



**ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА  
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ**

**(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ**(21)(22) Заявка: **2008128859/15, 15.12.2006**(24) Дата начала отсчета срока действия патента:  
**15.12.2006**

Приоритет(ы):

(30) Конвенционный приоритет:  
**15.12.2005 US 60/751,391**(43) Дата публикации заявки: **20.01.2010** Бюл. № 2(45) Опубликовано: **27.12.2011** Бюл. № 36(56) Список документов, цитированных в отчете о поиске: **US 6835750 B1, 28.12.2004. JP 6287138 A, 11.10.1994. WO 2005006890 A2, 27.01.2005. EP 1350435 A2, 08.10.2003.**(85) Дата начала рассмотрения заявки РСТ на национальной фазе: **15.07.2008**(86) Заявка РСТ:  
**US 2006/048077 (15.12.2006)**(87) Публикация заявки РСТ:  
**WO 2007/070701 (21.06.2007)**

Адрес для переписки:

**103735, Москва, ул. Ильинка, 5/2, ООО  
"Союзпатент", пат.пов. А.П.Агурееву**

(72) Автор(ы):

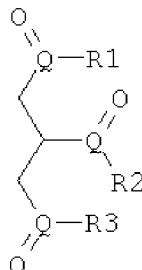
**ЛАРСОН Брайан Т. (US),  
ХЕНДЕРСОН Самюэль Т. (US),  
РОБЕРТС Мэтью Э. (US)**

(73) Патентообладатель(и):

**НЕСТЕК С.А. (CN)****(54) КОМПОЗИЦИИ И СПОСОБЫ ДЛЯ СОХРАНЕНИЯ ФУНКЦИИ ГОЛОВНОГО МОЗГА**

(57) Реферат:

Изобретение относится к кормлению млекопитающих. Композиция, содержащая триглицериды со средней длиной цепи (МСТ), в эффективном количестве для предупреждения, уменьшения или задержки ухудшения одной или нескольких когнитивных функций, двигательной активности, цереброваскулярной функции или поведения у здорового стареющего млекопитающего, применяемая в дозе 1-2 г МСТ/кг массы тела/день, которая увеличивает концентрацию в кровотоке, по меньшей мере, одного кетона, где МСТ имеет формулу:



где R1, R2 и R3 каждый, независимо, являются эстерифицированными со скелетом глицерина, жирными кислотами, имеющими 5-12 атомов углерода; и где это стареющее животное достигло, по меньшей мере, приблизительно 50% его ожидаемой продолжительности жизни.

Способы предупреждения, уменьшения или задержки ухудшения, по меньшей мере, одной из когнитивных функций, двигательной активности, цереброваскулярной функции или поведения у здорового стареющего

млекопитающего включают введение указанной композиции в дозе 1-2 г МСТ/кг массы тела/день. Изобретение обеспечивает улучшение указанных функций у стареющих млекопитающих. 4 н. и 62 з.п. ф-лы, 3 табл., 33 ил.

R U 2 4 3 7 6 5 6 C 2

R U 2 4 3 7 6 5 6 C 2



FEDERAL SERVICE  
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(51) Int. Cl.

**A61K 31/047** (2006.01)**A61K 31/215** (2006.01)(12) **ABSTRACT OF INVENTION**(21)(22) Application: **2008128859/15, 15.12.2006**(24) Effective date for property rights:  
**15.12.2006**

Priority:

(30) Priority:  
**15.12.2005 US 60/751,391**(43) Application published: **20.01.2010 Bull. 2**(45) Date of publication: **27.12.2011 Bull. 36**(85) Commencement of national phase: **15.07.2008**(86) PCT application:  
**US 2006/048077 (15.12.2006)**(87) PCT publication:  
**WO 2007/070701 (21.06.2007)**

Mail address:

**103735, Moskva, ul. Il'inka, 5/2, OOO  
"Sojuzpatent", pat.pov. A.P.Agureevu**

(72) Inventor(s):

**LARSON Brajan T. (US),  
KhENDERSON Samjuehl' T. (US),  
ROBERTS Meht'ju Eh. (US)**

(73) Proprietor(s):

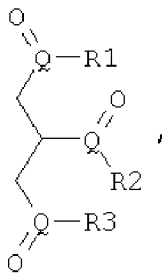
**NESTEK S.A. (CH)**(54) **COMPOSITIONS AND METHODS FOR BRAIN FUNCTION PRESERVATION**

(57) Abstract:

FIELD: medicine, pharmaceuticals.

SUBSTANCE: invention relates to feeding of mammals. Composition, containing triglycerides with middle chain length (MCT), in efficient amount for prevention, reduction or retardation of one or several cognitive functions, motor activity, cerebrovascular function, or behaviour of healthy ageing mammal, applied in dose 1-2 g MCT/kg of body weight/day, which increases concentration of at least one ketone in blood flow, where MCT has formula:

where R1, R2 and R3 each,



independently, are esterificated with glycerol skeleton fatty acids, which have 5-12 carbon atoms; and where said ageing animal reached, at least, approximately 50% of its expected life span. Methods of prevention, reduction or retardation of aggravation of, at least one of cognitive functions, motor activity, cerebrovascular function, or behaviour of healthy ageing mammal includes introduction of claimed composition in dose 1-2 g MCT/kg of body weight/day.

EFFECT: invention ensures improvement of said functions in ageing animals.

66 cl, 3 tbl, 33 dwg, 7 ex

Текст описания приведен в факсимильном виде.

### **Область техники, к которой относится данное изобретение**

5 Данное изобретение относится к питанию млекопитающих и его влиянию на познавательную (когнитивную) функцию, поведение и физиологию головного мозга. В частности, данное изобретение использует триглицериды со средней длиной цепи, вводимые в качестве части долгосрочного режима питания, для сохранения или  
10 улучшения обучаемости, внимания, двигательной активности, цереброваскулярной функции, социального поведения и увеличения уровней активности, в частности, стареющих животных.

### **Уровень техники**

15 В этом описании цитируются различные публикации, в том числе патенты, опубликованные заявки, технические статьи и научные статьи. Каждая из этих цитируемых публикаций включена здесь в качестве ссылки в ее полном объеме. Полные цитирования в отношении публикаций, не цитируемых в полном объеме в этом описании, приведены в конце описания.

25 Когнитивное нарушение, прогрессирующее снижение когнитивной функции, изменения морфологии головного мозга и изменения цереброваскулярной функции обычно наблюдаются у пожилых и стареющих индивидуумов. Возрастное или ассоциированное с возрастом когнитивное нарушение может проявляться многими  
30 путями и может включать в себя кратковременную потерю памяти, пониженную способность к обучению или пониженный темп обучения, уменьшенное внимание, уменьшенную двигательную активность и/или деменцию, среди других показателей. В некоторых случаях, конкретная этиология такого когнитивного прогрессирующего  
35 ухудшения является неизвестной, в то время как в других случаях когнитивное нарушение происходит из-за возникновения или прогрессирования узнаваемых заболеваний, нарушений или синдромов, например, болезни Альцгеймера (AD). Ассоциированное с  
40 возрастом когнитивное хроническое прогрессирующее заболевание отличается от AD и может встречаться независимо от AD.

Первичным источником энергии головного мозга здорового млекопитающего  
45 является глюкоза. Возрастное когнитивное хроническое прогрессирующее заболевание коррелирует с ухудшенным метаболизмом глюкозы. (Finch CE *et al.*, 1997). Ухудшенный

50

метаболизм глюкозы может вызывать дефицит энергии и может приводить к потере нейронов и морфологическим изменениям в головном мозге. (Hoyer S., 1990).

Ухудшенный метаболизм глюкозы может уменьшать способность клеток к репарации и противодействию окислительному повреждению. (Munch G *et al.*, 1998). Одновременная потеря нейронов и морфологические ненормальности, по-видимому, способствуют пониженной умственной способности пожилых людей.

Пациенты с болезнью Альцгеймера обычно обнаруживают сниженный метаболизм церебральной глюкозы, а исследования с использованием позитронно-эмиссионной томографии показали уменьшение уровня церебральной глюкозы (Drzezga A *et al.*, 2005; и Small GW *et al.*, 2000). Хотя точные механизмы, лежащие в основе этого уменьшения уровня глюкозы и метаболизма глюкозы, не выяснены полностью, невропатологические события, такие как окислительный стресс, смерть нервных клеток и уменьшение уровня ацетилхолина, АТФ и холестерина, все, коррелируют со снижением метаболизма энергии и глюкозы в головном мозге. (Swaab *et al.*, 1998).

Кроме влияния изменений в метаболизме глюкозы, в соответствии с одной из гипотез, уменьшение местного кровотока в головном мозге способствует снижению когнитивной способности и деменции у людей (Wardlaw JM *et al.*, 2003). Возраст человека и стадия деменции влияют на объем местной церебральной крови (Split A *et al.*, 2005; и Petrella JR *et al.*, 1998).

Хотя глюкоза считается первичным источником энергии головного мозга млекопитающего, было давно известно, что в период продолжительного голодания или недостаточности углеводов ацетоновые (кетоновые) тела могут служить в качестве альтернативного источника энергии в головном мозге. Кетоны, включающие ацетон, ацетоацетат,  $\beta$ -гидроксипутират, могут легко использоваться митохондриями для продукции АТФ и могут проявлять защитное действие в отношении нейронов при повреждении свободными радикалами. (VanItallie TB *et al.*, 2003).

Кетоновые соединения были предложены для пациентов с AD. (Reger MA *et al.*, 2004; VanItallie TB *et al.*, 2003; и Патенты США с номерами 6323237 и 6316038). Кетоновые соединения использовали для лечения деменции и болезни Альцгеймера. Например, патенты США 6323237 и 6316038 описывают применение кетоновых соединений и их метаболитических предшественников для лечения нейродегенеративных нарушений.

Триглицериды со средней длиной цепи (МСТ) состоят из цепей жирных кислот, эстерифицированных с глицерином. МСТ, при некоторых физиологических состояниях, метаболизируются до кетоновых тел в печени, однако, МСТ должны подвергаться

метаболическому процессингу перед превращением в кетоновые соединения. После приема внутрь эстерифицированные жирные кислоты отщепляются от МСТ липазами, такими как панкреатические и желудочно-кишечные липазы, высвобожденные жирные кислоты со средней длиной цепи транспортируются в виде свободных жирных кислот через воротную вену в печень. Жирные кислоты со средней длиной цепи не включаются в хиломикроны, как это имеет место в случае жирных кислот с длинной цепью. В печени жирные кислоты со средней цепью окисляются с образованием ацетил-СоА. Таким образом, кетоновые тела, образуемые из МСТ, могут обеспечивать альтернативный источник энергии для восполнения дефицита энергии в нервных клетках пациентов с болезнью Альцгеймера (Reger MA *et al.*, 2004). Но в отличие от кетоновых эфиров, описанных в патентах США (Патентах США 6323237 и 6316038), которые являются метаболическими эквивалентами кетоновых соединений (например, полимеры  $\beta$ -гидроксипутирата и т.п.), которые могут непосредственно превращаться в кетоновые соединения, МСТ не могут рассматриваться как метаболические эквиваленты кетоновых соединений, так как прием внутрь МСТ не всегда приводит к их образованию. Кроме того, когда МСТ превращаются в кетоновые соединения, это происходит через конденсацию двух молекул ацетил-СоА, каждая из которых может получаться из различных источников.

Животные-модели когнитивного нарушения в значительной степени облегчают исследование таких состояний, в том числе их физиологию, неврологию, анатомию и патологию. Собаки обеспечивают применимую модель, так как они демонстрируют картину ассоциированного с возрастом когнитивного прогрессирующего снижения обучаемости и памяти, различающейся в зависимости от когнитивной задачи (Adams B *et al.*, 2000a; Chan ADF *et al.*, 2002; Su M-Y *et al.*, 1998; и Tapp PD *et al.*, 2003). Хотя исследование такого прогрессирующего заболевания на собаках, использующихся в качестве животных-моделей, является полезным само по себе, тот факт, что наблюдаемое ухудшение отражает связанные со старостью когнитивные прогрессирующие заболевания, наблюдаемые у людей (Adams B *et al.* 2000b), делает эти исследования даже более ценными. Собаки также испытывают возрастные изменения местных метаболических уровней метаболизма глюкозы в головном мозге (London ED *et al.*, 1983). Собаки проявляют зависимые от старости (возраста) изменения регионального объема крови в головном мозге и проницаемости гематоэнцефалического барьера, которые могут быть связаны с изменениями когнитивных функций, структуры головного мозга и невропатологии при старении (Tapp PD *et al.*, 2005; и Su MY, 1998). У старых собак развивается невропатология, которая является сходной с невропатологией, наблюдаемой

как у стареющих людей, так и у пациентов с AD, например, имеющих бета-амилоидный белок (Cotman CW and Berchtold, 2002; и Cummings BJ *et al.*, 1996). Однако у собак не обнаруживается каждый отличительный признак AD, в частности, не наблюдаются тау-содержащие нейрофибриллярные клубки (Dimakopoulos AC *et al.*, 2002). Таким образом, это состояние у собак является отличающимся и называется синдромом когнитивной дисфункции собак (CCDS).

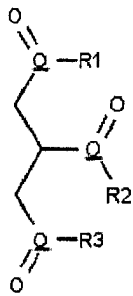
Как здоровые стареющие или гериатрические (старые) собаки, так и собаки с диагнозом CCDS, могут проявлять клинически прогрессирующее когнитивное нарушение и neuropathological изменения (London ED *et al.*, 1983). Кроме того, как стареющие/гериатрические собаки, так и собаки с диагнозом CCDS проявляют различные поведенческие (бихевиористические) нарушения. Например, они могут не реагировать на их имя или знакомые команды, могут теряться или быть в замешательстве даже в знакомом окружении, могут более не приветствовать их хозяев или посетителей или не реагировать на них, могут проявлять пониженную активность в дневное время, могут ходить кругами, могут избегать проявлений привязанности и могут терять контроль за мочевым пузырем или кишечником.

Таким образом, в данной области имеется потребность в развитии композиций и способов для лечения и/или предупреждения когнитивного нарушения, в частности, у стареющих или гериатрических животных и у животных, страдающих от CCDS-подобных симптомов. В случае животных-компаньонов (домашних), такие терапии могли бы быть полезными для улучшения общего качества жизни, для улучшения ухода за ними со стороны владельца и для улучшения связей между владельцем и домашними животными.

### **Сущность (раскрытие) изобретения**

Один аспект этого изобретения относится к композиции, содержащей триглицериды со средней цепью (МСТ), в количестве, эффективном для предупреждения, уменьшения или задержки ухудшения одной или нескольких когнитивных функций, двигательной активности, цереброваскулярной функции, или поведения у стареющего млекопитающего, например, млекопитающего, которое достигло, по меньшей мере, 50% его ожидаемой продолжительности жизни, причем указанная композиция увеличивает концентрацию циркулирующего, по меньшей мере, одного кетонного тела в этом млекопитающем.

МСТ обычно имеют формулу:



5  
10 где R1, R2 и R3 - эстерифицированные со скелетом глицерина, каждый, является независимо жирными кислотами, имеющими 5-12 атомов углерода. В некоторых случаях, более чем приблизительно 95% R1, R2 и R3 имеют длину 8 атомов углерода. Остальные R1, R2 и R3 могут быть 6-углеродными или 10-углеродными жирными кислотами. В  
15 некоторых вариантах осуществления, эта композиция содержит, по меньшей мере, приблизительно 1% - приблизительно 30% МСТ в расчете на сухую массу. Вышеупомянутая композиция может быть пищевой композицией, дополнительно  
20 содержащей в расчете на сухую массу приблизительно 15-50% белка, 5-40% жира, 5-10% содержание золы и имеет уровень влаги 5-20%. Эта композиция может быть приготовлена для потребления любым животным. В некоторых вариантах осуществления,  
25 млекопитающее не является человеком и в конкретных вариантах это млекопитающее является домашним животным. Конкретные варианты представляют композиции, приготовленные для потребления собакой или кошкой. В других вариантах осуществления, этим млекопитающим является человек.

30  
Композиция может быть приготовлена для введения здоровому стареющему млекопитающему. В некоторых вариантах осуществления, животное имеет фенотип, ассоциированный с возрастным когнитивным нарушением. Такой фенотип может  
35 включать в себя один или несколько признаков со сниженной способностью воспоминания, потерей краткосрочной памяти, уменьшенной скоростью к обучению, уменьшенной способностью в отношении к обучению, уменьшенных навыков решения проблем, уменьшенного объема внимания, уменьшенной двигательной активностью,  
40 увеличенного замешательства или деменции, в сравнении с контрольным млекопитающим, не имеющим этого фенотипа.

45  
Другой аспект этого изобретения обеспечивает способ предупреждения, уменьшения или задержки ухудшения, по меньшей мере, одной из когнитивных функций, двигательной функции, цереброваскулярной функции, или поведения у стареющего млекопитающего, предусматривающий стадии: (1) идентификация стареющего  
50 млекопитающего с риском, или находящегося в состоянии риска ухудшения, по меньшей мере, одной из когнитивных функций, двигательной функции, цереброваскулярной

функции, или поведения; (2) введения этому млекопитающему на продолжительной регулярной основе композиции, содержащей триглицериды со средней цепью (МСТ), описанные выше, в количестве, достаточном для предотвращения или задержки ухудшения, по меньшей мере, одной из когнитивных функций, двигательной функции, цереброваскулярной функции, или поведения млекопитающего, где эта композиция увеличивает циркулирующую концентрацию, по меньшей мере, одного кетонового тела в этом млекопитающем. В некоторых случаях, этот способ дополнительно предусматривает стадию мониторинга концентраций кетоновых тел в этом млекопитающем. В некоторых вариантах осуществления, количество каждого из  $\beta$ -гидроксibuтиратов, ацетоацетата и ацетона повышается в крови этого животного.

В другом варианте осуществления, эта композиция содержит МСИ в количестве, эффективном для снижения количества в крови млекопитающего одного или нескольких компонентов из аланина, имеющих разветвленные боковые цепи аминокислот, общих липопротеинов, ненасыщенных жирных кислот, или VLDL. В конкретном варианте осуществления, каждый компонент из аланина, имеющий разветвленные боковые цепи аминокислот, общих липопротеинов, ненасыщенных жирных кислот, или VLDL снижается в крови этого млекопитающего.

Еще в одном варианте осуществления, эта композиция содержит МСТ в количестве, эффективном для повышения уровня в крови этого млекопитающего одного или нескольких соединений, выбираемых из глутамина, фенилаланина, HDL или цитрата. В конкретном варианте осуществления, количество глутамина, фенилаланина, HDL и цитрата повышается в крови этого животного.

В другом варианте осуществления, эта композиция содержит МСТ в количестве, эффективном для улучшения кровотока в головном мозге. Дополнительно или альтернативно, эта композиция содержит МСТ в количестве, эффективном для улучшения целостности гематоэнцефалического барьера.

В другом варианте осуществления, эта композиция содержит МСТ в количестве, эффективном для снижения уровня мочевины в крови или уменьшения деградации белков. В другом варианте осуществления, эта композиция содержит МСТ в количестве, эффективном для снижения количества или активности аланинаминотрансферазы.

В соответствии с этим аспектом данного изобретения, композиция, вводимая млекопитающему, может быть кормом для домашних животных, биологически активной добавкой или пищевым продуктом, приготовленным для потребления человеком. В некоторых вариантах осуществления, это млекопитающее не является человеком. В конкретных вариантах осуществления, это животное является домашним животным,

таким как собака или кошка. В конкретном варианте осуществления эта композиция содержит МСТ в количестве, эффективном для улучшения социального поведения этого домашнего животного.

5 В одном варианте осуществления, вышеописанный способ предусматривает введение композиции, содержащей приблизительно 1% - 30% МСТ в расчете на сухую массу. Эту композицию вводят регулярно, что, в одном варианте осуществления, 10 предусматривает введение, по меньшей мере, один раз в день. В некоторых вариантах осуществления, эту композицию вводят в виде части суточного рациона в течение, по меньшей мере, приблизительно одной недели или, по меньшей мере, приблизительно одного месяца или, по меньшей мере, приблизительно трех или более месяцев, до 15 продолжительности всей жизни млекопитающего.

Другой аспект этого изобретения касается способа предупреждения, уменьшения или задержки ухудшения, по меньшей мере, одной из когнитивных функций, 20 двигательной функции, цереброваскулярной функции, или поведения стареющего млекопитающего, предусматривающий стадии: (1) идентификация стареющего млекопитающего, не имеющего возрастного когнитивного хронического прогрессирующего заболевания; и (2) введение этому млекопитающему, на 25 продолжительной и регулярной основе, композиции, содержащей триглицериды со средней длиной цепи (МСТ), описанные выше, в количестве, эффективном для предупреждения, уменьшения или задержки ухудшения, по меньшей мере, одной из 30 когнитивных функций, двигательной функции, цереброваскулярной функции, или поведения этого млекопитающего, (3) измерение концентрации, по меньшей мере, одного кетона и, по меньшей мере, одной когнитивной функции, двигательной функции, 35 цереброваскулярной функции, или поведения этого млекопитающего, по меньшей мере, периодически в течение времени введения; (4) сравнение концентрации, по меньшей мере, одного кетона и показателя когнитивной функции, двигательной функции, 40 цереброваскулярной функции, или поведения с теми же показателями контрольного животного, не получающего композиции по изобретению; и (5) коррелирования (корреляция) концентрации кетона с показателем когнитивной функции, двигательной функции, цереброваскулярной функции, или поведения, и определение уменьшения или 45 задержки ухудшения, по меньшей мере, одной из когнитивных функций, двигательной функции, цереброваскулярной функции, или поведения как результат введения этой композиции.

50 В некоторых вариантах осуществления, количество каждого из  $\beta$ -гидроксипутирата, ацетоацетата и ацетона повышается в крови млекопитающего.

В другом варианте осуществления, эта композиция содержит МСТ в количестве, эффективном для снижения количества в крови этого млекопитающего одного или нескольких компонентов аланина, аминокислот с разветвленной боковой цепью, общих липопротеинов, ненасыщенных жирных кислот или VLDL. В конкретном варианте осуществления, каждый компонент: аланин, аминокислота с разветвленной боковой цепью, общий липопротеин, ненасыщенная жирная кислота или VLDL снижается в крови этого млекопитающего.

Еще в одном варианте осуществления, эта композиция содержит МСТ в количестве, эффективном для повышения количества в крови млекопитающего одного или нескольких: глутамин, фенилаланин, HDL или цитрат. В конкретном варианте осуществления, количество каждого: глутамин, фенилаланин, HDL или цитрат повышается в крови этого животного.

