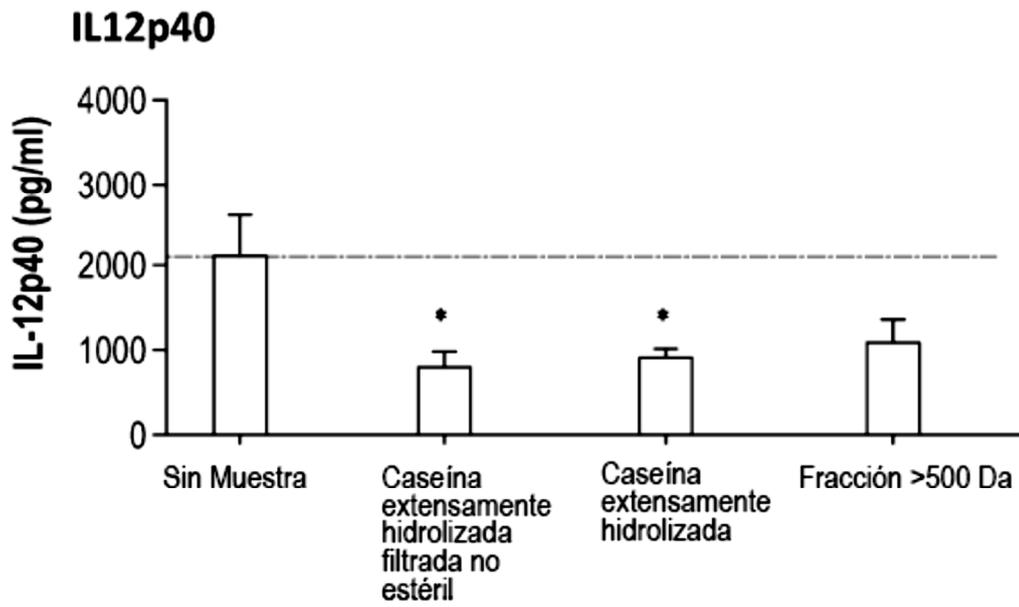


FIG. 22

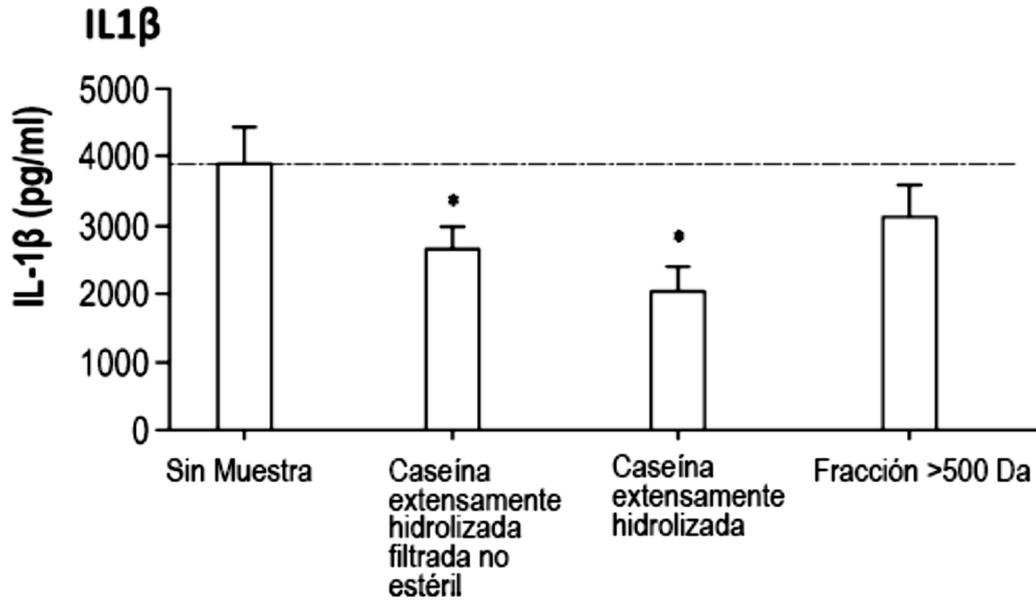


FIG. 23

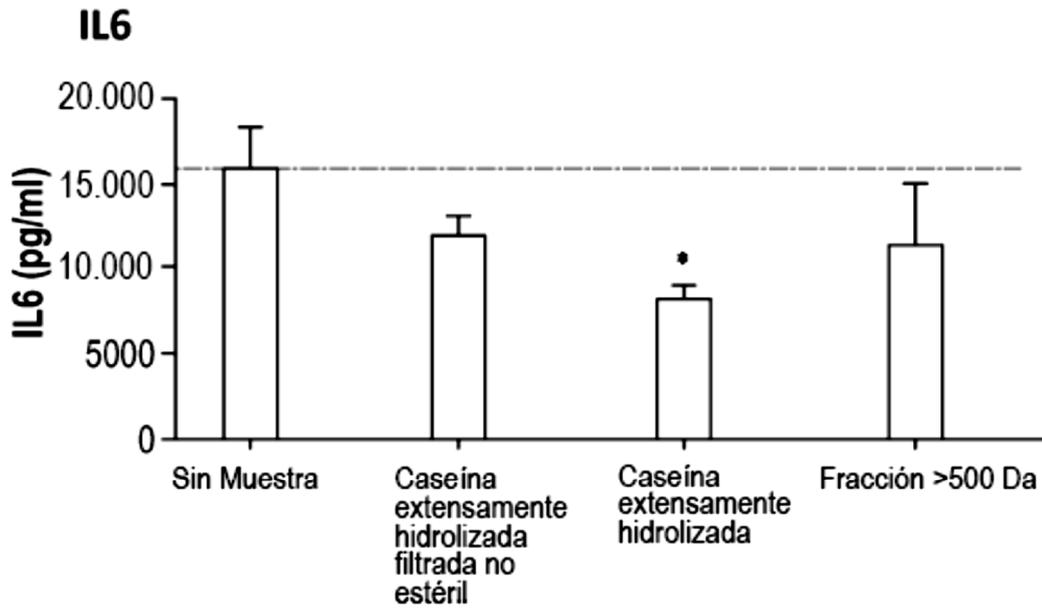


FIG. 24

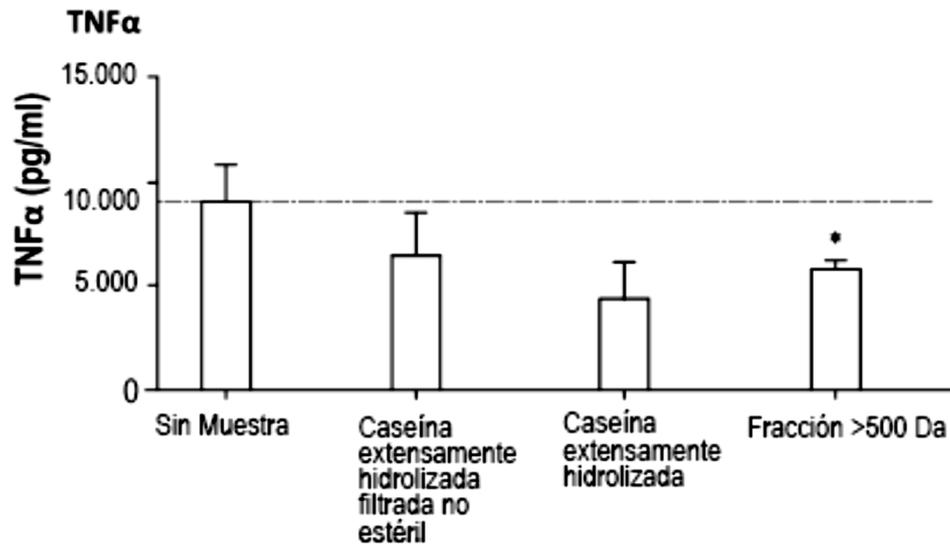


FIG. 25

	IL-12p40			IL-1 β			IL-6			TNF- α		
	Promedio	Efecto Sign.	% Cambio	Promedio	Efecto Sign.	% Cambio	Promedio	Efecto Sign.	% Cambio	Promedio	Efecto Sign.	% Cambio
Sin Muestra	2074,78			390,34			15926,39			8922,91		
Caseína extensamente hidrolizada filtrada no estéril	758,52	↓	63,44	258,42	↓	33,80	11851,96			6461,56		
Caseína extensamente hidrolizada	882,27	↓	57,48	198,27	↓	49,21	8124,46	↓	48,99	4310,24		
Fracción >500 Da	1124,63			309,98						5682,15	↓	36,32

FIG. 26