В другом варианте осуществления, эта композиция содержит МСТ в количестве, эффективном для улучшения кровотока в головном мозге. Дополнительно или альтернативно, эта композиция содержит МСТ в количестве, эффективном для улучшения целостности гематоэнцефалического барьера.

В другом варианте осуществления, эта композиция содержит МСТ в количестве, эффективном для снижения мочевины в крови или уменьшения деградации белка. В другом варианте осуществления, эта композиция содержит МСТ в количестве, эффективном для снижения количества или активности аланинаминотрансферазы.

В соответствии с этим аспектом данного изобретения, композиция, вводимая млекопитающему, может быть кормом для домашних животных, биологически активной добавкой или пищевым продуктом, приготовленным для человека. В некоторых вариантах осуществления, это млекопитающее не является человеком. В конкретных вариантах осуществления это животное является домашним животным, таким как собака или кошка. В одном варианте осуществления, эта композиция содержит МСТ в количестве, эффективном для улучшения социального поведения домашнего животного.

В одном варианте осуществления, вышеописанный способ предусматривает введение композиции, содержащей приблизительно 1% - приблизительно 30% МСТ в расчете на сухую массу. Эту композицию вводят на регулярной основе, которая, в одном варианте осуществления, предусматривает введение, по меньшей мере, один раз в день. В некоторых вариантах осуществления, эту композицию вводят в виде части суточного рациона в течение, по меньшей мере, приблизительно одной недели или, по меньшей мере, приблизительно одного месяца или, по меньшей мере, приблизительно трех или более месяцев, до продолжительности всей жизни млекопитающего.

Другой аспект этого изобретения изображает способ предупреждения, уменьшения или задержки ухудшения, по меньшей мере, одной из когнитивной функции, двигательной функции, цереброваскулярной функции, или поведения в популяции здоровых стареющих млекопитающих, предусматривающий стадии: (1) идентификации популяции здоровых стареющих млекопитающих, не имеющих возрастного когнитивного хронического прогрессирующего заболевания; (2) разделения этой популяции, по меньшей мере, на контрольную группу и одну или несколько тест-групп, (3) приготовления, по меньшей мере, одной системы доставки на основе рациона для доставки композиции, содержащей триглицериды со средней цепью (МСТ), описанные выше, в количестве, эффективном для повышения и поддержания повышенного уровня кетонных тел в крови индивидуального млекопитающего, где, на продолжительной регулярной основе, каждая тест-группа получает готовую форму, доставляющую композицию, содержащую МСТ, а контрольная группа не получает никакой композиции, содержащей МСТ; (4) сравнения по меньшей мере одной из когнитивной функции, двигательной функции, цереброваскулярной функции, или поведения в контрольной группе и тест-группах; (5) определения, какая из систем доставки на основе рациона для доставки композиции, содержащей МСТ, была эффективной в предупреждении, уменьшении или задержке ухудшения, по меньшей мере, одной из когнитивной функции, двигательной функции, цереброваскулярной функции, или поведения; и (6) введения системы доставки на основе рациона, определенной в стадии (5), популяции стареющих млекопитающих, с предупреждением, уменьшением, задержкой ухудшения посредством этого, по меньшей мере, одной из когнитивной функции, двигательной функции, цереброваскулярной функции, или поведения. Как описано более подробно здесь, продолжительная регулярная основа может простираться, по меньшей мере, от одной недели до года или более длительного периода. В некоторых вариантах осуществления, количество каждого из  $\beta$ -гидроксibuтирата, ацетоацетата и ацетона в крови этого млекопитающего повышается.

В другом варианте осуществления, эта композиция содержит МСТ в количестве, эффективном для снижения количества в крови этого млекопитающего одного или нескольких компонентов из аланина, аминокислот с разветвленной боковой цепью, общих липопротеинов, ненасыщенных жирных кислот или VLDL. В конкретном варианте осуществления, каждый компонент из аланина, аминокислот с разветвленной боковой цепью, общих липопротеинов, ненасыщенных жирных кислот или VLDL снижается в крови этого млекопитающего.

Еще в одном варианте осуществления, эта композиция содержит МСТ в

количестве, эффективном для повышения количества в крови млекопитающего одного или нескольких из глутамина, фенилаланина, HDL или цитрата. В конкретном варианте осуществления, количество каждого из глутамина, фенилаланина, HDL или цитрата повышается в крови этого животного.

В другом варианте осуществления, эта композиция содержит МСТ в количестве, эффективном для улучшения кровотока в головной мозг. Дополнительно или альтернативно, эта композиция содержит МСТ в количестве, эффективном для улучшения целостности гематоэнцефалического барьера.

В другом варианте осуществления, эта композиция содержит МСТ в количестве, эффективном для снижения азота мочевины крови или уменьшения деградации белков. В другом варианте осуществления, эта композиция содержит МСТ в количестве, эффективном для снижения количества или активности аланинаминотрансферазы.

В соответствии с этим аспектом данного изобретения, композиция, вводимая млекопитающему, может быть кормом для любимых животных, биологически активной добавкой или пищевым продуктом, приготовленным для потребления человеком. В некоторых вариантах осуществления, это млекопитающее не является человеком. В конкретных вариантах осуществления, это животное является домашним животным, таким как собака или кошка. В определенном варианте осуществления эта композиция содержит МСТ в количестве, эффективном для улучшения социального поведения этого домашнего животного.

В одном варианте осуществления, вышеописанный способ предусматривает введение композиции, содержащей приблизительно 1% - приблизительно 30% МСТ в расчете на сухую массу. Эту композицию вводят на регулярной основе, которая, в одном варианте осуществления, предусматривает введение, по меньшей мере, один раз в день. В некоторых вариантах осуществления, эту композицию вводят в виде части суточного рациона в течение, по меньшей мере, приблизительно одной недели или, по меньшей мере, приблизительно одного месяца или, по меньшей мере, приблизительно трех месяцев - по меньшей мере, приблизительно года и до продолжительности всей жизни млекопитающего.

Другие признаки и преимущества этого изобретения станут очевидными при ссылке на рисунки, подробное описание и следующие примеры.

### **Описание фигур**

**Фигура 1. Средняя концентрация циркулирующего ВНВ на протяжении времени. График концентраций ВНВ крови (мкмоль/литр) во временных точках во время**

исследования. Символы представляют следующие группы обработки: темные кружки = контрольная группа (0 г МСТ/кг массы тела/день); светлые кружки = 1 г МСТ/кг массы тела/день (мкмоль/МСТ/кг массы тела/день); треугольники = 2 г МСТ/кг массы тела/день. Идентичные буквы указывают статистически значимые различия.

**Фигура 2. Активность фермента аланинаминотрансферазы как функция МСТ, обеспеченного в рационе.** Диаграмма активности (Е/л) фермента, аланинаминотрансферазы (“ALT”), показывает, что активность варьировалась в зависимости от обеспеченной дозы МСТ. Каждый столбец представляет группу исследования, получающую конкретную дозу МСТ, обеспечиваемую рационом режима питания (0, 1 или 2 г МСТ/кг массы тела/день). Активность ALT имеет тенденцию быть наивысшей в контрольной группе, не получающей МСТ (0 г МСТ /кг массы тела/день).

**Фигура 3. Концентрация общего белка в крови на протяжении хода исследования.** Эта фигура показывает изменения количества общего белка (г/л) в пробах на протяжении времени для каждой группы рациона режима питания. Символы представляют следующие группы обработки: темные кружки = контрольная группа (0 г МСТ/кг массы тела/день); светлые кружки = 1 г МСТ/кг массы тела/день (мкмоль/МСТ/кг массы тела/день); треугольники = 2 г МСТ/кг массы тела/день. Общий белок был более низким в группах 1 и 2 г/кг/день, в сравнении с 0 г/кг/день. Эти различия были особенно очевидны в конце этого исследования.

**Фигура 4. Концентрации азота мочевины крови на протяжении времени.** Концентрации азота мочевины крови имели тенденцию быть самыми низкими в группе обработки 2 г/кг/день. Символы представляют следующие группы обработки: темные кружки = контрольная группа (0 г МСТ/кг массы тела/день); светлые кружки = 1 г МСТ/кг массы тела/день (мкмоль/МСТ/кг массы тела/день); треугольники = 2 г МСТ/кг массы тела/день.

**Фигура 5. Уровни холестерина.** Концентрации холестерина были сначала более низкими в группах, получающих МСТ, чем в контрольной группе, однако, в день 99 исследования холестерин групп обработки увеличивался и был более высоким, чем уровни контрольной группы. Символы представляют следующие группы обработки: темные кружки = контрольная группа (0 г МСТ/кг массы тела/день); светлые кружки = 1 г МСТ/кг массы тела/день (мкмоль/МСТ/кг массы тела/день); треугольники = 2 г МСТ/кг массы тела/день.

**Фигура 6. Действие МСТ в рационе на бихевиористическую (поведенческую) активность, отражаемую общей опорно-двигательной активностью.** Животные, получающие 2 г МСТ/кг массы тела/день, имели статистически значимую более высокую

опорно-двигательную активность (TLA) в поведенческих тестах на любопытство и на активность взаимодействия с человеком, чем контрольная группа или группа, получающая более низкую дозу МСТ.

5 **Фигура 7. Действие МСТ в рационе на общую опорно-двигательную активность во время теста взаимодействия с человеком.** Символы представляют следующие группы обработки: темные кружки = контрольная группа (0 г МСТ/кг массы тела/день); светлые кружки = 1 г МСТ/кг массы тела/день (мкмоль/МСТ/кг массы тела/день); 10 треугольники = 2 г МСТ/кг массы тела/день. Группы контроля и более низкой дозы (1 г/кг/день) обнаруживали небольшое изменение общей опорно-двигательной пассивности, в то время как группа, получающая МСТ при 2 г/кг/день, обнаруживала 15 уменьшение общей опорно-двигательной активности от фона до фазы обработки.

**Фигура 8. Действие МСТ в рационе на результаты теста на любопытство.** Контрольная группа обнаруживала большое увеличение пассивности, в то время как 20 группы, получающие МСТ при 2 и 1 г/кг/день, имели увеличение гораздо меньшего размера и уменьшение, соответственно, пассивности между фоном и обработкой. Символы представляют следующие группы обработки: темные кружки = контрольная 25 группа (0 г МСТ/кг массы тела/день); светлые кружки = 1 г МСТ/кг массы тела/день (мкмоль/МСТ/кг массы тела/день); треугольники = 2 г МСТ/кг массы тела/день.

**Фигура 9. Действие МСТ в рационе на результаты теста взаимодействия с человеком.** Каждый столбец представляет группу исследования, получающую 30 конкретную дозу МСТ, обеспечиваемую с рационом режима питания (0, 1 или 2 г МСТ/кг массы тела/день). Группа 2 г/кг/день имела меньшую пассивность, чем другие группы. Идентичные буквы указывают на статистически значимые различия.

35 **Фигура 10. Изменение уровней пассивности в тесте на любопытство как результата МСТ в рационе.** Животные в группе 1 г/кг/день обнаруживали уменьшение пассивности (в мсек) в используемом тесте на любопытство, в то время как остальные 40 группы обнаруживали увеличение (контрольная группа) или отсутствие существенного изменения (2 г/кг/день). Группа 0 г/кг/день обнаруживала наибольшее увеличение пассивности в этом тесте в данном исследовании. Каждый столбец представляет группу исследования, получающую конкретную дозу МСТ, обеспечиваемую в рационе режима 45 питания ((0, 1 или 2 г МСТ/кг массы тела/день). Идентичные буквы указывают на статистически значимые различия.

**Фигура 11. Действие МСТ в рационе на частоту проявления любопытства.** 50 Группа 2 г/кг/день обнаруживала значительное уменьшение частоты проявления любопытства, в то время как остальные группы обнаруживали малое изменение. При

фоне, группа 2 г/кг/день значимо отличалась от контроля, как указано буквой (а), но различия в группе 1 г/кг/день были только несущественно значимыми. Символы представляют следующие группы обработки: темные кружки = контрольная группа (0 г МСТ/кг массы тела/день); светлые кружки = 1 г МСТ/кг массы тела/день (мкмоль/МСТ/кг массы тела/день); треугольники = 2 г МСТ/кг массы тела/день.

**Фигура 12. Изменение частоты проявления любопытства.** Животные, получающие МСТ при 2 г/кг/день, обнаруживали значительное уменьшение частоты проявления любопытства в этом исследовании. Каждый столбец представляет группу исследования, получающую конкретную дозу МСТ, обеспечиваемую с рационом режима питания (0, 1 или 2 г МСТ/кг массы тела/день), как указано. Буква (а) указывает значимые различия в сравнении с другими группами.

**Фигура 13. Частота мочеиспускания на предмет как функция МСТ в рационе.** Контрольные животные производили мочеиспускание более часто, чем животные в группах, получающих МСТ при 1 г/кг/день и 2 г/кг/день. Каждый столбец представляет группу исследования, получающую конкретную дозу МСТ, обеспечиваемую в рационе режима питания ((0, 1 или 2 г МСТ/кг массы тела/день), как указано. Буква (а) указывает, что данная группа значимо отличалась от остальных групп.

**Фигура 14. Частота поднимания возбуждающих любопытство предметов как функция МСТ в рационе.** Животные в группе 1 г/кг/день подбирали предметы более часто, чем животные в остальных группах. Каждый столбец представляет группу исследования, получающую конкретную дозу МСТ, обеспечиваемую с рационом режима питания (0, 1 или 2 г МСТ/кг массы тела/день).

**Фигура 15. Действие МСТ в рационе режима питания на продолжительность контакта с человеком.** Животные, получающие МСТ при 1 г/кг/день, имели тенденцию к проявлению увеличения продолжительности контакта с человеком во время фазы лечения. Контрольная группа животных имела тенденцию уменьшения контакта с человеком. Символы представляют следующие группы обработки: темные кружки = контрольная группа (0 г МСТ/кг массы тела/день); светлые кружки = 1 г МСТ/кг массы тела/день (мкмоль/МСТ/кг массы тела/день); треугольники = 2 г МСТ/кг массы тела/день.

**Фигура 16. Изменение продолжительности контакта с человеком как функция МСТ в рационе.** Животные, получающие МСТ, имели тенденцию к проявлению увеличения продолжительности контакта с человеком (в мсек), тогда как контрольные животные обнаруживали уменьшение. Каждый столбец представляет группу исследования, получающую конкретную дозу МСТ, обеспечиваемую в рационе режима питания ((0, 1 или 2 г МСТ/кг массы тела/день), как указано. Идентичные буквы

указывают статистически значимые различия.

**Фигура 17. Частота пребывания вблизи человека как функция МСТ в рационе.** Контрольные животные имеют тенденцию находиться возле человека более часто, чем любая из групп обработки. Каждый столбец представляет группу исследования, получающую конкретную дозу МСТ, обеспечиваемую в рационе режима питания ((0, 1 или 2 г МСТ/кг массы тела/день).

**Фигура 18. Продолжительность пребывания вблизи человека как функция МСТ в рационе.** Контрольная группа находилась вблизи человека в течение более продолжительного времени, чем любая из групп обработки. Как указано, каждый столбец представляет группу исследования, получающую конкретную дозу МСТ, обеспечиваемую в рационе режима питания ((0, 1 или 2 г МСТ/кг массы тела/день). Буква (a) указывает на то, что результат контрольной группы был значимо большим, чем результат остальных групп.

**Фигура 19. Действие МСТ в рационе на дневную и ночную активность.** Группа животных, получающих МСТ при 2 г/кг/день, имела тенденцию быть более активной во время дня, чем остальные группы – более высокая доза МСТ увеличивала уровни активности в дневное время без увеличения активности в ночное время. Символы представляют следующие группы обработки: темные кружки = контрольная группа (0 г МСТ/кг массы тела/день); светлые кружки = 1 г МСТ/кг массы тела/день (мкмоль/МСТ/кг массы тела/день); треугольники = 2 г МСТ/кг массы тела/день.

**Фигура 20. Действие МСТ в рационе на количество ошибок-на-критерий в тесте задержанного несоответствия относительно положения.** Группа животных, получающих МСТ при 2 г/кг/день, имела тенденцию делать меньше ошибок при обучении DNMP, чем любая из контрольной группы (0 г/кг/день) или группы, получающей более низкую дозу МСТ (1 г/кг/день). Как показано, каждый столбец представляет группу исследования, получающую конкретную дозу МСТ, обеспечиваемую рационом режима питания (0, 1 или 2 г МСТ/кг массы тела/день). “NR” обозначает «не реагирующие на обработку».

**Фигура 21. Действие МСТ в рационе на количество сеансов-на-критерий в тесте задержанного несоответствия относительно положения.** Животные, получающие МСТ при 2 г/кг/день, имели тенденцию требовать меньше сеансов при обучении DNMP. Идентичные буквы указывают статистически значимые различия. Как показано, каждый столбец представляет группу исследования, получающую конкретную дозу МСТ, обеспечиваемую рационом режима питания (0, 1 или 2 г МСТ/кг массы тела/день).

**Фигура 22. Действие МСТ в рационе на оценки максимальной памяти.**

Животные в группах, получающих МСТ в рационе, имели большие оценки максимальной памяти, чем контрольные животные, хотя эти различия не достигали статистической значимости. Как показано, каждый столбец представляет группу исследования, получающую конкретную дозу МСТ, обеспечиваемую рационом режима питания (0, 1 или 2 г МСТ/кг массы тела/день).

**Фигура 23. Действие МСТ в рационе на количество ошибок-на критерий при различении странности.** Животные, получающие МСТ при 2 г/кг/день, делали меньше ошибок при обучении каждому из двух тестов на странность, хотя различия не достигали статистической значимости. Каждый столбец представляет группу исследования, получающую конкретную дозу МСТ, обеспечиваемую рационом режима питания (0, 1 или 2 г МСТ/кг массы тела/день).

**Фигура 24. Действие МСТ в рационе на количество сеансов-на-критерий в тесте различения странности.** Животные, получающие МСТ при 2 г/кг/день, требовали меньше сеансов для обучения каждому из двух тестов на странность. Каждый столбец представляет группу исследования, получающую конкретную дозу МСТ, обеспечиваемую рационом режима питания (0, 1 или 2 г МСТ/кг массы тела/день). Различия не достигали статистической значимости.

**Фигура 25. Действие МСТ в рационе на обучение и выполнение задания на выполнение движений.** Животные, получающие МСТ при 2 г/кг/день, были способны находить корм на более длинных расстояниях в тесте обучения заданию на выполнение движения. Каждый столбец представляет группу исследования, получающую конкретную дозу МСТ, обеспечиваемую рационом режима питания (0, 1 или 2 г МСТ/кг массы тела/день). Идентичные буквы (а) указывают на статистически значимые различия.

**Фигура 26. Индекс объема циркулирующей крови как функция МСТ в рационе.** Животные в группе, получающей МСТ при 2 г/кг/день, имели меньшие индексы объема крови (BV), чем другие группы. Каждый столбец представляет группу исследования, получающую конкретную дозу МСТ, обеспечиваемую в рационе режима питания (0, 1 или 2 г МСТ/кг массы тела/день), как указано. Идентичные буквы указывают статистически значимые различия.

**Фигура 27. Индекс подтекания гематоэнцефалического барьера как функция МСТ в рационе.** Животные в группе, получающей МСТ при 2 г/кг/день имели меньшее подтекание гематоэнцефалического барьера, чем группы, не получающие или получающие меньше МСТ. Каждый столбец представляет группу исследования, получающую конкретную дозу МСТ, обеспечиваемую в рационе режима питания (0, 1 или 2 г МСТ/кг массы тела/день), как указано. Идентичные буквы указывают

статистически значимые различия.

**Фигура 28. Индекс гематоэнцефалического барьера как функция МСТ в рационе.** Животные в группе, получающей МСТ при 2 г/кг/день, имели тенденцию меньшего подтекания гематоэнцефалического барьера (BBB), чем остальные группы. Каждый столбец представляет группу исследования, получающую конкретную дозу МСТ, обеспечиваемую в рационе режима питания ((0, 1 или 2 г МСТ/кг массы тела/день), как указано.

**Фигура 29. Индекс регионального объема крови в головном мозге как функция МСТ в рационе.** Животные в группе, получающей МСТ при 2 г/кг/день, имели тенденцию иметь больший региональный объем крови в мозге (rCBV), чем контрольная группа и группа 1 г/кг/день. Каждый столбец представляет группу исследования, получающую конкретную дозу МСТ, обеспечиваемую в рационе режима питания ((0, 1 или 2 г МСТ/кг массы тела/день), как указано. Идентичные буквы указывают статистические тенденции.

**Фигура 30. Анализ основных компонентов для всех групп обработки.** Анализ основных компонентов (РСА), основанный на метаболомическом (метабономическом) ЯМР-анализе, описан в Примере 6. Основными компонентами являются (?). Указаны X-ось и Y-ось. Эти данные статистически анализировали и кластеризовали (разбивали совокупности на группы) с использованием O-PLS-DA.

**Фигура 31. Анализ основных компонентов для контроля в сравнении с МСТ в рационе при 2 г/кг/день.** РСА-анализ показан на фигуре 30, где низкая доза (МСТ при 1 г/кг/день) опущена для ясности. Эти данные анализировали статистически и кластеризовали (разбивали совокупности на группы) с использованием O-PLS-DA.

**Фигура 32. Дополнительный РСА-анализ для контроля в сравнении с МСТ в рационе при 2 г/кг/день.** Дополнительный пример, показывающий анализ и кластеризацию (разбивание совокупностей на группы) метаболомических данных с использованием O-PLS-DA.

**Фигура 33. Ошибки, совершаемые взрослыми особями кошек в сравнении со старческими кошками, в отношении задания Т-лабиринта.** «Старческие кошки» на этом графике являются объединенными результатами для «Старых» и «Старческих» кошек в таблице 7.1.

**Подробное описание иллюстративных вариантов осуществления**

**(сведения, подтверждающие возможность осуществления изобретения)**

Терапевтическая активность МСТ в людях может быть приписана их превращению

в кетоновые тела в печени. Кетоновые тела могут обеспечивать альтернативный источник энергии для пополнения дефицита энергии в нервных клетках пациентов, страдающих от болезни Альцгеймера. В соответствии с данным изобретением было обнаружено, что

5 долгосрочное дополнительное включение МСТ в качестве биологически активной добавки (нутрицевтика) (в рацион) улучшает когнитивную функцию и приводит к положительным бихевиористическим (поведенческим) изменениям в стареющих

10 животных, которые не страдают от какого-либо известного заболевания. Таким образом, различные аспекты этого изобретения направлены на композиции и способы, которые используют триглицериды со средней цепью, вводимые в виде части нормального рациона, для улучшения, по меньшей мере, одного из следующих признаков в стареющих

15 животных: обучения, внимания, двигательной активности, цереброваскулярной функции, социального поведения, и/или увеличения уровней активности.

#### **Определения:**

20 Различные термины, касающиеся способов и других аспектов данного изобретения, используются на протяжении этого описания и формулы изобретения. Эти термины должны пониматься в их обычном значении в данной области, если нет других указаний. Другие специально определенные термины должны пониматься в соответствии с

25 обеспеченными здесь определениями.

В описании и примерах могут встретиться следующие аббревиатуры:

AD, болезнь Альцгеймера;

30 ALT, аланинаминотрансфераза;

ANCOVA, анализ ковариаций (ковариационный анализ);

ANOVA, анализ вариаций (дисперсионный анализ);

35 AVG, среднее число;

BBB, гематоэнцефалический барьер;

BBBI, индекс гематоэнцефалического барьера;

BHB, бета-гидроксibuтират;

40 BLI, индекс подтекания крови;

BVI, индекс объема крови;

BUN, азот мочевины крови;

45 BW, масса тела;

CCDS, Синдром Когнитивной Дисфункции Собачьих;

DNMP, задержанное несоответствие в отношении положения;

50 F, самка;

HDL, липопротеины высокой плотности;

M, самец;

MCT, триглицериды со средней цепью;

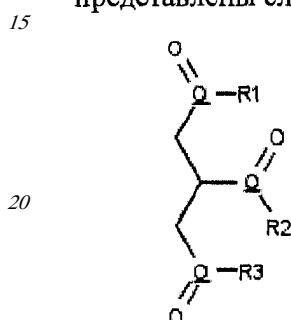
MRI, магнитно-резонансная томография, МРТ;

5 rCBVI, индекс регионального объема крови головного мозга;

SEM, стандартная ошибка среднего; и

VLDL, липопротеины очень низкой плотности.

10 “Триглицеридами со средней цепью” или “МСТ” называют любую молекулу глицерина, связанную сложноэфирной связью с тремя молекулами жирной кислоты, причем каждая молекула жирной кислоты имеет 5-12 атомов углерода. МСТ могут быть представлены следующей общей формулой:



25 где R1, R2 и R3 обозначают жирные кислоты, имеющие 5-12 атомов углерода в углеродном скелете, эстерифицированные со скелетом глицерина. Структурированные липиды этого изобретения могут быть получены любым способом, известным в данной области, таким как прямая эстерификация, перегруппировка, фракционирование, переэстерификация или т.п. Например, липиды могут быть получены перегруппировкой

30 растительного масла, например, кокосового масла. Длина и распределение длины цепи может варьироваться в зависимости от источника масла. Например, МСТ, содержащие 1-10% C6, 30-60% C8, 30-60% C10, 1-10% C10, обычно получают из пальмового и кокосового масел. МСТ, содержащие более чем приблизительно 95% C8 в R1, R2 и R3, могут быть получены полусинтетической эстерификацией октановой кислоты с

35 глицерином. Здесь применимы также смеси, содержащие МСТ с приблизительно 50% общего C8 и/или приблизительно 50% общего C10. Коммерческие источники для предыдущих композиций МСТ являются доступными и известны квалифицированному в данной области специалисту. Такие МСТ ведут себя сходным образом и включены в

40 термин МСТ, используемый здесь.

“Эффективным количеством” называют количество соединения, материала или композиции, описанных здесь, которое является эффективным для достижения

50 конкретного биологического результата. Такие результаты включают в себя, но не ограничиваются ими, по меньшей мере, один результат из следующих: усиление

когнитивной функции, улучшение функции печени, увеличение активности в дневное время, улучшение обучаемости (обучения), улучшение внимания, улучшение социального поведения, улучшения двигательной активности и/или улучшение цереброваскулярной функции, в частности, в стареющих или гериатрических животных. В различных вариантах осуществления, термином «эффективное количество» называют количество, достаточное для уменьшения, предупреждения или задержки ухудшения вышеуказанных качеств, например, когнитивной функции или активности, темпа обучения или способности к обучению, способности решения проблем, объема внимания и способности сосредоточения на задании или проблеме, двигательной функции или активности, социального поведения и т.п. Предпочтительно, это предупреждение, уменьшение или задержку такого ухудшения в индивидууме или популяции относят к когорте: например, контрольному животному или популяции когорты, которая не получала данной обработки. Такая эффективная активность может достигаться, например, введением композиций данного изобретения животному или популяции животных.

Термин «когнитивная функция» относится к особой, нормальной или правильной физиологической активности головного мозга, в том числе, без ограничения, по меньшей мере, одной из следующих активностей: умственной стабильности, способностей памяти/воспоминания, способности решения проблем, способностей аргументации, способностей мышления (размышления), способностей суждения, способностей обучения (усвоения), понимания, интуиции, внимания и осознания. «Повышенной когнитивной функцией» или «улучшенной когнитивной функцией» называют любое улучшение в особой, нормальной или правильной физиологической активности головного мозга, в том числе, без ограничения, по меньшей мере, одной из следующих активностей: умственной стабильности, способностей памяти/воспоминания, способности решения проблем, способностей аргументации, способностей мышления (размышления), способностей суждения, способностей обучения (усвоения), понимания, интуиции, внимания и осознания.

Термин «поведение» используется здесь в широком смысле и относится к чему-либо, что делает животное в ответ или в реакции на конкретную стимуляцию или ряд условий. «Повышенное поведение» или «улучшенное поведение» относится к любому улучшению в чем-либо, что животное делает в ответ или в реакции на конкретную стимуляцию или ряд условий.

Термин «двигательная активность» относится к биологической активности тканей, которые влияют на движение или производят движение в животном. Такая ткань включает в себя, без ограничения, мышцы и двигательные нейроны. «Повышенная

двигательная активность” или “улучшенная двигательная активность” обозначает любое улучшение биологической активности тканей, которые влияют на движение или производят движение в животном.

5 “Ухудшение” любой из предыдущих категорий или конкретных типов качеств или функций в индивидууме (фенотипов) является обычно противоположным улучшению или  
повышению качества или функции. «Эффективным количеством» (обсуждаемым выше)  
10 композиции может быть количество, необходимое для предотвращения ухудшения в целом или для существенного предотвращения ухудшения («предотвращения»  
ухудшения) для уменьшения степени или скорости ухудшения («уменьшения»  
15 ухудшения) на протяжении любого временного хода или в любой временной точке, или задержки появления, степени или прогрессирования ухудшения (“задержки” ухудшения).  
Предупреждение, уменьшение или задержка «ухудшения» часто является более полезной сравнительной основой при работе с не имеющими заболевания стареющими животными.  
20 Предупреждение, уменьшение или задержка могут рассматриваться относительно контроля или когорты, которая не получала обработки, например, представляющих интерес рациона или добавки. Предупреждение, уменьшение или задержка либо  
25 появления вредного качества или состояния, либо степени ухудшения конкретной функции могут быть измерены и рассмотрены на основе индивидуумов или, в некоторых вариантах осуществления, на основе популяции. Совокупный эффект предупреждения,  
уменьшения или задержки ухудшения состоит в том, что имеется меньшее уменьшение  
30 когнитивного, двигательного или поведенческого функционирования на единицу времени или в конкретной временной точке. Другими словами, в идеале, для индивидуума или в популяции,  
когнитивное, двигательное и поведенческое функционирование  
35 поддерживается на самом высоком возможном уровне в течение самого продолжительного времени. Для поставленных здесь целей, индивидуум может сравниваться с контрольными индивидуумом, группой или популяцией. Подобным  
40 образом, популяция может сравниваться с фактически существующим индивидуумом для нормализации измерений в отношении индивидуума или с группой или популяцией, когда это является выгодным.

45 Термин “старение”, в данном контексте, обозначает пребывание в продвинутом возрасте, так что это животное превысило 50% средней продолжительности жизни для его конкретного вида. Стареющих животных называют здесь иногда «достигшими старческого возраста» или «гериатрическими» или «достигшими пожилого возраста».  
50 Например, если средняя продолжительность жизни для конкретной породы собаки равна 10 годам, то собака в пределах этой породы с возрастом, большим, чем 5 лет, могла бы

рассматриваться как гериатрическая. Здоровыми стареющими животными являются животные без известных заболеваний, в частности, без заболеваний, связанных с когнитивным нарушением, таким, которое может спутать результаты. В исследованиях, использующих здоровых стареющих животных, когортой животных являются предпочтительно также здоровые стареющие животные, хотя другие здоровые животные с подходящим когнитивным, двигательным или поведенческим функционированием могут быть пригодны для применения в качестве сравнительных особей. При использовании животных с диагнозами конкретных заболеваний, или когнитивной, двигательной или поведенческой недостаточностями, эта когорта животных должна включать в себя животных, которые имеют аналогичный диагноз или которые предоставляют аналогичные показатели этого заболевания или когнитивной, двигательной или поведенческой недостаточности.

Данное изобретение относится к любому животному, предпочтительно млекопитающему, и более предпочтительно к домашним животным. «Домашним животным» является любое домашнее животное, и этот термин включает в себя, без ограничения, кошек, собак, кроликов, морских свинок, хорьков, хомячков, мышей, песчанок, лошадей, коров, коз, овец, ослов, свиней и т.п. В настоящее время собаки и кошки являются предпочтительными в некоторых вариантах осуществления. В некоторых вариантах осуществления, млекопитающее включает в себя человека, но другие варианты осуществления, в которых человек особо исключается, являются равным образом предпочтительными.

В данном контексте, термин “пищевой продукт” или “пищевая композиция” обозначает композицию, которая предназначена для приема внутрь животным, в том числе человеком, и обеспечивает им питание. В данном контексте, “пищевой продукт, приготовленный для потребления человеком”, является любой композицией, специально предназначенный для приема внутрь человеком. «Полным и сбалансированным с питательной точки зрения пищевым продуктом» является продукт, который содержит все известные необходимые нутриенты для предполагаемого реципиента или потребителя этого пищевого продукта, в подходящих количествах и соотношениях, например, на основе рекомендаций признанных ведомств в области питания домашних животных. Такие пищевые продукты могут, следовательно, служить в качестве единственного источника пищевого рациона для поддержания жизни или стимуляции производительности, без добавления дополнительных источников питания. Сбалансированные с питательной точки зрения пищевые композиции широко известны и широко используются в данной области.

В данном контексте, “диетическая добавка” является продуктом, предназначенным для приема внутрь, наряду с нормальным рационом животного. Диетические добавки могут быть в любой форме, например, виде твердого вещества, lid, геля, таблеток, капсул, порошка и т.п. Предпочтительно, их обеспечивают в удобных дозированных формах. В некоторых вариантах осуществления, их обеспечивают в нерасфасованных потребительских упаковках, например, в виде нерасфасованных порошков или жидкостей. В других вариантах осуществления, добавки обеспечивают в нерасфасованных количествах для включения в другие пищевые изделия, такие как сухие завтраки, лакомства, брикетированные добавки, напитки и т.п.

Описанные здесь и ниже композиции обычно предназначены для «долгосрочного» потребления, иногда называемого здесь «продолжительными» периодами. «Долгосрочное» введение, в данном контексте, обычно обозначает периоды, превышающие один месяц. Предпочтительными являются периоды, превышающие два, три или четыре месяца. Предпочтительными являются также более протяженные периоды, которые включают в себя более 5, 6, 7, 8, 9 или 10 месяцев. Предпочтительными являются также периоды, превышающие 11 месяцев или 1 год. Здесь обсуждаются также более длинные сроки применения, превышающие 1, 2, 3 года или более. В случае некоторых стареющих животных, ожидается, что это животное могло бы продолжать потребление этих композиций в течение остальной жизни на регулярной основе. Термин “регулярная основа” относится в данном контексте, по меньшей мере, к введению доз или потреблению этих композиций, по меньшей мере, один раз в неделю. Предпочтительным является более частое введение доз или потребление, например, два раза или три раза в неделю. Еще более предпочтительными являются схемы введения, которые предусматривают потребление, по меньшей мере, один раз в день. Квалифицированному в данной области специалисту будет понятно, что достигаемый уровень в крови кетоновых тел или уровень конкретного кетонового тела может быть ценным критерием частоты введения доз. Любая частота, которая позволяет поддерживать уровень в крови измеряемого соединения в приемлемых диапазонах, независимо от того, приведена ли она специально здесь, может считаться применимой здесь. Квалифицированному в данной области специалисту будет понятно, что частота введения доз будет зависеть от композиции, которая потребляется или вводится, и некоторые композиции могут требовать более или менее частого введения для поддержания желаемого уровня в крови измеряемого соединения (например, кетонового тела).

В данном контексте, термин “пероральное введение” или “введение через полость рта” означает, что животное проглатывает или человеку рекомендуют кормить животное

или человек действительно кормит животного одной или несколькими описанными здесь композициями. Если человеку рекомендуют кормить животного этой композицией, такой рекомендацией может быть рекомендация, которая инструктирует и/или информирует этого человека о том, что применение этой композиции может и/или будет обеспечивать приведенную в качестве ссылки пользу, например, повышение когнитивной функции, улучшение функции печени, увеличение активности в дневное время, улучшение обучения, улучшение внимания, улучшение социального поведения, улучшение двигательной активности и/или улучшение цереброваскулярной функции или предупреждение, уменьшение или замедление ухудшения таких предыдущих функций или качеств. Такой рекомендацией может быть устная рекомендация (например, устная инструкция врача, ветеринара или другого специалиста в области здоровья или радио или телевидение (т.е. реклама) или письменная рекомендация (например, письменная рекомендация от врача, ветеринара или другого специалиста в области здоровья (например, рецепты), профессиональные продажи или организация (например, посредством брошюр маркетинга, проспектов или других письменных инструкций), записанные среды (носители) (например, Интернет, электронная почта или другие связанные с компьютером среды) и/или упаковки, связанные с этой композицией (например, этикетка, присутствующая на контейнере, содержащем эту композицию).

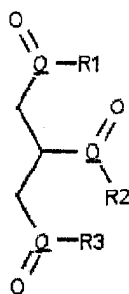
#### **Композиции:**

В нескольких из его различных аспектов, это изобретение обеспечивает композиции, содержащие триглицериды со средней цепью (МСТ), в количестве, эффективном для улучшения, или предупреждения, уменьшения или задержки ухудшения когнитивной функции, двигательной функции и/или поведения животных. В некоторых вариантах осуществления, эти животные предрасположены к испытыванию некоторого снижения или уменьшения когнитивной функции, двигательной функции или поведенческих способностей. В других вариантах осуществления, представляющие интерес животные являются стареющими или гериатрическими животными, определенными здесь. Предпочтительно, эти животные в остальном являются здоровыми. МТС могут присутствовать в композиции в качестве ингредиента или добавки. В предпочтительных вариантах осуществления, эта композиция содержит, по меньшей мере, один источник МСТ.

В одном аспекте, обеспечены композиции, содержащие триглицериды со средней цепью (МСТ), в количестве, эффективном для улучшения, или предупреждения ухудшения одной или нескольких из когнитивной функции, двигательной функции, цереброваскулярной функции, или поведения в стареющем млекопитающем. Стареющее

или гериатрическое млекопитающее будет достигать, по меньшей мере, приблизительно 50% его ожидаемой продолжительности жизни. Эти композиции увеличивают концентрацию в кровотоке, по меньшей мере, одного кетонного тела в млекопитающем.

МСТ имеют общую формулу [I]:



Формула [I]

где R1, R2 и R3, эстерифицированные со скелетом глицерина, обозначают, каждый независимо, жирные кислоты, имеющие 5-12 атомов углерода. В различных вариантах осуществления, эти композиции содержат МСТ с более чем приблизительно 95% R1, R2 и R3 в виде C8-жирных кислот. В одном варианте осуществления, остальные R1, R2 и R3 являются предпочтительно или даже исключительно C6- или C10-жирными кислотами.

Хотя в данном контексте термин «млекопитающее» обычно включает в себя людей, случается, что в определенных вариантах осуществления предполагается, что люди могут быть в некоторых случаях исключены. В конкретных вариантах осуществления, где улучшение, подлежащее измерению, требует оценивания только признаков человека, например, словесной реакции, ясно, что в качестве млекопитающего имеют в виду людей. Таким образом, в определенных вариантах осуществления предполагается, что обеспеченные композиции и способы предназначены для людей. Однако когда любой вариант осуществления этого изобретения мог бы в противном случае пониматься таким образом, что он включает в себя существующие ранее практику или композицию, предназначенные для людей, люди особо исключаются. Таким образом, в некоторых вариантах осуществления термин «млекопитающее» включает в себя любое млекопитающее, которое не является человеком.

В других вариантах осуществления, млекопитающее является домашним животным, таким как любимое животное, или животное на попечении человека, или в течение продолжительного срока, или в течение короткого времени. В предпочтительных вариантах осуществления, домашним животным является собака или кошка.

В одном варианте осуществления, это млекопитающее является здоровым стареющим животным, как определено выше. В таких вариантах осуществления, не будет известно, что это животное имеет внешние признаки или показатели когнитивного

5 нарушения, определяемые квалифицированным специалистом. Хотя это животное может  
иметь другие проблемы со здоровьем, даже возрастные проблемы со здоровьем, они  
предпочтительно носят такой характер, что по существу не влияют на когнитивную,  
двигательную или поведенческую функции этого животного. Таким образом,  
10 квалифицированному специалисту будет понятно, что может быть невозможным  
классифицирование стареющего или гериатрического животного как полностью  
«здорового», но это не является обязательным для использования на практике  
обеспеченных здесь способов и композиций. В других вариантах осуществления,  
15 стареющее животное конкретно считается животным, которое имеет возрастное  
когнитивное нарушение, или определенное официальным диагнозом, или определенное  
по его отличительным признакам когнитивных или двигательных нарушений или  
поведенческим показателям такого нарушения или т.п. В одном варианте осуществления,  
20 это млекопитающее имеет фенотип, ассоциированный с возрастным когнитивным  
нарушением, например, это животное имеет одно или несколько из следующих  
фенотипических проявлений когнитивных, двигательных или поведенческих трудностей,  
связанных с возрастом, например, пониженную способность воспоминания,  
25 кратковременную потерю памяти, уменьшенный темп обучения, уменьшенную  
способность к обучению, уменьшенные навыки в решении проблем, уменьшенный объем  
памяти, уменьшенную двигательную активность, увеличенное замешательство или  
деменцию, в сравнении с контрольным млекопитающим, не имеющим этого фенотипа.

30 В одном варианте осуществления, композиции этого изобретения являются  
пищевыми (кормовыми) композициями, такими как корма для любимых животных. В  
некоторых вариантах осуществления, эта композиция является пищевой (кормовой)  
35 композицией, дополнительно содержащей, кроме МСТ, приблизительно 15-50% белка,  
приблизительно 5-40% жира, приблизительно 15-60% углеводов, 5-10% содержания золы,  
в каждом случае в расчете на сухую массу, и имеющей содержание влаги приблизительно  
40 5-20%. В некоторых вариантах осуществления, эти пищевые продукты предназначены для  
обеспечения полных необходимых потребных количеств режима питания. Обеспечены  
также композиции, которые применимы в качестве сухих закусок, лакомств для любимых  
животных (например, печенья), питательных брикетов, и других форм пищевых  
45 продуктов или биологически активных добавок, включающих в себя таблетки, капсулы,  
гели, пасты, эмульсии, каплетки и т.п., обсуждаемые ниже. Необязательно, эти кормовые  
композиции могут быть сухой композицией (например, мукой грубого помола для корма  
50 любимых животных), полувлажной композицией, влажной композицией или их любой  
смесью.

В другом варианте осуществления, композиции этого изобретения являются пищевыми продуктами, приготовленными специально для потребления человеком. Они будут включать в себя пищевые продукты и нутриенты, предназначенные для удовлетворения необходимых требований режима питания человека, а также другие биологически активные добавки для человека. В одном варианте осуществления, пищевые продукты, приготовленные для потребления человеком, являются полными и сбалансированными с точки зрения питания, в то время как в других вариантах осуществления они предназначены в качестве биологически активных добавок (БАД) к пище, для использования вместе с хорошо сбалансированным или приготовленным рационом.

В другом варианте осуществления, эта композиция является биологически активной добавкой к пище, такой как подливка (соус) из сока жареного мяса, питьевая вода, напиток, жидкий концентрат, гель, йогурт, порошок, гранула, паста, суспензия, жевательный табак, вкусное блюдо (вкусные кусочки), лакомство, легкая закуска, шарик, пилюля, капсула, таблетка или любая другая форма доставки. Биологически активные добавки могут быть приготовлены специально для потребления конкретным видом или даже индивидуальным животным, например, домашним животным, или человеком. В одном варианте осуществления, биологически активная добавка может содержать относительно концентрированную дозу МСТ, так что эта добавка может вводиться животному в малых количествах или может быть разбавлена перед введением животному. В некоторых вариантах осуществления, эта биологически активная добавка или другая содержащая МСТ композиция может требовать смешивания с водой или т.п. перед введением животному, например, для коррекции дозы, для улучшения вкусовых качеств или для создания возможности более частого введения в меньших дозах.

Содержащие МСТ композиции могут храниться в холодильнике или морозильнике. МСТ могут быть предварительно смешаны с другими компонентами этой композиции для обеспечения необходимых удобных количеств, могут быть эмульгированы, нанесены в виде покрытия на кормовую композицию для любимых животных, биологически активную добавку или пищевой продукт, приготовленный для потребления человеком, или могут добавляться к композиции перед ее потреблением или перед кормлением животного, например, с использованием порошка или смеси.

В одном варианте осуществления, эти композиции содержат МСТ в количестве, эффективном для повышения когнитивной функции и улучшения поведения животного, которому вводят эту композицию. Для кормов для любимых животных и пищевых продуктов, приготовленных для потребления человеком, количество МСТ в виде процента

этой композиции находится в диапазоне приблизительно 1% - приблизительно 30% композиции в расчете на сухую массу, хотя может предоставляться также меньший или больший процент. В различных вариантах осуществления, это количество равно  
5 приблизительно 1,0%, 1,5%, 2,0%, 2,5%, 3,0%, 3,5%, 4,0%, 4,5%, 5,0%, 5,5%, 6%, 6,5%, 7%, 7,5%, 8%, 8,5%, 9%, 9,5%, 10%, 10,5%, 11%, 11,5%, 12%, 12,5%, 13%, 13,5%, 14%, 14,5%, 15%, 15,5%, 16%, 16,5%, 17%, 17,5%, 18%, 18,5%, 19%, 19,5%, 20%, 20,5%, 21%,  
10 21,5%, 22%, 22,5%, 23%, 23,5%, 24%, 24,5%, 25%, 25,5%, 26%, 26,5%, 27%, 27,5%, 28%, 28,5%, 29%, 29,5%, 30% или более этой композиции в расчете на сухую массу. Биологически активные добавки могут быть приготовлены таким образом, что они  
15 содержат в несколько раз более высокие концентрации МСТ, для введения животному в форме таблетки, капсулы, жидкой концентрированной или другой аналогичной дозированной формы или для разбавления перед введением, например, разбавлением в воде, распылением или разбрызгиванием на корм для любимых животных и другими  
20 аналогичными способами введения. В качестве биологически активной добавки МСТ может вводиться отдельно непосредственно животному или наноситься непосредственно на обычный корм животного. Готовые формы биологически активных добавок в различных вариантах содержат приблизительно 30% - приблизительно 100% МСТ, хотя  
25 могут быть также использованы меньшие количества.

Источники МСТ включают в себя любой подходящий источник, синтетический или природный. Примеры природных источников включают в себя растительные  
30 источники, такие как кокосовый орех и кокосовое масло, ядра кокосового ореха и пальмоядровые масла, и источники из животных, например, молоко любого из множества видов.

В разных вариантах осуществления, эти композиции необязательно содержат дополнительные вещества, такие как минеральные вещества, витамины, соли, приправы, красители и консерванты. Не ограничивающие примеры дополнительных минеральных  
40 веществ включают в себя кальций, фосфор, калий, натрий, железо, хлорид, бор, медь, цинк, магний, марганец, йод, селен и т.п. Не ограничивающие примеры дополнительных витаминов включают в себя витамин А, любой из витаминов В, витамин С, витамин D, витамин Е и витамин К, в том числе различные соли, сложные эфиры или другие  
45 производные вышеупомянутых витаминов. Могут быть также включены дополнительные биологически активные добавки, например, любая форма ниацина (никотиновой кислоты), пантотеновой кислоты, инулина, фолиевой кислоты, биотина, аминокислот и  
50 т.п., а также их соли и производные. Кроме того, эти композиции могут содержать предпочтительные полиненасыщенные жирные кислоты с длинной цепью, такие как (n-3)-

и/или (п-6)-жирные кислоты, арахидоновая кислота, эйкозапентановая кислота, докозапентановая кислота и докозагексановая кислота, а также их комбинации.

5 Обеспеченные здесь композиции необязательно содержат одно или несколько  
дополнительных веществ, которые стимулируют или поддерживают общее  
неврологическое здоровье или дополнительно усиливают когнитивную функцию. Такие  
вещества включают в себя, например, холин, фосфатидилсерин, альфа-липоевую кислоту,  
10 CoQ10, ацетил-L-карнитин и компоненты или экстракты трав, содержащие, например,  
один или несколько компонентов из таких растений, как *Ginko biloba*, *Vacopa tonniera*,  
*Convolvulus pluricaulis* и/или *Leucojum aestivum*.

15 В различных вариантах осуществления, композиции пищевых или биологически  
активных добавок для любимых животных, обеспеченные здесь, предпочтительно  
содержат, в расчете на сухую массу, приблизительно 15% - приблизительно 50%  
неочищенного белка. Материал неочищенного белка содержит один или несколько белков  
20 из любого источника, животного, растения или иного источника. Например, для  
применения здесь подходят растительные белки, такие как соя, семена хлопчатника и  
арахис. Применимы белки животных, такие как казеин, альбумин и белок мяса, в том  
числе свинина, барашек, конское мясо, домашняя птица, рыба или их смеси.  
25

Эти композиции могут дополнительно содержать, в расчете на сухую массу,  
приблизительно 5% - приблизительно 40% жира. Эти композиции могут дополнительно  
содержать источник углеводов. Композиции обычно содержат приблизительно 15% -  
30 приблизительно 60% углеводов, в расчете на сухую массу. Примеры таких углеводов  
включают в себя зерна или зерновые продукты, такие как рис, кукуруза, сорго, люцерна,  
ячмень, соя, канола (рапс), овес, пшеница или их смеси. Эти композиции могут также  
35 необязательно содержать другие компоненты, которые содержат углеводы, например,  
высушенную молочную сыворотку и другие молочные продукты или субпродукты.

40 В некоторых вариантах осуществления, эти композиции содержат также, по  
меньшей мере, один источник волокна (клетчатки). Может быть использовано любое из  
различных растворимых и нерастворимых волокон, подходящих для использования в  
пищевых продуктах или кормах, и такие волокна будут известны специалистам с обычной  
квалификацией в данной области. Предпочтительные в настоящее время источники  
45 волокон включают в себя свекловичный жом (из сахарной свеклы), аравийскую камедь,  
мезгу цитрусовых, пектин, фруктоолигосахарид, дополнительно к олигофруктозе с  
короткой цепью, маннаноолигофруктозе, соевое волокно, арабиногалактан,  
50 галактоолигосахарид, арабиноксилан или их смеси. Альтернативно, источником волокна  
может быть ферментируемое волокно. Ранее было описано, что ферментируемое волокно

является полезным для иммунной системы домашнего животного. Ферментируемое волокно или другие, известные квалифицированным в данной области специалистам композиции, которые обеспечивают пребиотическую композицию для усиления роста пробиотических микроорганизмов в кишечнике, могут быть также включены в эту композицию, чтобы способствовать повышению пользы, обеспечиваемой данным изобретением иммунной системе животного. Кроме того, пробиотические микроорганизмы, такие как, например, виды *Lactobacillus* или *Bifidobacterium*, могут быть добавлены в эту композицию.

В одном варианте осуществления, эта композиция является полным и сбалансированным с питательной точки зрения кормом любимого животного. В этом контексте, кормом любимого животного может быть влажный корм, сухой корм или корм с промежуточным содержанием влаги, как это будет известно специалистам, квалифицированным в области изготовления и производства кормов для любимых животных. “Влажный корм” описывает корм для любимых животных, который обычно продается в консервных банках или мешках из фольги и имеет содержание влаги обычно в диапазоне приблизительно 70% - приблизительно 90%. “Сухой корм” описывает корм для любимых животных, который имеет состав, аналогичный составу влажного корма, но имеет ограниченное содержание влаги, обычно в диапазоне приблизительно 5% - приблизительно 15%, и, следовательно, находится под давлением, например, в виде небольших подобных печенью изделий из муки грубого помола. Эти композиции и биологически активные добавки могут быть приготовлены специально для животных взрослого возраста или для более старых или молодых животных, например, в данной области известны и доступны формы, конкретно адаптированные для щенков, котят или собак «пожилого возраста». Обычно, специализированные готовые формы будут содержать потребные с точки зрения энергии и питания количества, подходящие для животных на конкретных стадиях развития или в конкретном возрасте. Готовые формы для имеющих избыточную массу животных или животных с другими проблемами здоровья также известны в данной области и пригодны для использования здесь.

В определенных вариантах осуществления, эти композиции обеспечивают полный и сбалансированный корм (например, как описано в National Research Council, 1985, Nutritional Requirements for Dogs, National Academy Press, Washington D.C., or Association of American Feed Control Officials, Official Publication 1996). В других вариантах осуществления, эти композиции предназначены для применения вместе с такими кормами. То есть, композиции, содержащие МСТ, в соответствии с определенными вариантами осуществления, обеспеченными здесь, используют вместе с продаваемым

кормом высокого качества. В данном контексте, «продаваемым кормом высокого качества» называют рацион, изготавливаемый для получения перевариваемости ключевых нутриентов на 80% или более, как указано, например, в рекомендациях National Research Council выше в отношении собак. Аналогичные высокие стандарты нутриентов могли бы использоваться в отношении других животных.

Квалифицированному специалисту будет понятно, как определить подходящее количество МСТ, которое должно быть добавлено к конкретной композиции. Такие факторы, которые могут учитываться, включают в себя тип композиции (например, кормовая композиция для любимых животных, биологически активная добавка к пище или пищевой продукт, приготовленный для потребления человеком), среднее потребление конкретных типов композиций разными животными, предполагаемая или требуемая доза МСТ, вкусовые качества и переносимость конечного продукта для предполагаемого реципиента или потребителя, условия приготовления, при которых готовят эту композицию, пригодность для покупателя и соображения в отношении упаковки. Предпочтительно концентрации МСТ, которые должны добавляться к этой композиции, рассчитывают на основе потребностей животного в энергии и питательных веществах (нутриентах). МСТ могут быть добавлены в любое время во время приготовления и/или обработки этой композиции либо в виде части готовой формы кормовой композиции для любимых животных, биологической активной добавки или пищевого продукта для потребления человеком, либо в виде покрытия или добавки любому из вышеуказанных продуктов.

Квалифицированному специалисту будет понятно, что обеспеченные здесь композиции могут быть приготовлены и произведены в соответствии с любыми подходящими способами, известными в данной области, например, способами, описанными в Waltham Book of Dog and Cat Nutrition, Ed. ATB Edney, Chapter by A. Rainbird, entitled "A Balanced Diet" in pages 57 to 74, Pergamon Press Oxford.

#### **Способы:**

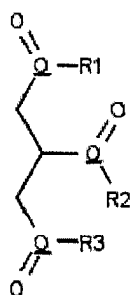
Другой аспект этого изобретения обеспечивает способы улучшения, и/или предупреждения, уменьшения или задержки ухудшения одной или нескольких из когнитивной функции, двигательной функции, и поведения животного, в частности, гериатрического животного, предусматривающие введение этому животному композиции, содержащей МСТ, в количестве, эффективном для улучшения, и/или предупреждения, уменьшения или задержки ухудшения когнитивной функции и поведения этого животного.

Таким образом, в одном аспекте обеспечены способы предупреждения,

уменьшения или задержки ухудшения одной или нескольких из когнитивной функции, двигательной функции, цереброваскулярной функции, и поведения млекопитающего. В одном варианте осуществления, этим млекопитающим является стареющее или

(a) идентификации млекопитающего, такого как стареющее млекопитающее, имеющего ухудшение, по меньшей мере, одной из когнитивной функции, двигательной функции, цереброваскулярной функции, или поведения; и

(b) введения этому млекопитающему на пролонгированной регулярной основе композиции, содержащей триглицериды со средней длиной цепи (МСТ), в количестве, эффективном для предупреждения, уменьшения или задержки ухудшения, по меньшей мере, одной из когнитивной функции, двигательной функции, цереброваскулярной функции, и поведения млекопитающего. В некоторых вариантах осуществления, эта композиция увеличивает концентрацию в кровотоке, по меньшей мере, одного кетонowego тела в этом млекопитающем. Как и в случае обеспеченных здесь композиций, МСТ, используемые здесь, имеют формулу, представленную формулой [I]:



Формула [I]

где R1, R2 и R3, эстерифицированные со скелетом глицерина, обозначают, каждый независимо, жирные кислоты, имеющие 5-12 атомов углерода. В некоторых вариантах осуществления, более чем приблизительно 95% R1, R2 и R3 имеют в длину 8 атомов углерода. Остальные R1, R2 и R3 являются 6-углеродными или 10-углеродными жирными кислотами в некоторых вариантах осуществления. В других вариантах осуществления, более чем, по меньшей мере, или приблизительно 30, 40 или 50% R1, R2 и R3 являются C8- и/или более чем, по меньшей мере, или приблизительно 30, 40 или 50% R1, R2 и R3 являются C10-жирными кислотами. В одном варианте осуществления приблизительно 50% R1, R2 и R3 являются C8- и приблизительно 50% R1, R2 и R3 являются C10-жирными кислотами.

В одном варианте осуществления, этот способ дополнительно предусматривает стадию мониторинга концентрации, по меньшей мере, одного кетонowego тела в этом млекопитающем. Квалифицированному специалисту будет понятно, что имеются

известные способы для измерения концентраций в крови или плазме кетоновых тел, суммарно или индивидуально. Все подобные способы пригодны для применения здесь в мониторинге концентрации кетоновых тел в этом млекопитающем.

5 В одном варианте осуществления этих способов, вводимая композиция содержит МСТ, так что количество каждого из  $\beta$ -гидроксипутирата, ацетоацетата и ацетона увеличивается в крови этого млекопитающего, в частности, относительно  
10 млекопитающего, не получающего этой композиции.

В различных вариантах осуществления, эти способы предусматривают стадию введения, где эта композиция содержит МСТ в количестве, эффективном для снижения количества в крови млекопитающего одного или нескольких компонентов из аланина,  
15 аминокислот с разветвленной цепью, общих липопротеинов, ненасыщенных жирных кислот или VLDL, или где количество каждого компонента из аланина, аминокислот с разветвленной цепью, общих липопротеинов, ненасыщенных жирных кислот и VLDL  
20 снижается в крови этого млекопитающего.

В других вариантах осуществления, вводимая композиция содержит МСТ в количестве, эффективном для повышения количества в крови количества одного или  
25 нескольких из глутамина, фенилаланина, HDL или цитрата, в то время как в других вариантах осуществления, количество каждого из глутамина, фенилаланина, HDL и цитрата повышается в крови этого млекопитающего.

В одном варианте осуществления, эти способы предусматривают стадию введения, где эта композиция содержит МСТ в количестве, эффективном для снижения количества  
30 каждого компонента из аланина, аминокислот с разветвленной цепью, общих липопротеинов, ненасыщенных жирных кислот или VLDL, наряду с повышением количества каждого из глутамина, фенилаланина, HDL и цитрата в крови этого  
35 млекопитающего.

В других вариантах осуществления, вводимая композиция содержит МСТ в количестве, эффективном для улучшения кровотока к головному мозгу или для  
40 улучшения целостности гематоэнцефалического барьера, или и того и другого. Такие улучшения могут быть измерены с одним индивидуумом на протяжении времени или относительно контроля, не получающего этой композиции.

45 В различных вариантах осуществления, обеспеченных здесь, вводимой композицией является корм любимого животного, биологически активная добавка к пище или пищевой продукт, приготовленный для потребления человеком, и в многочисленных  
50 вариантах осуществления, этим млекопитающим является домашнее животное. В некоторых вариантах осуществления, домашним животным является кошка или собака.

Вводимая композиция содержит, по меньшей мере, приблизительно 1% -  
приблизительно 30% МСТ в расчете на сухую массу в различных применениях этих  
способов. В некоторых вариантах осуществления, стадию введения выполняют на  
5 регулярной основе, предусматривающей введение, по меньшей мере, один раз в день. В  
некоторых предпочтительных в настоящее время вариантах осуществления, эту  
композицию вводят в виде части ежедневного режима питания в течение, по меньшей  
10 мере, приблизительно одной недели. Используют также продолжительность двух, трех  
или даже четырех недель. Здесь иллюстрируется введение композиций в течение одного -  
трех месяцев или четырех месяцев. В других вариантах осуществления, предполагается,  
15 что введение будет пролонгировано в течение 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 или даже 12 месяцев. В  
более продолжительных применениях, ожидаются периоды введения, охватывающие 1, 2,  
3 года или более. В таких вариантах осуществления, может быть полезным, по меньшей  
мере, периодический мониторинг животного на кетоацидоз и т.п., однако, нет  
20 доказательств, что обеспеченные здесь композиции или способы будут приводить к  
кетоацидозу даже после пролонгированного введения. В других вариантах  
осуществления, введение этих композиций поддерживается в течение остальной жизни  
животного (например, второй половины ожидаемой продолжительности жизни для  
25 животного, которое лишь недавно достигло пожилого или гериатрического статуса,  
определенного здесь).

В одном варианте осуществления, композицию вводят в виде части ежедневного  
30 режима питания в течение, по меньшей мере, приблизительно одной недели,  
приблизительно трех месяцев или приблизительно одного года как минимума.

В одном варианте осуществления, вводимая композиция содержит МСТ в  
35 количестве, эффективном для снижения азота мочевины крови или уменьшения  
деградации белка. В другом варианте осуществления, эта композиция содержит МСТ в  
количестве, эффективном для снижения количества или активности фермента,  
аланинаминотрансферазы.  
40

В одном варианте осуществления, обеспеченные способы предусматривают стадию  
введения, где эта композиция содержит МСТ в количестве, эффективном для улучшения  
45 социального поведения домашнего животного. Такое улучшение может включать в себя  
взаимодействие с собственным видом животного или с другим видом, например, с  
человеком.

Для определенных вариантов осуществления этого аспекта данного изобретения,  
50 эта композиция является кормовой композицией домашнего животного, биологически  
активной добавкой или пищевым продуктом, приготовленным для потребления

человеком, как иллюстрировано здесь. Животные могут включать в себя любых домашних животных или любимых животных, как описано выше, или могут включать в себя людей, за исключением случаев, когда это будет приводить к пониманию этого изобретения как включающего в себя способ или композицию предыдущего уровня техники, известные специалистам в данной области. В определенных вариантах осуществления, это животное является домашним животным, таким как собака и кошка. В другом варианте осуществления этим животным является человек.

Эти композиции могут вводиться животному любым из различных альтернативных способов введения. Такие способы включают в себя, без ограничения, пероральный, интраназальный, внутривенный, внутримышечный, внутрижелудочный, транспилорический, подкожный, ректальный и т.п. способы введения. Предпочтительно, эти композиции вводят перорально.

Введение может выполняться по мере необходимости или по желанию, например, один раз в неделю, один раз в день или более чем один раз в день. Подобным образом, введение может выполняться каждый второй день, каждую вторую неделю или каждый второй месяц, каждый третий день, каждую третью неделю, каждый третий месяц, каждый четвертый день, каждую четвертую неделю или каждый четвертый месяц, и т.п. Введение может выполняться в виде множественных введений в течение одного дня. При использовании в виде добавки к обычным требуемым количествам рациона, эта композиция может быть введена непосредственно в животное или контактировала иным образом или смешана с ежедневным кормом или с ежедневной пищей. При использовании в качестве ежедневного корма или ежедневной пищи введение будет известно специалистам с обычной квалификацией в данной области.

Введение может также проводиться на регулярной основе, например, в виде части рациона режима питания животного. Режим питания может предусматривать обязательный прием внутрь животным композиции, содержащей МСТ в количестве, эффективном для усиления когнитивной функции и улучшения поведения этого животного. Регулярный прием внутрь может осуществляться один раз в день или два, три, четыре или более раз в день на основе ежедневного или еженедельного введения. Подобным образом, регулярное введение может выполняться каждый второй день или каждую вторую неделю, каждый третий день или каждую третью неделю, каждый четвертый день или каждую четвертую неделю, каждый пятый день или каждую пятую неделю или каждый шестой день или каждую шестую неделю, и в таком режиме питания введение может выполняться в виде множественных введений в течение одного дня. Задачей регулярного введения является обеспечение животного предпочтительной

суточной дозой МСТ, иллюстрируемой здесь.

Суточная доза МСТ может быть измерена в граммах МСТ на кг массы тела (BW) животного. Суточная доза МСТ может быть в диапазоне приблизительно 0,01 г/кг -  
5 приблизительно 10,0 г/кг BW животного. Предпочтительно, суточная доза МСТ равна приблизительно 0,1 г/кг - приблизительно 5 г/кг BW животного. Более предпочтительно, суточная доза МСТ равна приблизительно 0,5 г/кг - приблизительно 3 г/кг животного. Еще  
10 более предпочтительно, суточная доза МСТ равна приблизительно 1 г/кг - приблизительно 2 г/кг животного.

В соответствии со способами этого изобретения, введение композиций, содержащих МСТ, в том числе введение в виде части рациона режима питания, может  
15 охватывать период времени от гестации и до конца жизни этого животного. Предпочтительно, композиции, содержащие МСТ, вводят гериатрическим животным. Хотя различные виды животных достигают пожилого возраста с разными скоростями, специалисты с квалификацией в данной области поймут, когда конкретный вид достиг  
20 пожилого возраста. Определение подходящего возраста для конкретного животного, в котором следует вводить композиции, содержащие МСТ, может выполняться рутинным образом специалистами с квалификацией в данной области.

Еще в одном из нескольких аспектов изобретения, обеспечены способы для улучшения, или предупреждения, уменьшения или задержки ухудшения, по меньшей  
30 мере, одной из когнитивной функции, двигательной функции, цереброваскулярной функции, или поведения стареющего млекопитающего. Эти способы обычно предусматривают стадии:

(a) идентификации стареющего млекопитающего, не имеющего заболевания с  
35 возрастным когнитивным нарушением; (также называемого здесь здоровым стареющим млекопитающим) и

(b) введения этому млекопитающему, на продолжительной регулярной основе, определенной здесь, композиции, содержащей триглицерида со средней цепью (МСТ), в  
40 количестве, эффективном для улучшения, или предупреждения, уменьшения или задержки ухудшения, по меньшей мере, одной из когнитивной функции, двигательной функции, цереброваскулярной функции, или поведения этого млекопитающего;

45 причем указанная композиция увеличивает концентрацию в кровотоке, по меньшей мере, одного кетонового тела в этом млекопитающем;

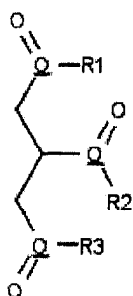
(c) измерения концентрации, по меньшей мере, одного кетонового тела и, по  
50 меньшей мере, одной из когнитивной функции, двигательной функции, цереброваскулярной функции, или поведения этого млекопитающего, по меньшей мере,

периодически в течение продолжительности этой стадии введения;

(d) сравнения концентрации по меньшей мере одного кетонового тела и показателя когнитивной функции, двигательной функции, цереброваскулярной функции, или поведения с этими показателями контрольного животного, не получающего вводимой композиции;

(e) корреляции концентрации этого кетонового тела с показателем когнитивной функции, двигательной функции, цереброваскулярной функции, или поведения, с установлением посредством этого предупреждения, уменьшения или задержки ухудшения, по меньшей мере, одной из когнитивной функции, двигательной функции, цереброваскулярной функции, или поведения как результата введения этой композиции.

В способах, приведенных в предыдущем описании и в другом месте здесь, МСТ имеют формулу [I]:



Формула [I];

где R1, R2 и R3, эстерифицированные со скелетом глицерина, обозначают, каждый независимо, жирные кислоты, имеющие 5-12 атомов углерода. В некоторых вариантах осуществления, более чем приблизительно 95% R1, R2 и R3 имеют в длину 8 атомов углерода. Остальные R1, R2 и R3 являются 6-углеродными или 10-углеродными жирными кислотами в некоторых вариантах осуществления.

В одном варианте осуществления, вводимая композиция содержит МСТ, так что количество каждого из  $\beta$ -гидроксибутирата, ацетоацетата и ацетона повышается в крови этого животного, в частности, относительно млекопитающего, не получающего этой композиции.

В различных вариантах осуществления, эти способы предусматривают стадию введения, где эта композиция содержит МСТ в количестве, эффективном для снижения количества в крови млекопитающего одного или нескольких компонентов из аланина, аминокислот с разветвленной цепью, общих липопротеинов, ненасыщенных жирных кислот или VLDL, или где количество каждого компонента из аланина, аминокислот с разветвленной цепью, общих липопротеинов, ненасыщенных жирных кислот и VLDL снижается в крови этого млекопитающего.

В других вариантах осуществления, вводимая композиция содержит МСТ в количестве, эффективном для повышения количества в крови количества одного или нескольких из глутамина, фенилаланина, HDL или цитрата, в то время как в других вариантах осуществления, количество каждого из глутамина, фенилаланина, HDL и цитрата повышается в крови этого млекопитающего.

В одном варианте осуществления, эти способы предусматривают стадию введения, где эта композиция содержит МСТ в количестве, эффективном для снижения количества каждого компонента из аланина, аминокислот с разветвленной цепью, общих липопротеинов, ненасыщенных жирных кислот или VLDL, наряду с повышением количества каждого из глутамина, фенилаланина, HDL и цитрата в крови этого млекопитающего.

В других вариантах осуществления, вводимая композиция содержит МСТ в количестве, эффективном для улучшения кровотока к головному мозгу или для улучшения целостности гематоэнцефалического барьера, или и того и другого. Такие улучшения могут быть измерены индивидуумом на протяжении времени в этом млекопитающем или относительно контроля, не получающего этой композиции.

В различных вариантах осуществления, эта композиция является кормом для любимых животных, биологически активной добавкой к пище или пищевым продуктом, приготовленным для потребления человеком. Эта композиция, а также способы ее приготовления и введения как таковые являются идентичными способам, приготовлению и введению, описанным в предыдущем аспекте этого изобретения, и это описание не требует полного повторения здесь.

В различных вариантах осуществления, обеспеченных здесь, вводимой композицией является корм любимого животного, биологически активная добавка к пище или пищевой продукт, приготовленный для потребления человеком, и в многочисленных вариантах осуществления, этим млекопитающим является домашнее животное. В некоторых вариантах осуществления, этим домашним животным является кошка или собака.

Вводимая композиция содержит, по меньшей мере, приблизительно 1% - приблизительно 30% МСТ в расчете на сухую массу в различных применениях этих способов. В некоторых вариантах осуществления, стадию введения выполняют на регулярной основе, предусматривающей введение, по меньшей мере, один раз в день. В некоторых предпочтительных в настоящее время вариантах осуществления, эту композицию вводят в виде части ежедневного режима питания в течение, по меньшей мере, приблизительно одной недели. Используют также продолжительность двух, трех

или даже четырех недель. Здесь иллюстрируется введение композиций в течение одного - трех месяцев или четырех месяцев. В других вариантах осуществления, предполагается, что введение будет пролонгировано в течение 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 или даже 12 месяцев. В еще более продолжительных применениях, ожидаются периоды введения, охватывающие 1, 2, 3 года или более. В таких вариантах осуществления, может быть полезным, по меньшей мере, периодический мониторинг животного на кетоацидоз и т.п., однако, нет доказательств, что обеспеченные здесь композиции или способы будут приводить к кетоацидозу даже после пролонгированного введения. В других вариантах осуществления, введение этих композиций поддерживается в течение остальной жизни животного (например, второй половины ожидаемой продолжительности жизни для животного, которое лишь недавно достигло пожилого или гериатрического статуса, определенного здесь).

В одном варианте осуществления, композицию вводят в виде части ежедневного режима питания в течение, по меньшей мере, приблизительно одной недели, приблизительно трех месяцев или приблизительно одного года как минимума.

В одном варианте осуществления, вводимая композиция содержит МСТ в количестве, эффективном для снижения азота мочевины крови или уменьшения деградации белка. В другом варианте осуществления, эта композиция содержит МСТ в количестве, эффективном для снижения количества или активности аланинаминотрансферазы.

В одном варианте осуществления, обеспеченные способы предусматривают стадию введения, где эта композиция содержит МСТ в количестве, эффективном для улучшения социального поведения домашнего животного. Такое улучшение может включать в себя взаимодействие с собственным видом животного или с другим видом, например, с человеком.

В другом аспекте этого изобретения, обеспечены способы предупреждения, уменьшения или задержки ухудшения, по меньшей мере, одной из когнитивной функции, двигательной функции, цереброваскулярной функции, или поведения в популяции здоровых стареющих млекопитающих. Такие способы применимы в развитии и приготовлении рационов и режимов питания для улучшения или предупреждения, уменьшения или задержки ухудшения когнитивной, двигательной или бихевиористической (поведенческой) функции. Эти способы обычно предусматривают:

(а) Идентификацию популяции здоровых стареющих млекопитающих. В предпочтительных вариантах осуществления, эти млекопитающие не имеют ни диагноза возрастного когнитивного нарушения, ни видимых показателей таких состояний.

(b) Разделение этой популяции, по меньшей мере, на контрольную группу и одну или несколько тест-групп. Квалифицированному специалисту будет понятно, что статистические способы планирования экспериментов и доступные популяции животных могут диктовать ряд групп, на которые может быть должным образом разделена выбранная популяция.

(c) Приготовление, по меньшей мере, одной системы доставки на основе рациона или схемы доставки композиции, содержащей триглицериды со средней цепью (МСТ) в количестве, эффективном для повышения и поддержания повышенного уровня, по меньшей мере, одного кетонового тела в крови индивидуального млекопитающего. Готовые формы системы доставки на основе рациона основываются на питательных/диетических потребностях этой популяции, включающих в себя макро- и микронутриенты, энергетических потребностях и т.п., и дополнительно содержат МСТ в виде части этого рациона. Предпочтительно, МСТ вводят непосредственно в готовую кормовую форму, но они могут быть также включены в нее в виде добавки, в любой форме, обсужденной здесь ранее в связи с другими аспектами этого изобретения. Эти МСТ имеют формулу [I], приведенную выше, где, как описано ранее, R1, R2 и R3, эстерифицированные со скелета глицерина, каждый независимо, обозначают жирные кислоты, имеющие 5-12 атомов углерода.

Конкретную готовую форму предоставляют каждому индивидууму в тест-группе на продолжительной регулярной основе, как определено здесь. Таким образом, каждая тест-группа получает готовую форму, доставляющую композицию, содержащую МСТ, тогда как контрольная группа не получает композиции, содержащей МСТ, но получает сравнимую готовую форму, не содержащую МСТ, но эквивалентную в отношении макро- и микронутриентов, энергетического содержания, волокна (клетчатки) и т.п.

(d) Сравнение, по меньшей мере, одной из когнитивной функции, двигательной функции, цереброваскулярной функции, или поведения в контрольной группе и тест-группах. Известные в данной области показатели и способы могут быть с легкостью применены здесь, и квалифицированный в данной области специалист может легко разработать дополнительные полезные показатели таких функций в соответствии с требованиями, зависимыми от эксперимента или популяции.

(e) Определение, какая из систем доставки на основе рациона для доставки композиции, содержащей МСТ, была эффективной в предупреждении, уменьшении, задержке ухудшения по меньшей мере одной из когнитивной функции, двигательной функции, цереброваскулярной функции, или поведения.

(f) Наконец, введение системы доставки на основе рациона, определенной в стадии

(е) выше, популяции стареющих млекопитающих, посредством которого происходит предупреждение, уменьшение, задержка ухудшения, по меньшей мере, одной из когнитивной функции, двигательной функции, цереброваскулярной функции, или поведения.

В одном варианте осуществления, термин «на продолжительной регулярной основе» в отношении предоставления тест-рациона включает в себя введение, по меньшей мере, один раз в день в течение периода (продолжительности) по меньшей мере, приблизительно одной недели – приблизительно одного года. Для применения здесь предполагаются и более продолжительные периоды, и такие более продолжительные периоды могут включать в себя тонкую подгонку перед повторениями приготовленных систем доставки для улучшения, например, предупреждения, уменьшения или задержки ухудшения или для улучшения вкусовых качеств, удобства или т.п.

В одном варианте осуществления, эти способы дополнительно предусматривают стадию мониторинга концентраций, по меньшей мере, одного кетонного тела в каждом млекопитающем в контрольной группе и тест-группах. В некоторых вариантах осуществления, количество каждого из  $\beta$ -гидроксипутирата, ацетоацетата и ацетона повышается.

В различных вариантах осуществления, композиция, доставляемая этой системой или схемой доставки, содержит МСТ в количестве, эффективном для снижения уровня в крови одного или нескольких компонентов из аланина, аминокислот с разветвленной цепью, общих липопротеинов, ненасыщенных жирных кислот или VLDL. В другом варианте осуществления, уровень каждого компонента из аланина, аминокислот с разветвленной цепью, общих липопротеинов, ненасыщенных жирных кислот и VLDL снижается. В другом варианте осуществления, эта композиция содержит МСТ в количестве, эффективном для повышения уровня в крови одного или нескольких из глутамина, фенилаланина, HDL или цитрата. В других вариантах осуществления, уровень каждого из глутамина, фенилаланина, HDL и цитрата повышается. В одном варианте осуществления, эта композиция содержит МСТ в количестве, эффективном для снижения уровня каждого компонента из аланина, аминокислот с разветвленной цепью, общих липопротеинов, ненасыщенных жирных кислот и VLDL, в то время как уровень каждого из глутамина, фенилаланина, HDL и цитрата повышается.

В других вариантах осуществления, вводимая композиция содержит МСТ в количестве, эффективном для улучшения кровотока к головному мозгу или для улучшения целостности гематоэнцефалического барьера, или и того и другого. Такие улучшения могут оцениваться на протяжении времени в этом млекопитающем или

относительно контроля, не получающего этой композиции. Они могут также оцениваться, например, относительно контрольной группы в среднем.

5 В различных вариантах осуществления, эта композиция является кормом для любимых животных, биологически активной добавкой к пище или пищевым продуктом, приготовленным для потребления человеком. Эта композиция, а также способы ее приготовления и введения как таковые являются идентичными способам, приготовлению и введению, описанным в предыдущем аспекте этого изобретения, и это описание обеспечено в предыдущем аспекте.

15 В различных вариантах осуществления, обеспеченных здесь, вводимой композицией является корм любимого животного, биологически активная добавка к пище или пищевой продукт, приготовленный для потребления человеком, и в многочисленных вариантах осуществления, этим млекопитающим является домашнее животное. В некоторых вариантах осуществления, этим домашним животным является кошка или собака.

20 Вводимая композиция содержит, по меньшей мере, приблизительно 1% - приблизительно 30% МСТ в расчете на сухую массу в различных применениях этих способов. В некоторых вариантах осуществления, стадию введения выполняют на регулярной основе, предусматривающей введение, по меньшей мере, один раз в день. В некоторых предпочтительных в настоящее время вариантах осуществления, эту композицию вводят в виде части ежедневного режима питания в течение, по меньшей мере, приблизительно одной недели. Используют также продолжительность двух, трех или даже четырех недель. Здесь иллюстрируется введение композиций в течение одного - трех месяцев или четырех месяцев. В других вариантах осуществления, предполагается, что введение будет пролонгировано в течение 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 или даже 12 месяцев. В еще более продолжительных применениях, ожидаются периоды введения, охватывающие 1, 2, 3 года или более. В таких вариантах осуществления, может быть полезным, по меньшей мере, периодический мониторинг животного на кетоацидоз и т.п., однако, нет доказательств, что обеспеченные здесь композиции или способы будут приводить к кетоацидозу даже после пролонгированного введения. В других вариантах осуществления, введение этих композиций поддерживается в течение остальной жизни животного (например, второй половины ожидаемой продолжительности жизни для животного, которое лишь недавно достигло пожилого или гериатрического статуса, определенного здесь).

50 В одном варианте осуществления, композицию вводят в виде части ежедневного режима питания в течение, по меньшей мере, приблизительно одной недели,

приблизительно трех месяцев или приблизительно одного года как минимума.

В одном варианте осуществления, вводимая композиция содержит МСТ в количестве, эффективном для снижения азота мочевины крови или уменьшения деградации белка. В другом варианте осуществления, эта композиция содержит МСТ в количестве, эффективном для снижения количества или активности аланинаминотрансферазы.

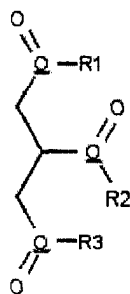
В одном варианте осуществления, обеспеченные способы предусматривают стадию введения, где эта композиция содержит МСТ в количестве, эффективном для улучшения социального поведения домашнего животного. Такое улучшение может включать в себя взаимодействие с собственным видом животного или с другим видом, например, с человеком.

Следующие примеры приведены для более подробного описания этого изобретения. Предполагается, что эти примеры иллюстрируют, но не ограничивают это изобретение.

## ПРИМЕР 1

### Животные и рационы

Сорок четыре животных с возрастом 8-11 лет делили на три когнитивно-эквивалентные группы обработки с использованием ошибок-на-критерий в тестах обучения различению объектов и реверсии (Таблица 1). Эти животные не имели никаких патологических состояний и считались здоровыми собаками пожилого возраста. Первая группа, контрольная группа, получала основной рацион, состоящий из приблизительно 10% влаги, 26% неочищенного белка, 16% жира и 6% золы, без какого-либо добавления МСТ. Этот основной рацион состоял из ингредиентов, обычно используемых в рационах домашних животных, таких как пивоваренная рисовая крупка, курица, цельная пшеница, мука субпродукта мяса птицы, мука из клейковины кукурузы, зерно кукурузы, животный жир, кукурузные отруби, высушенный яйцопродукт, усилители вкуса, витамины и минеральные вещества. МСТ, вводимые животным для этих экспериментов, имели общую формулу:



где, в этих применениях, более чем 95% R1, R2 и R3 были жирными кислотами,

имеющими 8 атомов углерода в углеродном скелете и эстерифицированными со скелетом глицерина. Остальные жирные кислоты были содержащими C<sub>6</sub> или C<sub>10</sub> жирными кислотами.

5 Вторая группа получала основной рацион, дополненный 1 г/кг/день МСТ. Третья группа получала основной рацион, дополненный 2 г/кг/день МСТ. Тест-вещество добавляли к обычному корму для собак и вводили постепенно на протяжении трех дней: 10 одну треть максимальной дозы МСТ вводили в первый день, две трети во второй день и полную дозу на третий день. Подопытных собак (субъектов) поддерживали на тест-веществе на протяжении всего этого исследования. Всех подопытных собак (субъектов) 15 подвергали предварительно протоколу предварительной дрессировки для ознакомления животных с испытательным устройством и для получения фоновых измерений когнитивной способности. Для всех групп количество корма или смеси корм-масло, предоставляемое животному, рассчитывали с использованием формулы: количество ккал 20 =  $(BW^{0,75})(70)(2)$ , где BW обозначает массу тела животного в килограммах. Это выполняли для предоставления животным одного и того же количества калорий в расчете на BW и для поддержания BW каждого животного во всех группах.

25 Эти животные начинали данное исследование в трех отдельных группах, называемых далее когортами. Первая когорта (32 собаки) начинали это исследование. Вторая когорта (10 собак) начинали это исследование спустя приблизительно два месяца. Третья когорта (12 собак) начинала это исследование спустя приблизительно три недели 30 после второй когорты. Когнитивное тестирование начиналось спустя 9 дней после того как эти животные начинали есть корм, содержащий полное количество тест-вещества.

В общем и целом, эта обработка обычно хорошо переносилась животными. Только 35 одно животное не потребляло постоянно рацион обработки, состоящий из суспензии, в которой МСТ были объединены с кормом. В результате это животное было переведено в контрольную группу.

40 Хотя запланированные дозы состояли из 1 г/кг/день и 2 г/кг/день, все эти животные могли не получать эту полную дозу. Поскольку смесь МСТ-масло примешивали вручную в сухую муку грубого помола, эта смесь покрывала не только эту муку, но также и стороны чашки. Таким образом, животные, которые не вылизывали чашку, не принимали 45 внутрь полную дозу. Кроме того, требовалось, чтобы животные потребляли их суточный рацион в пределах 0,5 часа, и не все животные потребляли их полный рацион во все дни.

50

Таблица 1

## Подопытные животные и отнесения их к группам

	Субъект	ID	Пол	Когор- та	Дата рождения	Возраст в начале	Ошибки		Группа (г/кг/день)	
							Различие	Отмена		
5	Ani	2439	Ж	2	14-Apr-96	8,13	39	137	0	
	Billy	38290	М	2	14-Apr-96	8,13	54	191	0	
	Cindy	54301	Ж	3	20-Feb-96	8,32	5	6	0	
	Clifford	36948	М	1	22-Dec-95	8,26	20	95	0	
	Courtney	37853	Ж	3	14-Apr-96	8,17	37	94	0	
10	Elmer	61101	М	1	12-Apr-95	8,95	47,5	17	0	
	Fudd	61039	М	1	20-May-95	8,84	9	75	0	
	Hush	38275	М	1	22-Dec-95	8,26	19	11	0	
	Larry	61078	М	1	5-Oct-94	9,46	16	82	0	
	Madonna	54446	Ж	3	1-Mar-96	8,29	23	29	0	
15	Pebbles	60669	Ж	1	28-Dec-94	9,23	22	80	0	
	P,J,	2506	Ж	3	14-Apr-96	8,17	85	183	0	
	Reggie	38302	М	1	22-Dec-95	8,26	15	40	0	
	Scott	38107	М	2	14-Apr-95	9,11	8	54	0	
	Sheri	39033	Ж	3	14-Apr-96	8,17	20	113	0	
20	Smeagol	37838	М	1	22-Dec-95	8,26	8	37	0	
	Tina	39001	Ж	1	22-Dec-95	8,26	7	92	0	
	Среднее						8,49	25,56	78,59	
	Стандартная ошибка среднего						0,11	5,12	13,39	
	Bear	61040	М	1	25-Mar-94	9,98	20	75	1	
25	Buddha	60951	Ж	1	12-Mar-95	9,03	7	34	1	
	Curly	61079	М	3	2-Jul-94	9,93	71	116	1	
	Eddie	38448	М	2	14-Apr-96	8,13	39	64	1	
	Elmo	38465	М	1	22-Dec-95	8,26	18	51	1	
	Hitchcock	38524	М	1	22-Dec-95	8,26	18	38	1	
30	Josephine	38535	Ж	1	22-Dec-95	8,26	20	39,5	1	
	Lionel	54445	М	3	1-Mar-96	8,29	3	52	1	
	Liz	20097	Ж	3	14-Apr-95	9,16	51	167	1	
	Louise	61099	Ж	1	25-Jan-95	9,16	10	80	1	
	Marilyn	38266	Ж	3	14-Apr-93	11,13	46	106	1	
35	Mia	38165	Ж	1	22-Dec-95	8,26	29	97,5	1	
	Olivia	38180	Ж	2	14-Apr-95	9,11	32	87,5	1	
	Paula	54362	Ж	3	3-Mar-96	8,28	33	21	1	
	Potsie	39006	М	1	22-Dec-95	8,26	13	32	1	
	Sarah	2505	Ж	2	14-Apr-94	10,10	25	174,5	1	
40	Shadow	38999	М	1	22-Dec-95	8,26	17	69	1	
	Speckles	61098	Ж	1	26-Feb-95	9,07	3	50	1	
	Среднее						8,94	25,28	75,22	
	Стандартная ошибка среднего						0,20	4,21	10,33	
	Boris	38175	М	1	22-Dec-95	8,26	30	59	2	
45	Chris	38379	М	2	14-Apr-95	9,11	41,5	155,5	2	
	Dave	38037	М	2	14-Apr-95	9,11	38	95	2	
	Fonzie	38474	М	1	22-Dec-95	8,26	35	60	2	
	Genie	38190	Ж	1	22-Dec-94	9,25	14	28	2	
	Janet	54299	Ж	3	20-Feb-95	9,31	13	20	2	
50	Jay Lo	61076	Ж	1	1-Jun-95	8,81	18	53	2	
	Kelly	2446	Ж	2	14-Apr-96	8,13	62	185	2	
	Kurt	39007	М	2	14-Apr-93	11,08	37	65	2	
	Layla	39005	Ж	1	22-Dec-95	8,26	3,5	155,5	2	
	Linos	38210	М	1	22-Dec-95	8,26	12	16	2	
55	Lucy	2636549	Ж	1	1-Jul-95	8,73	14	44	2	
	Moe	61077	М	1	12-Apr-95	8,95	35	106	2	
	Pippin	60870	М	1	6-Aug-95	8,64	37	73	2	
	Sealia	2056	Ж	1	22-Dec-95	8,26	3	47	2	
	Spinner	38542	М	1	22-Dec-95	8,26	17	62	2	
60	Suzy Q	38518	Ж	1	22-Dec-95	8,26	55	29	2	
	Thelma	61075	Ж	1	3-Feb-95	9,14	19,5	44	2	

Субъект	ID	Пол	Когор-та	Дата рождения	Возраст в начале	Ошибки		Группа (г/кг/день)
						Различие	Отмена	
Tiffany	54430	Ж	3	3-Mar-96	8,28	22	33	2
				Среднее	8,76	26,66	70	
				Стандартная ошибка среднего	0,16	3,76	11,15	

## ПРИМЕР 2

### Анализ крови

Исследование гематологии и биохимии крови выполняли при фоне, в день 9 и приблизительно через каждые 30 дней, пока животное не завершало когнитивное тестирование. Химию и гематологию крови подвергали мониторингу в качестве индекса общего здоровья и в качестве показателя реакции животного на обработку. Дополнительные пробы сыворотки и плазмы собирали и отправляли в архив. Не все из этих животных получали равное количество проб крови, так как эти животные не завершали полное исследование с одной и той же скоростью. В результате, в этом анализе были включены только гематология и биохимия крови, полученные в дни исследования 0 (T0), 9 (T1), 39 (T2), 69 (T3), 99 (T4) и 129 (T5).

Каждое измерение крови анализировали с использованием отдельных повторяемых измерений ANCOVA с группой обработки (0 против 1 против 2 г/кг/день) в качестве переменной между субъектами и временной точкой (T0 против T1 против T2 против T3 против T4 против T5) в качестве переменной в пределах субъекта. Когорта (1 против 2 против 3) служила в качестве ковариации.

Измерения крови включали в себя также скрининг уровней бета-гидроксибутирата (ВНВ). Реакция на обработку основывалась на уровнях ВНВ, которые обнаруживали предсказанное зависимое от дозы увеличение (фигура 1). Как видно на фигуре 1, группа, получающая более высокую дозу МСТ (2 г МСТ/кг массы тела/день), имела наивысшие уровни ВНВ во всех временных точках, за исключением фона (день 0 исследования). Группа 1 г/кг/день также имела повышенные уровни ВНВ, хотя они были более низкими, чем уровни в группе 2 г/кг/день. Аналогично людям и грызунам, которым предоставляли кетогенный рацион, уровни ВНВ, обнаруживали максимальные значения в начале и затем стабилизировались при слегка более низком уровне после приблизительно 1 месяца обработки. Среди собак, наблюдали индивидуальные различия в реакции на обработки МСТ. Одно животное в каждой из групп обработки не обнаруживало увеличения в уровнях ВНВ и эти животные были охарактеризованы как не реагирующие на обработку. В общем, только 5% обработанных животных не обнаруживали стойкой реакции на обработку, как было определено по среднему уровню ВНВ обработки, равному уровню фона или меньшему, чем уровень фона. Это наблюдение имеет важный смысл для

гериатрических собак, в частности, в связи с имеющимися более ранними сообщениями о том, что собаки не способны повышать их уровни ВНВ в ответ на генерирующий кетоны рацион.

5 Поскольку смесь МСТ-масло является высокоэнергетическим нутриентом, исследовали уровни глюкозы, холестерина и триглицеридов в сыворотке. В общем и целом, среди этих переменных не наблюдали связанных с обработкой эффектов, хотя  
10 было обнаружено, что обе группы обработки имели слегка повышенные уровни холестерина после 3 месяцев (Т4) и 4 месяцев (Т5) обработки (фигура 5).

Имелось некоторое доказательство того, что эта обработка снижала уровни аланинаминотрансферазы (ALT) (см. фигуру 2), хотя эта группа обработки по  
15 взаимодействию временных точек не была статистически значимой, и нельзя исключить различий фона в уровнях ALT.

Фигура 3 отражает тот факт, что концентрации общего белка имеют тенденцию  
20 быть более низкими в группах 1 и 2 г/кг/день, в сравнении с контрольной группой (получающей 0 г МСТ/кг массы тела/день). Общий белок был постоянно более низким в группе 2 г/кг/день, в сравнении с группой 0 г/кг/день. Эти видимые различия были более  
25 очевидными в конце этого исследования (фигура 3).

Фигура 4 показывает, что концентрации азота мочевины крови (BUN) могут изменяться в ответ на рацион, как можно видеть из данных для группы, получающей 2 г  
30 МСТ/кг/день. Несмотря на то, что группа с высокой дозой является эквивалентной контрольной группе при фоне, эта группа обнаруживала значимо низкие количества BUN в нескольких временных точках во время этого исследования (фигура 4). Группа 2 г/кг/день обычно имела более низкие концентрации BUN, чем контрольная группа; они  
35 были статистически более низкими при времени Т1 (9 дней), Т2 (39 дней) и Т4 (99 дней). Кроме того, концентрации BUN Т4 в группе 2 г/кг/день были статистическим более низкими, чем в контрольной группе и группе 1 г/кг/день. Концентрации BUN, вместе с  
40 уровнями креатинина, обычно используют в качестве индекса ренальной функции. Поскольку изменение в креатине в крови не наблюдали (данные не показаны), вероятность того, что ренальная функция была нарушена в животных с обработкой, является низкой.

45 Не наблюдали доказательства метаболического ацидоза ни в одном из обработанных животных. Натрий оставался неизменным, и не было поведенческих показателей ацидоза (данные не показаны).

50 В общем, ни в одной группе обработки не наблюдали указаний на вредные реакции на МСТ, и животные во всех группах оставались здоровыми на протяжении этого

исследования. МСТ могут оказывать некоторые полезные действия на общее здоровье, как можно предположить на основании уровней BUN и ALT.

### ПРИМЕР 3

#### Анализ действий обработки на активность и поведение собак

**Анализ активности.** Ритмы активности измеряли с использованием системы мониторинга активности Mini-Mitter® Actiwatch-16®. Показатели активности регистрировали каждые 30 с в течение периода 3 дней. Из этих данных рассчитывали средние уровни активности для двух временных периодов: (1) от захода до восхода солнца (ночь) и (2) от восхода до захода солнца (день). Кроме того, средний лаг-период между восходом солнца и появлением активности, определенный как 30-минутный оборот активности, рассчитывали для каждого животного, причем отрицательные оценки представляют появление активности до восхода солнца.

**Бихевиористический анализ.** Два отдельных теста были введены для оценки изменений в непосредственном (спонтанном) поведении, исследовательском поведении и социальном поведении: тест на любопытство и тест на взаимодействие с человеком. Эти тесты вводили дважды: один раз перед началом обработки (фон) и один раз после приблизительно 2 месяцев обработки. Спонтанные виды поведения, которые определяли количественно, включали в себя: общую опорно-двигательную активность, мочеиспускание, сопение, частота и продолжительность ухода за собой (наведения гигиены), бездеятельность (пассивность), проявление любопытства, применение голоса и подпрыгивание. Эти виды поведения определяли количественно как в тесте на любопытство, так и в тесте на взаимодействие с человеком. Исследовательские виды поведения определяли количественно с использованием теста на любопытство, который измерял как продолжительность, так и характер взаимодействия животного с предметами в его окружении. Социальные виды поведения определяли количественно с использованием теста взаимодействия.

**Результаты.** Для теста на любопытство животных помещали на место действия (арену) с открытым полем (приблизительно 8' x 16'), содержащее 7 предметов, и поведения животных регистрировали и определяли количественно на протяжении 10-минутного периода. Этот тест обеспечивал измерения спонтанного и исследовательского поведения. В тесте на любопытство имелось маргинально значимое (несущественное) групповое различие в величине опорно-двигательной активности [ $F(2,46) = 2,521$ ,  $p = 0,091$ ]. Группа 2 г/кг/день имела более высокие уровни опорно-двигательной активности в сравнении с контрольной группой и группой 1 г/кг/день, хотя тесты post-hoc не достигали статистической значимости (фигура б). Аналогичную тенденцию наблюдали в тесте

взаимодействия с человеком, хотя она не достигала статистической значимости (фигура 6).

**Бездеятельность (пассивность).** Анализ теста на любопытство выявил значимое увеличение пассивности при оценке обработки [ $F(2,46) = 6,418, p = 0,015$ ]. Имелось также значимое взаимодействие между группой обработки и временем [ $F(2,46) = 3,674, p = 0,033$ ]. Хотя тесты *post-hoc* не достигали статистической значимости ( $p > 0,10$ ), контрольная группа обнаруживала большое увеличение пассивности, тогда как группы 1 и 2 г/кг/день обнаруживали уменьшение или очень слабое увеличение пассивности между фоном и обработкой, соответственно (фигуры 8, 10). В тесте взаимодействия с человеком было значимое групповое действие [ $F(2,46) = 4,182, p = 0,021$ ] и тенденция в направлении уменьшенной пассивности при оценке обработки [ $F(2,46) = 2,760, p = 0,103$ ]. Как показано на фигуре 9, группа 1 г/кг/день была менее активной, чем группа 2 г/кг/день ( $p = 0,017$ ) и контрольная группа ( $p = 0,509$ ).

Во время теста взаимодействия с человеком животных помещали на место действия (арену) с открытым полем (приблизительно 8' x 16') со знакомым человеком, усаженным в центре этой комнаты. Человек был проинструктирован о том, что он должен оставаться пассивным и не взаимодействовать с собакой. Поведения животного регистрировали и определяли количественно на протяжении 10-минутного периода. Этот тест обеспечивал показатели спонтанного поведения и социального поведения. Ранее сообщалось, что продолжительность и тип взаимодействий со знакомым индивидуумом в сильной степени коррелировали с возрастом и когнитивной способностью (Siwak *et al.* 2001). Молодые, когнитивно интактные собаки обычно проводили большую часть 10-минутного периода, взаимодействуя с человеком и физически контактируя с человеком (например, сидя на коленях у человека, подталкивая руку человека для получения его ответной реакции). Старые, когнитивно интактные собаки также проводили большую часть их времени, взаимодействуя с человеком, но без осуществления значительного физического контакта с человеком (например, сидя у ног индивидуума и глядя на них), что определяется Siwak *et al.* (2001) как "время вблизи." Собаки с деменцией имели тенденцию игнорирования индивидуума и проведения очень малого периода времени в контакте с индивидуумом или вблизи индивидуума.

Для каждого поведения результаты анализировали с использованием ANCOVA с повторяемыми измерениями. Группа обработки (0 против 1 против 2 г/кг/день) была переменной между субъектами, фаза исследования (фон против обработки) была переменной в пределах субъекта и когорта (1 против 2 против 3) была ковариацией. Тесты *post-hoc* использовали поправку Бонферони. Проводили также аналогичный анализ,

который исключал не реагирующих собак.

Для каждого поведения изменение относительно фона рассчитывали вычитанием уровня активности фона из уровня активности обработки. Положительные оценки указывали на увеличение частоты/продолжительности поведения, а отрицательные оценки указывали на уменьшение. Результаты из каждого теста на активность анализировали с использованием отдельных MANCOVA с группой (0 против 1 против 2 г/кг/день), служащей в качестве переменной между субъектами, и когортой (1 против 2 против 3), служащей в качестве ковариации. Зависимыми переменными были каждые из определенных количественно поведений для конкретного бихевиористического (поведенческого) теста. Этот анализ повторяли с исключением не реагирующих собак.

Эти бихевиористические конечные результаты служили для определения, действовала ли обработка МСТ на поведения, ранее связанные с познавательной способностью. Второй задачей было определение других поведенческих изменений, которые могли бы наблюдаться.

Обработка 2 г/кг/день МСТ оказывала положительное действие на проявления видов спонтанного поведения. Группа 2 г/кг/день имела более высокие уровни общей активности согласно оценке с использованием теста на любопытство, теста на взаимодействие с человеком и устройств Actiwatch (фигуры 6, 7). Хотя увеличение опорно-двигательной активности присутствовало как при фоне, так и во время обработки, имелось также связанное с обработкой действие на уровни активности в дневное время при использовании устройства Actiwatch. Кроме того, группа с низкой дозой и контрольная группа обнаруживали уменьшение активности при повторяемом тестировании, в то время как уровень активности группы с высокой дозой оставался стабильным. Эта уменьшенная активность могла быть частично обусловлена адаптацией к арене активности. Маловероятно, что это является основным источником снижения, так как предыдущие сообщения показали, что активность в открытом поле остается относительно стабильной у биглей (коротконогих гончих собак) при повторяемом тестировании (Siwak *et al.*, 2001). Имелось также значимое уменьшение в проявлении любопытства в группе 2 г/кг/день (фигуры 11, 12).

**Частота мочеиспускания на предметах.** Имелось общее групповое различие в частоте мочеиспускания на этих предметах [ $F(2,46) = 4,098$ ,  $p = 0,023$ ]. Как показано на фигуре 13, контрольная группа мочилась на предметах более часто, чем группа 1 г/кг/день ( $p = 0,045$ ) или группа 2 г/кг/день ( $p = 0,049$ ).

**Частота поднимания предметов.** Имелось общее групповое различие в частоте поднимания предметов [ $F(2,46) = 2,571$ ,  $p = 0,087$ ]. Группа 1 г/кг/день поднимала объекты

более часто в сравнении с остальными группами (фигура 14), хотя тесты post-hoc не достигали статистической значимости.

В общем и целом, обработка МСТ положительно модифицировала социальное поведение. Обе группы обработки обнаруживали увеличение продолжительности контакта с индивидуумом, тогда как контрольная группа обнаруживала уменьшение контакта с индивидуумом во время оценивания обработки. В противоположность этому, контрольная группа обнаруживала увеличение продолжительности пребывания вблизи индивида при оценивании обработки (фигуры 15-18). Таким образом, обе группы обработки обнаруживали увеличение в проявлениях социального поведения, обычно наблюдаемых в когнитивно интактных молодых собаках. В противоположность этому, контрольная группа обнаруживала сдвиг в их типе социального поведения. Характерные типы поведения «молодой собаки без деменции» сменились типом поведения «старой собаки без деменции», таким как проведение времени вблизи человека (но не в контакте с человеком)

Уровни дневной и ночной активности в клетке обитания для измерения активности наблюдали и регистрировали с использованием Actiwatch. Siwak et al. (2003) показали, что старые животные с деменцией обнаруживают картины крайне нерегулярной активности, характеризующиеся увеличенной активностью в ночное время и большим лаг-периодом между восходом солнца и появлением активности.

Животные с 2 г/кг/день обнаруживали значимое увеличение уровней активности в дневное время при условии обработки (фигура 19). Остальные группы также обнаруживали небольшое увеличение уровней активности в дневное время. Это увеличение можно было частично отнести к увеличению количества животных и обслуживающего персонала при этой аппаратуре. Лаг-период появления активности не оказывал какого либо действия на обработку, однако, все эти животные действительно обнаруживали большой лаг между восходом солнца и появлением активности во время фазы обработки. Этот эффект, по-видимому, был связан с сезонными различиями. Оценку обработки при помощи Actiwatch выполняли в основном осенью, когда солнце восходит позднее. Однако обслуживающий аппаратуру персонал продолжал начинать их смены в то же самое время, которое могло бы быть временем до восхода солнца во время оценивания обработок.

#### **ПРИМЕР 4**

#### **Анализ действий обработок на когнитивные функции собак**

Животных делили на группы обработок на основе ошибок-на-критерий как в случае заданий на способность различения, так и в случае заданий на реверсию обучения. Для гарантии, что эти группы обработки были сбалансированными в отношении когнитивных функций, проводили три анализа. Для всех анализов заданием (различение против реверсии), служившим в качестве переменной в пределах субъекта и зависимых переменных, были ошибки-на-критерий при различении и реверсии.

**Задержанное определение несоответствия в отношении положения (DNMP).** Первое когнитивное задание, задание задержанного определения несоответствия в отношении положения, обеспечивало показатель как способности комплексного обучения, так и работающей визуально-пространственно памяти. Вкратце, животному предоставляли группу однородных предметов, занимающих некоторое пространственное местоположение. Животное должно было запомнить местоположение объекта на протяжении короткого периода задержки и выбрать этот объект, занимающий новое положение, после этой задержки. Во время начального тренинга эту задержку фиксировали при 5 секундах. После обучения этому заданию животных тестировали по протоколу максимальной памяти, в котором задержки увеличивали прогрессирующим образом. Для фазы обучения, необработанные данные состояли из ошибок, сеансов и попыток для достижения этого двухстадийного критерия обучения или, если животное было не способно к обучению этому заданию, ошибок, сделанных на протяжении 40 сеансов (480 попыток). Для фазы максимальной памяти, эти необработанные данные состояли из самой длинной задержки (в секундах), на которую было способно животное для прохождения двухстадийного критерия обучения в пределах 40 сеансов. Для фазы максимальной памяти, эти необработанные данные состояли из самой продолжительной задержки (в секундах), на которую было способно животное для прохождения двухстадийного критерия обучения в пределах 40 сеансов.

Эти данные анализировали с использованием MANCOVA с группой (0 против 1 против 2 г/кг) в качестве переменной между субъектами и когортой (1 против 2 против 3) в качестве ковариации. Зависимыми переменными были ошибки-сеансы- и попытки-на-критерий в фазе обучения и способность максимальной памяти.

Эти результаты обнаруживали обычно улучшенное обучение в группе с высокой дозой, как показано значимыми действиями на показатели как сеансов-на-критерий, так и попыток-на-критерий. Не было доказательства зависимого от дозы действия, так как группа 1 г/кг/день была самой медленной в обучении этому заданию (фигуры 20, 21). Не наблюдали значимых действий на способность максимальной памяти, хотя животные с обработкой имели тенденцию иметь более высокие способности максимальной памяти

(фигура 22). Эти результаты были частично запутаны отсутствием данных из четырех субъектов (3 в группе 1 г/кг/день и 1 в группе 0 г/кг/день). Неспособность этих животных научиться заданию при 5-секундной задержке привела к их исключению из тестирования максимальной памяти, что привело к исключению этих самых слабых животных из этих двух групп.

**Различение странности.** Второе когнитивное задание оценивало обучение сложному правилу и селективное внимание. Животные должны были выбрать незнакомый (странный) предмет из трех (двух идентичных предметов и одного незнакомого (странного) предмета)). Эти животные получали максимально 20 сеансов для достижения двухстадийного критерия обучения. Для лучшего количественного определения обучения использовали два уровня странности, причем второй уровень является более трудным, чем первый. Для измерения обучения при каждом уровне трудности использовали ошибки-, сеансы- и попытки-на-критерий или, если животное было не способно к обучению в пределах 20 сеансов, использовали ошибки на протяжении 20 сеансов (400 попыток) для измерения на каждом уровне трудности.

Действия всех обработок не были статистически значимыми. Однако, на обоих уровнях различения странности, животные в группе 2 г/кг/день обучались этому заданию более быстро (фигуры 23, 24). Отсутствие значимости при этом задании было частично спутано неспособностью многих животных достигать критерия обучения в пределах отведенного времени (т.е. эффектом потолка). Кроме того, критерий хи-квадрат частоты успешного прохождения/неудачи при прохождении также подтвердил лучшую эффективность группы 2 г/кг/день.

**Обучение заданию на выполнение движений и выполнение этого задания.** Конечный когнитивный показатель состоял в обучении заданию на выполнение движений и в выполнении этого задания. Вкратце, животных дрессировали для применения их лапы для получения вознаграждения в виде пищевого продукта. Сначала определяли максимальное расстояние, при котором это животное могло бы с успехом получать пищу. Животные получали два сеанса при каждом расстоянии, пока они были уже не способны доставать пищевое вознаграждение, по меньшей мере, один раз во время сеанса. Затем, выполнение этого задания оценивали измерением времени получения пищевого продукта при трех расстояниях: максимальном расстоянии животных и полумаксимальном расстоянии животных и расстоянии 1 см, которое служило в качестве контроля. Эти необработанные данные фазы обучения состояли из максимального расстояния, определяемого как максимальное расстояние, при котором животное могло бы успешно получать пищевое вознаграждение, и среднего латентного периода во время сеансов

обучения (первого сеанса при каждом расстоянии) и среднего латентного периода между сеансами дрессировки (второго сеанса при каждом расстоянии). Эти необработанные данные в фазе выполнения состояли из средних латентных периодов для реакции при каждом из этих расстояний (0 см, полумаксимальном расстоянии и максимальном расстоянии).

Животные 2 г/кг/день были способны достигать более длинных максимальных расстояний, чем группы 1 г/кг/день и 0 г/кг/день (фигура 25). Первое сравнение было статистически значимым. Кроме того, группа 2 г/кг/день, по-видимому, имела более короткие латентные периоды в первый день тестирования при любом конкретном расстоянии, хотя это действие не было значимым. В целом эти открытия предполагают, что животные в группе 2 г/кг/день имели улучшенное процедурное обучение. Однако эта интерпретация не учитывает никакие потенциальные действия, происходящие из размера собак. Более крупные собаки, по природе, имеют более длинные лапы и, следовательно, могли бы предположительно достигать вознаграждения при более длинных расстояниях. Однако вряд ли этот фактор оказывает существенное влияние на представленные данные, так как меньшие животные были способны достигать таких же самых расстояний, что и более крупные животные.

Ожидаемое зависимое от расстояния действие на латентные периоды наблюдали с переменным заданием на выполнение движений. Животные были значимо более медленными при предоставлении их полумаксимального расстояния и даже более медленными при предоставлении их максимального расстояния. В этой фазе данного задания не наблюдали действий обработки.

В целом, эти когнитивные конечные результаты предполагают, что доза 2 г/кг/день МСТ имеет усиливающие когнитивные функции действия и что доза 1 г/кг/день является субтерапевтической. Кроме того, результаты по заданию на выполнение движений подтверждают интерпретацию, что высокая доза может влиять на двигательную активность как следствие улучшенного здоровья.

## **ПРИМЕР 5**

### **МРТ-анализ головного мозга и цереброваскулярной системы собак**

МРТ (магнитно-резонансная томографию) выполняли спустя приблизительно 1,5 месяца после начала обработки для первой когорты. Изображения получали из 30 тест-субъектов. Поскольку животные из 2-ой и 3-ей когорт еще не начинали их период обработки, их помещали в контрольную группу. Таблица 2 показывает разделения групп для МРТ-анализа. Результаты МРТ были вторым критерием, нацеленным на то, чтобы показать, что МСТ могли бы индуцировать физиологические изменения в метаболизме

головного мозга. Включали только субпопуляцию животных в группах обработки, так как природа этих выполненных измерений делала очень трудным получение большого размера проб. Например, если в изображении было невозможно ясно идентифицировать сонную артерию, соответствующий контрольный сигнал не мог быть использован. Тем не менее, наблюдения МРТ обеспечивали доказательство физиологических изменений в головном мозгу после 1,5 месяца обработки МСТ.

Таблица 2

## Субъекты и группы МРТ

Животное	ID	Когорта	Группа (только МРТ-анализ)
Ani	2439	2	0 г/кг/день
Billy	38290	2	0 г/кг/день
Chris	38379	2	0 г/кг/день
Cindy	54301	3	0 г/кг/день
Clifford	36948	1	0 г/кг/день
Courtney	37853	3	0 г/кг/день
Curly	61079	3	0 г/кг/день
Dave	38037	2	0 г/кг/день
Eddie	38448	2	0 г/кг/день
Elmer	61101	1	0 г/кг/день
Janet	54299	3	0 г/кг/день
Kelly	2446	2	0 г/кг/день
Kurt	39007	2	0 г/кг/день
Larry	61078	1	0 г/кг/день
Lionel	54445	3	0 г/кг/день
Liz	20097	3	0 г/кг/день
Madonna	54446	3	0 г/кг/день
Marilyn	38266	3	0 г/кг/день
Olivia	38180	2	0 г/кг/день
Paula	54362	3	0 г/кг/день
Pebbles	60669	1	0 г/кг/день
P.J.	2506	3	0 г/кг/день
Reggie	38302	1	0 г/кг/день
Sarah	2505	2	0 г/кг/день
Scott	38107	2	0 г/кг/день
Sheri	39033	3	0 г/кг/день
Smeagol	37838	1	0 г/кг/день
Tiffany	54430	3	0 г/кг/день
Tina	39001	1	0 г/кг/день
Bear	61040	1	1 г/кг/день
Buddha	60951	1	1 г/кг/день
Elmo	38465	1	1 г/кг/день
Hitchcock	38524	1	1 г/кг/день
Louise	61099	1	1 г/кг/день
Mia	38165	1	1 г/кг/день
Potsie	39006	1	1 г/кг/день
Shadow	38999	1	1 г/кг/день
Speckles	61098	1	1 г/кг/день
Boris	38175	1	2 г/кг/день
Fonzie	38474	1	2 г/кг/день
Genie	38190	1	2 г/кг/день
Jay Lo	61076	1	2 г/кг/день

Животное	ID	Когорта	Группа (только МРТ-анализ)
Linos	38210	1	2 г/кг/день
Lucy	2636549	1	2 г/кг/день
Moe	61077	1	2 г/кг/день
Pippin	60870	1	2 г/кг/день
Sealia	2056	1	2 г/кг/день
Spinner	38542	1	2 г/кг/день
Suzy Q	38518	1	2 г/кг/день
Thelma	61075	1	2 г/кг/день

**Индекс объема циркулирующей крови.** Индекс объема циркулирующей крови (BVI), измеренный в структуре головного мозга с использованием T1-динамической МРТ и контрастного агента (Gd DTPA-BMA, Omniscan®). BVI измеряли для следующих четырех областей: (1) префронтальной-фронтальной области, (2) таламуса, (3) гиппокампа и (4) мозжечка.

BVI анализировали с использованием повторяемых измерений ANOVA, причем область (префронтальная-фронтальная кора против таламуса против гиппокампа против мозжечка служила в качестве переменной в пределах субъекта, а группа (0 г/кг/день против 1 г/кг/день против 2 г/кг/день) служила в качестве переменной между субъектами.

Наблюдали область-специфические различия в объеме циркулирующей крови. Префронтальная-фронтальная кора имела наивысший индекс (наибольший объем крови), тогда как таламус имел наименьший объем крови. BVI различались также между группами. Группа 2 г/кг/день имела значимо меньший объем крови, чем группа 0 г/кг/день (фигура 26).

**Индекс утечки крови.** Индекс утечки крови (BLI), измеряемый утечкой крови из головного мозга. BLI определяли получением повторяемых изображений с использованием T1-динамической МРТ и контрастного агента (Gd DTPA-BMA, Omniscan®) для определения количества этого контрастного агента в цереброваскулярной системе в зависимости от общего введенного количества. BLI измеряли для следующих четырех областей: (1) префронтальной-фронтальной области, (2) таламуса, (3) гиппокампа и (4) мозжечка.

BLI анализировали с использованием повторяемых измерений ANOVA, причем область (префронтальная-фронтальная кора против таламуса против гиппокампа против мозжечка служила в качестве переменной в пределах субъекта, а группа (0 г/кг/день против 1 г/кг/день против 2 г/кг/день) служила в качестве переменной между субъектами.

Аналогично BVI, наблюдали область-специфическое действие, причем префронтальная-фронтальная кора имела наибольшую утечку, а таламус имел наименьшую утечку. Действия обработок также были очевидными на измерениях утечки

крови. Группа 2 г/кг/день имела значимо меньшую утечку, чем контрольная группа (фигура 27). Эти открытия предполагают, что кровь в животных с высокой дозой не утекает в неподходящие области головного мозга.

**Индекс гематоэнцефалического барьера.** Индекс гематоэнцефалического барьера (BBVI), измеряемый по подтекаемости гематоэнцефалического барьера в структуре головного мозга. Более высокие оценки свидетельствуют о большей утечке через гематоэнцефалический барьер в головной мозг. BBVI измеряли с использованием T1-динамической МРТ и контрастного агента Omniscan®). BBVI измеряли для следующих четырех областей: (1) префронтальной-фронтальной области, (2) таламуса, (3) гиппокампа и (4) мозжечка.

BBVI анализировали с использованием повторяемых измерений ANOVA, причем область (префронтальная-фронтальная кора против таламуса против гиппокампа против мозжечка служила в качестве переменной в пределах субъекта, а группа (0 г/кг/день против 1 г/кг/день против 2 г/кг/день) служила в качестве переменной между субъектами.

Хотя не наблюдали региональных различий, имелось незначительно значимое действие обработки. Группа 2 г/кг/день имела меньшую утечку BBB, чем животные с 1 г/кг/день и животные с 2 г/кг/день (фигура 28).

**Региональный объем крови в головном мозге.** Индекс регионального объема крови в головном мозге (rCBVI), измеренный по региональному объему крови в структуре головного мозга с использованием T2-перфузионной МРТ и контрастного агента (Gd DTPA-BMA, Omniscan®). rCBVI измеряли как для серого, так и для белого вещества.

rCBVI анализировали с использованием повторяемых измерений ANOVA, причем тип ткани (серое вещество против белого вещества) служило в качестве переменной в пределах субъекта и группа (0 г/кг/день против 1 г/кг/день против 2 г/кг/день) служила в качестве переменной между субъектами.

Наблюдали незначительно значимое действие, причем животные с 2 г/кг/день имели больший rCBV, чем животные с 1 г/кг/день (фигура 29).

## **ПРИМЕР 6**

### **Питательная метабономика индуцированных МСТ метаболических изменений на основе ЯМР**

Пробы из исследований с собаками, использующими контрольный рацион, и собаками с МСТ при 1 г или 2 г на кг массы тела в день анализировали с использованием ЯМР для оценки метабономических изменений. Метабономика (также называемая иногда метаболомикой) является исследованием количественного измерения динамической мультипараметрической метаболической реакции живых систем на такие изменения, как

физиологические стимулы или генетическая манипуляция. С этой технологией может быть предпринята метаболическая характеристика любых конкретных клетки, ткани, органа или организма в любой точке времени или на протяжении времени. Веские способы статистического анализа используют для содействия обнаружению различий и действий обработок. Статистические анализы, применяемые обычно и обеспеченные здесь, включают в себя как не требующие управления анализы, такие как анализ основного компонента (PCA), так и управляемые анализы, такие как частичный дискриминантный анализ наименьших квадратов (PLS-DA) и ортогональный (статистически независимый) частичный дискриминантный анализ наименьших квадратов (O-PLS-DA). PCA использовали сначала для идентификации выбросов. PLS-DA использовали для отфильтровывания метаболической информации, не коррелированной с определенными классами, с созданием возможности кластеризации для метаболической интерпретации. O-PLS-DA использовали для дополнительного уточнения таким образом, что X-матрицу (NMR-спектры) и Y-матрицу (класс обработки или тестируемая временная точка) разделяли на три части, первая из которых является общей для X и Y, вторая из которых содержит специфическую вариацию X («структурный шум») и третья часть из которых содержит оставшуюся дисперсию. O-PLS-DA-загрузка этих данных делает возможными лучшие предсказательные интерпретации и более точные интерпретации исследуемых метаболических эффектов.

Конструировали графики нагрузки для идентификации соединений, ответственных за разделение кластеров/групп и т.п. Используемое программное обеспечение включало в себя Matlab и Simca P+11.

Пробы плазмы измеряли с использованием общепринятого  $^1\text{H}$ -ЯМР при 660,22 МГц на спектрометре Bruker Avance-600. Пробы измеряли в случайном порядке.

Использовали следующие параметры сбора данных:

NOESY-предварительное насыщение:  $D-90^\circ-t_1-90^\circ$  - требуют затухания свободной индукции (FID); где D1 является задержкой релаксации (2,0 с), во время которой селективно облучается водный резонанс, и  $t_1$  является фиксированным интервалом 3 мс. Этот водный резонанс облучали второй раз во время периода смешивания ( $t_m$ , 100 мс).

Carr-Purcell-Meiboom-Gill (CPMG):  $D_1[-90^\circ-(T-180^\circ-T)_n - \text{FID}]$ . Время петли спин-эхо ( $2n T$ ) устанавливали на 64 мс. Использовали время релаксации 2,0 с.

Для обработки спектров, FID умножали на экспоненциальную функцию, соответствующую уширению линии (LB) 0,3 Гц, перед преобразованием Фурье для набора данных NOESY-предварительного насыщения, и 1,0 Гц для набора данных CPMG. Каждый из полученных спектров проверяли визуально на правильное шиммирование и

водное подавление с последующей корректировкой на фазовые и фоновые искажения с использованием TOPSPIN (версии 1.3., Bruker, Karlsruhe, Germany). Калибрование на химический сдвиг выполняли с использованием сигнала дублета альфа-аномерного протона глюкозы при 5,23 м.д.

Отнесение пиков выполняли с использованием программы просмотра AMIX (версии 3.6.8, Bruker). Спектры обрабатывали операциями фазирования, определения фона и калибрования перед подверганием статистическому анализу, описанному выше.

Выбранные результаты O-PLS-DA-анализа показаны на фигурах 30, 31 и 32. Как можно видеть на этих фигурах, каждое животное идентифицируется именем, кластеры могут лучше всего наблюдаться в цвете. Фигуры 30 и 31, каждая, показывают один и тот же основной компонент анализа, однако, фигура 30 имеет данные для каждого животного в каждой группе с дозами обработки МСТ 0, 1 и 2 г, тогда как фигура 31 является упрощенной и показывает только данные для обработки дозой 0 и 2 г. Это разделение легче наблюдать на менее загруженной диаграмме. Фигура 32 показывает данные для контрольной группы (0 г МСТ) и группы с высокой дозой (2 г МСТ) для различных наборов основных компонентов.

Эти данные позволили сделать следующие выводы из этого метаболомического исследования:

Включение в рацион МСТ приводит к уменьшению концентраций аланина, аминокислот с разветвленной цепью, липопротеинов, ненасыщенных жирных кислот и мочевины. Включение МСТ приводило к ожидаемому увеличению кетоновых тел ( $\beta$ -гидроксibuтирата, ацетоацетата и ацетона). Оно приводило также к увеличению глутамина и фенилаланина. Наблюдали также уменьшение липопротеинов, липопротеинов очень низкой плотности ((VLDL) и хиломикроннов и увеличение липопротеинов высокой плотности (HDL) и цитрата. Дополнительные изменения были отмечены на протяжении хода этого исследования. С увеличением временем увеличивались концентрации метаболитов: изомаляной кислоты, уксусной кислоты, муравьиной кислоты и сигнал при 3,39 м.д. С другой стороны, содержание лактата уменьшалось на протяжении времени.

Таким образом, метаболомические данные как в зависимости от группы обработки, так и в зависимости от времени были ценными для достижения более глубокого понимания метаболических изменений у животных, получающих МСТ в рационе в течение продолжительного времени. Вместе с бихевиористическими (поведенческими) данными и данными в отношении двигательной и когнитивной функции и анализами на основе химии крови, может быть понятной детальная картина изменений, которые могут

быть получены посредством такого продолжительного введения в рацион этой биологически активной добавки.

#### **ПРИМЕР 7**

##### **Кошки демонстрируют возрастное когнитивное прогрессирующее заболевание**

Представляло также интерес определение, может ли быть разработана полезная модель когнитивной функции/ухудшения когнитивной функции в других животных. Возрастные изменения в поведенческих признаках и патология головного мозга сообщались в отношении кошек. Однако имелись только ограниченные доказательства того, что кошки подвергаются возрастному когнитивному заболеванию. Как в собаках, так и в людях исполнительская функция нарушается рано при старении. В данном исследовании, исследовали активность кошек трех разных возрастных групп в тесте т-лабиринта для испытания возрастных когнитивных изменений. Рабочая гипотеза заключалась в том, что активность в реверсивном обучении, критерии исполнительской функции, будет ухудшаться с увеличением возраста у кошек.

#### **Материалы и способы:**

Субъектами были 25 домашних кошек, разделенных на три группы на основе возраста. Группа взрослого возраста состояла из 10 субъектов с возрастом 3,04 – 4,17 лет, старая группа состояла из 7 кошек с возрастом 7,69 – 9,03 лет и старческая группа состояла из 8 кошек с возрастом 10,91 – 15,05. Т-лабиринт был деревянным устройством с четырьмя различными зонами; стартовый ящик, дорожка лабиринта и два целевых ящика. В начале испытания подопытному животному (субъекту) позволяли покинуть стартовую зону и войти в дорожку лабиринта, которая разветвлялась налево и направо. Подопытные животные (субъекты) делали выбор (налево или направо), после чего они входили в один из двух ящиков, расположенных в конце дорожки лабиринта.

В этом исследовании субъектов испытывали в трех фазах. Первая фаза была единственным днем, когда предпочтение субъекта определяли на основе наиболее частого вхождения в определенный целевой ящик. Во время второй фазы, фазы различения, субъекты должны были пробежать через лабиринт, и они получали вознаграждение только при выборе их предпочтительной стороны. Как только субъекты достигали критерия обучения, большего, чем 80% случаев правильного выбора, субъектов перемещали в третью фазу, реверсивную фазу. В этой фазе, вознаграждаемую сторону переключали таким образом, что правильным выбором была неpreferred для данного субъекта сторона. Затем кошек тестировали, пока они не достигали критерия обучения. Ошибки различения и реверсии анализировали с использованием ANOVA с повторяемым измерением с возрастной группой в качестве переменной между субъектами

и тест-фазой в качестве переменной в пределах субъекта.

### Результаты:

Эти результаты показаны в таблице 7.1. Представленные результаты являются количеством ошибок, совершенных животным в каждой указанной фазе (например, дискриминации (различения) (DISK), реверсии (REV) и т.д.) этого исследования. В начальном анализе были обнаружены значимые эффекты фазы и возраста. Как и ожидалось, кошки совершали больше ошибок при реверсии, чем при различении. Наблюдаемое действие возраста показало увеличенные количества всех ошибок в старых и старческих группах в сравнении с молодой группой. Кроме того, было обнаружено несущественно значимое взаимодействие между возрастной группой и тест-фазой, как показано увеличенным количеством ошибок при реверсии старых и старческих кошек в сравнении с молодыми животными. Не были обнаружены различия в ошибках различения. Фигура 33 показывает анализ Взрослых (Adult) кошек в сравнении со Старческими (Senior) кошками в отношении задания для Т-лабиринта. «Старческие кошки» на этой диаграмме включают в себя объединенные результаты для «Старых» и «Старческих» кошек в таблице 7.1.

### Обсуждение и вывод:

Это исследование продемонстрировало, что, как и в других видах, исполнительская функция нарушается при старении кошек. Кроме того, это нарушение происходит относительно рано при старении кошачьих. Это исследование подтверждает гипотезу, что кошки демонстрируют зависимое от возраста ухудшение когнитивной функции при старении и что поведенческие изменения, наблюдаемые в старых кошках, могут вызываться изменениями когнитивной функции и старением головного мозга.

Таблица 7.1

Данные ошибок для кошачьей модели возрастной когнитивной функции

Действие возраста на когнитивную функцию кошек

Study#: CCT-06-7871:Stady Update

Данные по когнитивной функции

Ошибки обучения и реверсии с использованием Т-лабиринта

Взрослые кошки	Возраст	Различие	Реверсия	RR1	RR2	RR3	RR4	RR5	RR6	Общее кол-во RR
Angel	3,04	10,00	20,00	14,00	9,00	8,00	2,00	6,00	3,00	8
Audrey	4,17	4,00	29,00	18,00	23,00	7,00	8,00	-	-	4
Cindy	3,39	18,00	8,00	11,00	6,00	7,00	6,00	-	-	4
Daffy	3,40	1,00	18,00	18,00	30,00	14,00	9,00	-	-	4
General Tao	3,82	8,00	15,00	22,50	5,00	1,00	7,00	6,00	-	5
Ginger	3,71	3,00	19,50	14,00	12,00	16,00	3,00	4,00	-	5

	KitKat	3,15	12,00	11,50	3,00	15,00	11,00	10,00	-	-	4
	Panther	3,78	4,50	14,00	24,00	18,00	7,00	4,00	-	-	4
	Patches	3,16	0,00	20,00	24,00	12,50	6,00	1,00	1,00	-	5
	Tigre	3,40	25,00	44,50	18,00	-	-	-	-	-	1
5	Среднее	3,50	8,55	22,95	16,45	14,50	8,33	5,56	4,00	3,00	4,20
	Стандартная ошибка среднего, SEM	0,11	2,52	3,75	2,05	2,71	1,53	1,07	1,08		0,42
10	<b>Старые кошки</b>	<b>Возраст</b>	<b>Различие</b>	<b>Реверсия</b>	<b>RR1</b>	<b>RR2</b>	<b>RR3</b>	<b>RR4</b>	<b>RR5</b>	<b>RR6</b>	<b>Общее кол-во RR</b>
	Alana	9,03	17,50	49,50	21,00	12,00	-	-	-	-	2
	Happy	10,91	0,00	58,00							
	MaKenzie	7,39	0,00	101,00	23,00	5,00	-	-	-	-	2
15	Molasses	8,79	3,00	71,00							
	Twinkles	7,76	6,00	46,00	35,00						
	Sienna	7,86	24,00	9,50	6,00	3,00	4,00	4,00	3,00	0,00	6
	Sierra	7,86	10,50	14,50	7,00	5,00	5,00	5,00	9,00	-	5
	Two-Face	8,72	9,00	36,00	23,00	20,00	3,00	-	-	-	3
	Среднее	8,58	8,75	48,19	19,67	9,60	4,33	4,50	6,00	0,00	3,60
20	Стандартная ошибка среднего, SEM	0,38	3,01	10,52	4,56	3,01	0,88	0,50	3,00		0,81
25	<b>Старческие кошки</b>	<b>Возраст</b>	<b>Различие</b>	<b>Реверсия</b>	<b>RR1</b>	<b>RR2</b>	<b>RR3</b>	<b>RR4</b>	<b>RR5</b>	<b>RR6</b>	<b>Общее кол-во RR</b>
	Butter	12,83	24,00	12,00							
	Catherine	12,19	9,50	44,50	24,00	28,00	-	-	-	-	2
	India	12,99	0,00	58,00							
	Jasmine	12,72	0,00	67,00	45,00						
30	Klingon	15,05	0,00								
	Safari	12,95	0,50								
	Sassy	12,08	0,00	26,00	21,00						
	Среднее	12,97	4,86	41,50	30,00	28,00					2,00
35	Стандартная ошибка среднего, SEM	0,37	3,46	10,10	7,55						

### Ссылки:

- 40 Adams B, Chan ADF, Callahan H, Siwak CT, Tapp D, Ikeda-Douglas C, Atkinson P, Head E, Cotman CW, and Milgram NW (2000a) Spatial learning and memory in the dog as a model of cognitive aging. *Behavioural Brain Res.* 108:47-56.
- 45 Adams B, Chan A, Callahan H, and Milgram NW (2000b) The canine as a model of aging and dementia: recent developments. *Prog. Neuro-psychopharmacol. Biol. Psychiatry* 5:675-692.
- 50 Chan ADF, Nippak P, Murphey H, Ikeda-Douglas C, Muggenburg B, Head E, Cotman CW, Milgram NW (2002) Visuospatial impairments in aged canines: the role of

cognitive-behavioral flexibility. *Behavioral Neurosci.* 116:443-454.

4. Cotman CW and Berchtold NC (2002) Exercise: a behavioral intervention to enhance brain health and plasticity. *Trends Neurosci.* 25:295-301.

5 5. Cummings BJ, Head E, Ruehl W, Milgram NW, and Cotman CW. (1996) The canine as an animal model of human aging and dementia. *Neurobiol. Aging* 17:259-268.

6. Dimakopoulos AC and Mayer RJ (2002) Aspects of neurodegeneration in the  
10 canine brain. *J. Nutr.* 132:1579S-82S.

7. Drzezga A, Riemenschneider M, Strassner B, Grimmer T, Peller M, Knoll A, Wagenpfeil S, Minoshima S, Schwaiger M, and Kurz A. (2005) Cerebral glucose metabolism in patients with AD and different APOE genotypes. *Neurology.* 64:102-7.  
15

8. Finch CE, and Cohen DM (1997) Aging, metabolism, and Alzheimer disease: review and hypotheses. *Exp. Neurol.* 143:82-102.

9. Hoyer S (1990) Brain glucose and energy metabolism during normal aging. *Aging (Milano)* 2:245-58.  
20

10. London ED, Ohata M, Takei H, French AW, Rapoport SI (1983): Regional cerebral metabolic rate for glucose in beagle dogs of different ages. *Neurobiol Aging* 4:121-126

11. Munch G, Schinzel R, Loske C, Wong A, Durany N, Li JJ, Vlassara H, Smith MA, Perry G, and Riederer P. (1998) Alzheimer's disease--synergistic effects of glucose deficit, oxidative stress and advanced glycation endproducts. *J. Neural. Transm.* 105:439-61.  
25

12. Petrells JR, DeCarli C, Dagli M, Grandin CB, Duyn JH, Frank JA, Hoffman EA, Theodore WH (1998) Age-related vasodilatory response to acetazolamide challenge in healthy adults: a dynamic contrast-enhanced MR study. *Am. J. Neuroradiol.* 19:39-44.  
30

13. Reger MA, Henderson ST, Hale C, Cholerton B, Baker LD, Watson GS, Hyde K, Chapman D, and Craft S. (2004) Effects of beta-hydroxybutyrate on cognition in memory-impaired adults. *Neurobiol Aging.* 25:311-4.  
35

14. Siwak CT, Tapp PD, and Milgram NW (2001) Effect of age and level of cognitive function on spontaneous and exploratory behaviors in the beagle dog. *Learning & Memory.* 8:317-25.  
40

15. Siwak CT, Tapp PD, Zicker SC, Murphey HL, Muggenburg BA, Head E, Cotman CW, and Milgram NW (2003) Locomotor activity rhythms in dogs vary with age and cognitive status. *Behavioral Neurosci.* 117:813-24.  
45

16. Small GW, Ercoli LM, Silverman DH, Huang SC, Komo S, Bookheimer SY, Lavretsky H, Miller K, Siddarth P, Rasgon NL, Mazziotta JC, Saxena S, Wu HM, Mega MS, Cummings JL, Saunders AM, Pericak-Vance MA, Roses AD, Barrio JR, and Phelps ME. (2000) Cerebral metabolic and cognitive decline in persons at genetic risk for Alzheimer's disease. *Proc.*  
50

*Natl. Acad. Sci. USA.* 97:6037-42.

17. Spilt A, Weverling-Rijnsburger AW, Middelkoop HA, van Der Flier WM, Gussekloo J, de Craen AJ, Bollen EL, Blauw GJ, van Buchem MA, Westendorp RG (2005) Late-onset dementia: structural brain damage and total cerebral blood flow. *Radiology* 236:990-995.

18. Su M-Y, Head E, Brooks WM, Wang Z, Muggenburg BA, Adam GE, Sutherland RJ, Cotman CW and Nalcioglu O. (1998) MR imaging of anatomic and vascular characteristics in a canine model of human aging. *Neurobiol. Aging* 19:479-485.

19. Swaab DF, Lucassen PJ, Salehi A, Scherder EJ, van Someren EJ, and Verwer RW. (1998) Reduced neuronal activity and reactivation in Alzheimer's disease. *Prog. Brain Res.* 117:343-77.

20. Tapp PD, Chu Y, Araujo JA, Chiou JY, Head E, Milgram NW, Su MY (2005) Effects of scopolamine challenge on regional cerebral blood volume. A pharmacological model to validate the use of contrast enhanced magnetic resonance imaging to assess cerebral blood volume in a canine model of aging. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry* 29:399-406.

21. Tapp PD, Siwak CT, Estrada J, Muggenburg BA, Head E, Cotman CW, and Milgram NW (2003) Size and reversal learning in the Beagle dog as a measure of executive function and inhibitory control in aging. *Learning and Memory* 10:64-73.

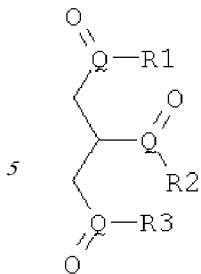
22. VanItallie TB and Nufert TH (2003) Ketones: metabolism's ugly duckling. *Nutr. Rev.* 61:327-41.

23. Wardlaw JM, Sandercock PAG, Dennis MS, Starr J (2003) Is breakdown of the blood-brain barrier responsible for Lacunar stroke, leukoaraiosis, and dementia? *Stroke* 34:806-812.

Данное изобретение не ограничивается описанными и иллюстрированными выше вариантами осуществления, но может быть варьировано и модифицировано в пределах объема прилагаемой формулы изобретения.

#### Формула изобретения

1. Композиция, содержащая триглицериды со средней длиной цепи (МСТ) в эффективном количестве для предупреждения, уменьшения или задержки ухудшения одной или нескольких когнитивных функций, двигательной активности, цереброваскулярной функции или поведения здорового стареющего млекопитающего, применяемая в дозе 1-2 г МСТ/кг массы тела/день, которая увеличивает концентрацию в кровотоке, по меньшей мере, одного кетона, где МСТ имеет формулу



10 где R1, R2 и R3 каждый независимо является эстерифицированным со скелетом глицерина жирными кислотами, имеющими 5-12 атомов углерода;

и где это стареющее животное достигло, по меньшей мере, приблизительно 50% его ожидаемой продолжительности жизни.

15 2. Композиция по п.1, в которой более чем приблизительно 95% R1, R2 и R3 имеют в длину 8 атомов углерода.

3. Композиция по п.2, в которой остальные R1, R2 и R3 являются 6-углеродными или 10-углеродными жирными кислотами.

20 4. Композиция по п.1, которая является кормовой композицией, дополнительно содержащей (в расчете на сухую массу) приблизительно 15-50% белка, 5-40% жира, золы 5-10% и влаги 5-20%.

5. Композиция по п.1, где этим млекопитающим является животное, не являющееся человеком.

6. Композиция по п.5, где животное является домашним животным.

25 7. Композиция по п.6, где домашнее животное является собакой или кошкой.

8. Композиция по п.2, где млекопитающим является человек.

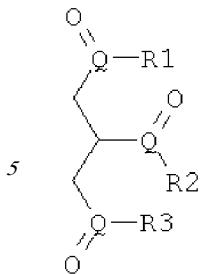
9. Композиция по п.1, где млекопитающее имеет фенотип, ассоциированный с возрастным когнитивным нарушением.

30 10. Композиция по п.9, где фенотип включает в себя один или несколько признаков: уменьшенная способность воспоминания, потеря кратковременной памяти, уменьшенный темп обучения, уменьшенная способность к обучению, уменьшенные навыки решения проблем, уменьшенный объем внимания, уменьшенная двигательная активность, увеличенное замешательство или деменции, в сравнении с контрольным млекопитающим, не имеющим этого фенотипа.

35 11. Способ предупреждения, уменьшения или задержки ухудшения, по меньшей мере, одной из когнитивных функций, двигательной активности, цереброваскулярной функции или поведения у здорового стареющего млекопитающего, предусматривающий стадии:

40 идентификация здорового стареющего млекопитающего, имеющего риск или находящегося в риске ухудшения, по меньшей мере, одной из когнитивных функций, двигательной функции, цереброваскулярной функции или поведения; и

45 введение этому млекопитающему на продолжительной регулярной основе композиции, содержащей триглицериды со средней длиной цепи (МСТ) в количестве, эффективном для предупреждения или задержки ухудшения, по меньшей мере, одной из когнитивных функций, двигательной функции, цереброваскулярной функции или поведения млекопитающего, где указанная композиция увеличивает циркулирующую концентрацию, по меньшей мере, одного кетона в этом млекопитающем, в которой  
50 МСТ имеют формулу



10 где R1, R2 и R3 являются эстерифицированными со скелетом глицерина соединениями и каждый независимо является жирной кислотой, имеющей 5-12 атомов углерода, причем указанное введение осуществляют в дозе 1 -2 г МСТ/кг массы тела/день.

12. Способ по п.11, где более чем 95% R1, R2 и R3 имеют длину в 8 атомов углерода.

13. Способ по п.12, где остальные R1, R2 и R3 являются 6-углеродными или 10-углеродными жирными кислотами.

14. Способ по п.11, дополнительно предусматривающий стадию мониторинга концентраций кетона у млекопитающего.

15. Способ по п.11, где количество каждого из  $\beta$ -гидроксибутирата, ацетоацетата и ацетона повышается в крови этого млекопитающего.

16. Способ по п.11, где эта композиция содержит МСТ в количестве, эффективном для снижения количества в крови этого млекопитающего одного или нескольких компонентов: аланина, аминокислот с разветвленной цепью, общих липопротеинов, ненасыщенных жирных кислот или VLDL.

17. Способ по п.16, где количество каждого компонента: аланина, аминокислот с разветвленной цепью, общих липопротеинов, ненасыщенных жирных кислот и VLDL снижается в крови этого млекопитающего.

18. Способ по п.11, где композиция содержит МСТ в количестве, эффективном для повышения количества в крови этого млекопитающего одного или нескольких: глутамина, фенилаланина, HDL или цитрата.

19. Способ по п.18, где количество каждого: глутамина, фенилаланина, HDL и цитрата повышается в крови этого млекопитающего.

20. Способ по п.19, где эта композиция содержит МСТ в количестве, эффективном для снижения количества одного или нескольких компонентов: аланина, аминокислот с разветвленной цепью, общих липопротеинов, ненасыщенных жирных кислот или VLDL.

21. Способ по п.11, где композиция содержит МСТ в количестве, эффективном для улучшения кровотока в головном мозге.

22. Способ по п.11, где композиция содержит МСТ в количестве, эффективном для улучшения целостности гематоэнцефалического барьера.

23. Способ по п.11, где композиция является кормом для домашних животных, биологически активной добавкой к пище или пищевым продуктом, приготовленным для человека.

24. Способ по п.11, где млекопитающим является домашнее животное.

25. Способ по п.24, где домашним животным является кошка или собака.

26. Способ по п.11, где стадия введения является стадией на регулярной основе, предусматривающей введение, по меньшей мере, один раз в день.

27. Способ по п.26, где композицию вводят в виде части суточного рациона в

течение, по меньшей мере, приблизительно одной недели.

28. Способ по п.27, где композицию вводят в виде части суточного рациона в течение, по меньшей мере, приблизительно трех месяцев.

29. Способ по п.11, где композиция содержит МСТ в количестве, эффективном для снижения мочевины в крови или уменьшения деградации белка.

30. Способ по п.11, где композиция содержит МСТ в количестве, эффективном для снижения количества или активности аланинаминотрансферазы.

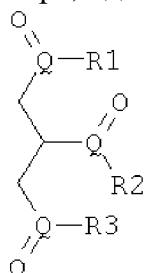
31. Способ по п.11, где композиция содержит МСТ в количестве, эффективном для улучшения социального поведения домашнего животного.

32. Способ предупреждения, уменьшения или задержки ухудшения, по меньшей мере, одной из когнитивных функций, двигательной функции, цереброваскулярной функции или поведения в здоровом стареющем млекопитающем, предусматривающий стадии:

(а) идентификация здорового стареющего млекопитающего, не имеющего возрастного когнитивного хронического прогрессирующего заболевания; и

(b) введение млекопитающему, на продолжительной регулярной основе, композиции, содержащей триглицериды со средней длиной цепи (МСТ) в количестве, эффективном для предупреждения, уменьшения или задержки ухудшения, по меньшей мере, одной из когнитивных функций, двигательной функции, цереброваскулярной функции или поведения этого млекопитающего, причем указанное введение осуществляют в дозе 1-2 г МСТ/кг массы тела/день;

где указанная композиция повышает концентрацию в кровотоке, по меньшей мере, одного кетона у этого млекопитающего и где МСТ имеет формулу



где R1, R2 и R3 - эстерифицированные соединения со скелетом глицерина, каждый независимо является жирной кислотой, имеющей 5-12 атомов углерода;

(с) измерение концентрации, по меньшей мере, одного кетона и, по меньшей мере, одной из когнитивных функций, двигательной функции, цереброваскулярной функции или поведения этого млекопитающего, по меньшей мере, периодически в течение продолжительности стадии введения.

33. Способ по п.32, где более чем 95% R1, R2 и R3 имеют в длину 8 атомов углерода.

34. Способ по п.33, где остальные R1, R2 и R3 являются 6-углеродными или 10-углеродными жирными кислотами.

35. Способ по п.32, где количество каждого из  $\beta$ -гидроксibuтирата, ацетоацетата и ацетона повышается в крови этого млекопитающего.

36. Способ по п.32, где композиция содержит МСТ в количестве, эффективном для снижения количества в крови млекопитающего одного или нескольких компонентов: аланина, аминокислот с разветвленной цепью, общих липопротеинов, ненасыщенных жирных кислот или VLDL.

37. Способ по п.36, где количество каждого компонента: аланина, аминокислот с

разветвленной цепью, общих липопротеинов, ненасыщенных жирных кислот и VLDL снижается.

38. Способ по п.32, где композиция содержит МТС в количестве, эффективном для повышения количества в крови млекопитающего одного или нескольких: глутамина, фенилаланина, HDL или цитрата.

39. Способ по п.38, где количество каждого из глутамина, фенилаланина, HDL или цитрата повышается.

40. Способ по п.39, где композиция содержит МСТ в количестве, эффективном для снижения количества каждого компонента из аланина, аминокислот с разветвленной цепью, общих липопротеинов, ненасыщенных жирных кислот и VLDL.

41. Способ по п.32, где композиция содержит МСТ в количестве, эффективном для улучшения кровотока в головном мозге продолжительное время или относительно контрольного животного.

42. Способ по п.32, где композиция содержит МСТ в количестве, эффективном для улучшения целостности гематоэнцефалического барьера продолжительное время или относительно контрольного животного.

43. Способ по п.32, где композиция является кормом для домашних животных, биологически активной добавкой к пище или пищевым продуктом, приготовленным для человека.

44. Способ по п.32, где этим млекопитающим является домашнее животное.

45. Способ по п.44, где домашним животным является кошка или собака.

46. Способ по п.32, где стадия введения является стадией на регулярной основе, предусматривающей введение, по меньшей мере, один раз в день.

47. Способ по п.46, где композицию вводят в виде части суточного рациона в течение, по меньшей мере, приблизительно одной недели - одного года.

48. Способ по п.32, где композиция содержит МСТ в количестве, эффективном для снижения мочевины в крови или уменьшения деградации белка.

49. Способ по п.32, где композиция содержит МСТ в количестве, эффективном для снижения количества или активности аланинаминотрансферазы.

50. Способ по п.32, где композиция содержит МСТ в количестве, эффективном для улучшения социального поведения домашнего животного.

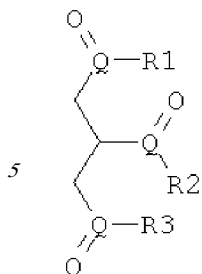
51. Способ предупреждения, уменьшения или задержки ухудшения, по меньшей мере, одной из когнитивных функций, двигательной функции, цереброваскулярной функции или поведения в популяции здоровых стареющих млекопитающих, предусматривающий стадии:

(a) идентификация популяции здоровых стареющих млекопитающих, не имеющих возрастного когнитивного нарушения;

(b) разделение этой популяции, по меньшей мере, на контрольную группу и одну или несколько тест-групп;

(c) приготовление, по меньшей мере, одной системы доставки на основе рациона для доставки композиции, содержащей триглицериды со средней длиной цепи (МСТ) в количестве, эффективном для повышения и поддержания повышенного уровня кетонов в крови индивидуального млекопитающего, и вводимой в дозе 1-2 г МСТ/кг массы тела/день;

где эти МТС имеют формулу



10 где R1, R2 и R3 - эстерифицированные соединения со скелетом глицерина, каждый независимо является жирной кислотой, имеющей 5-12 атомов углерода;

где на продолжительной регулярной основе каждая тест-группа получает готовую форму, доставляющую композицию, содержащую МСТ, а контрольная группа не получает никакой композиции, содержащей МСТ.

15 52. Способ по п.51, где продолжительная регулярная основа предусматривает введение, по меньшей мере, один раз в день в течение периода, по меньшей мере, приблизительно одной недели - одного года.

20 53. Способ по п.51, дополнительно предусматривающий стадию мониторинга концентраций кетонов у каждого млекопитающего в контрольной группе и тест-группах.

54. Способ по п.51, где количество каждого из  $\beta$ -гидроксibuтирата, ацетоацетата и ацетона повышается.

25 55. Способ по п.51, где композиция содержит МСТ в количестве, эффективном для снижения уровня в крови каждого компонента из аланина, аминокислот с разветвленной цепью, общих липопротеинов, ненасыщенных жирных кислот и VLDL.

30 56. Способ по п.55, где уровень каждого компонента: аланина, аминокислот с разветвленной цепью, общих липопротеинов, ненасыщенных жирных кислот и VLDL снижается.

57. Способ по п.51, где композиция содержит МТС в количестве, эффективном для повышения уровня в крови одного или нескольких: глутамина, фенилаланина, HDL или цитрата.

35 58. Способ по п.57, где уровень каждого из глутамина, фенилаланина, HDL или цитрата повышается.

59. Способ по п.58, где эта композиция содержит МСТ в количестве, эффективном для снижения уровня каждого из аланина, аминокислот с разветвленной цепью, общих липопротеинов, ненасыщенных жирных кислот и VLDL.

40 60. Способ по п.51, где эта композиция содержит МСТ в количестве, эффективном для улучшения кровотока в головном мозге.

61. Способ по п.51, где композиция содержит МСТ в количестве, эффективном для улучшения целостности гематоэнцефалического барьера.

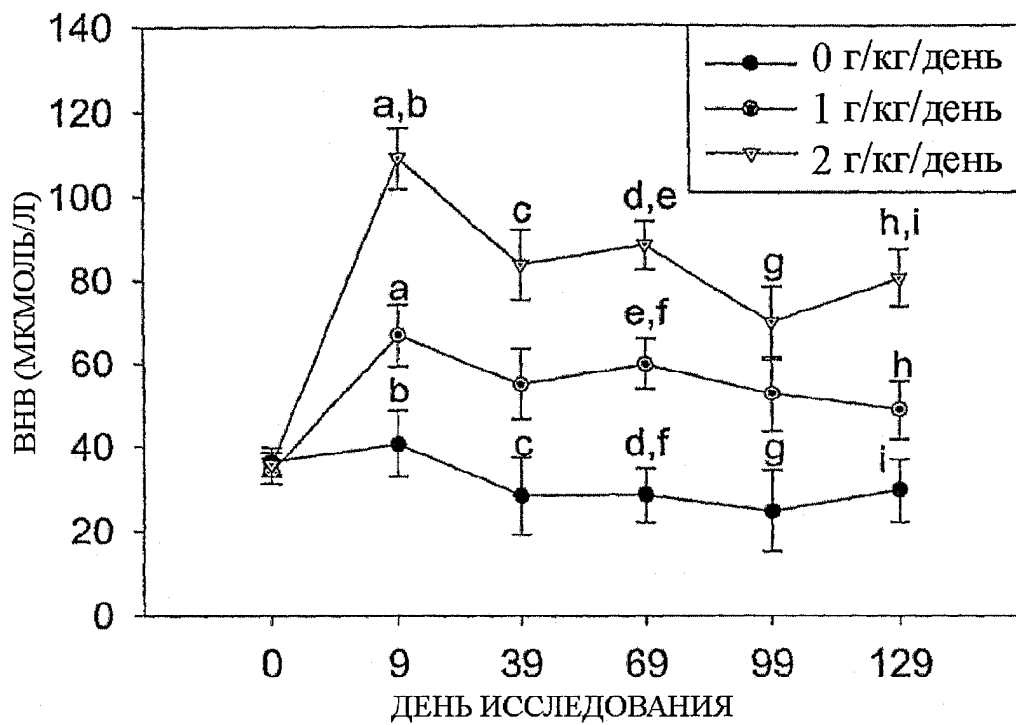
62. Способ по п.51, где млекопитающим является домашнее животное.

45 63. Способ по п.62, где домашним животным является кошка или собака.

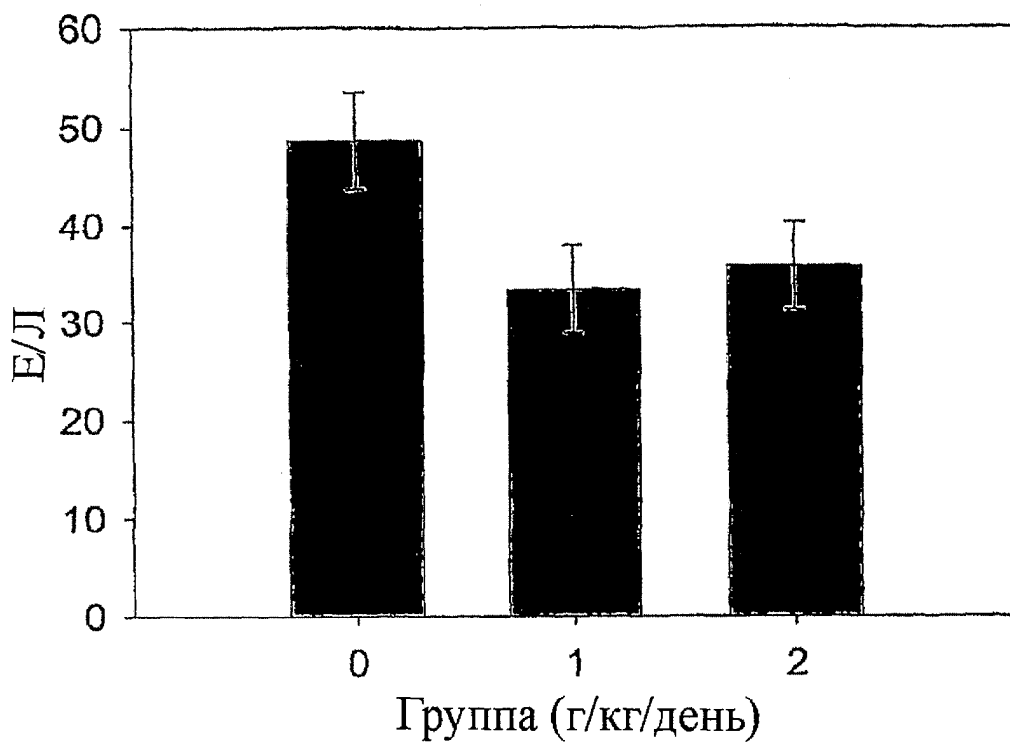
64. Способ по п.51, где композиция содержит МСТ в количестве, эффективном для снижения мочевины в крови или уменьшения деградации белка,

50 65. Способ по п.51, где композиция содержит МСТ в количестве, эффективном для снижения количества или активности аланинаминотрансферазы.

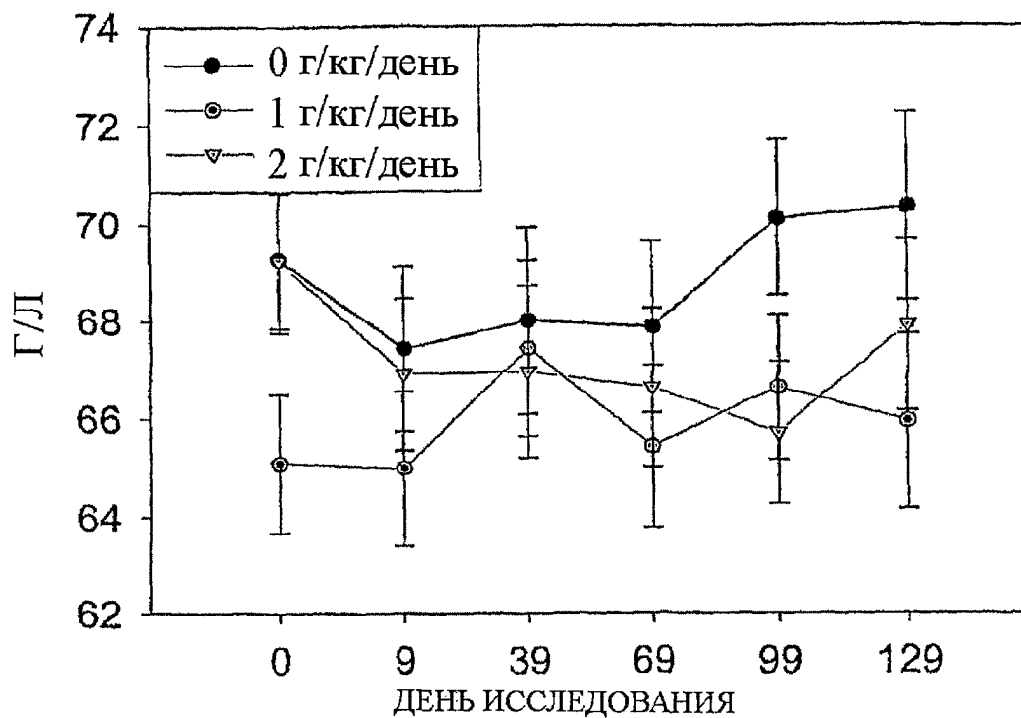
66. Способ по п.51, где композиция содержит МСТ в количестве, эффективном для улучшения социального поведения домашнего животного.



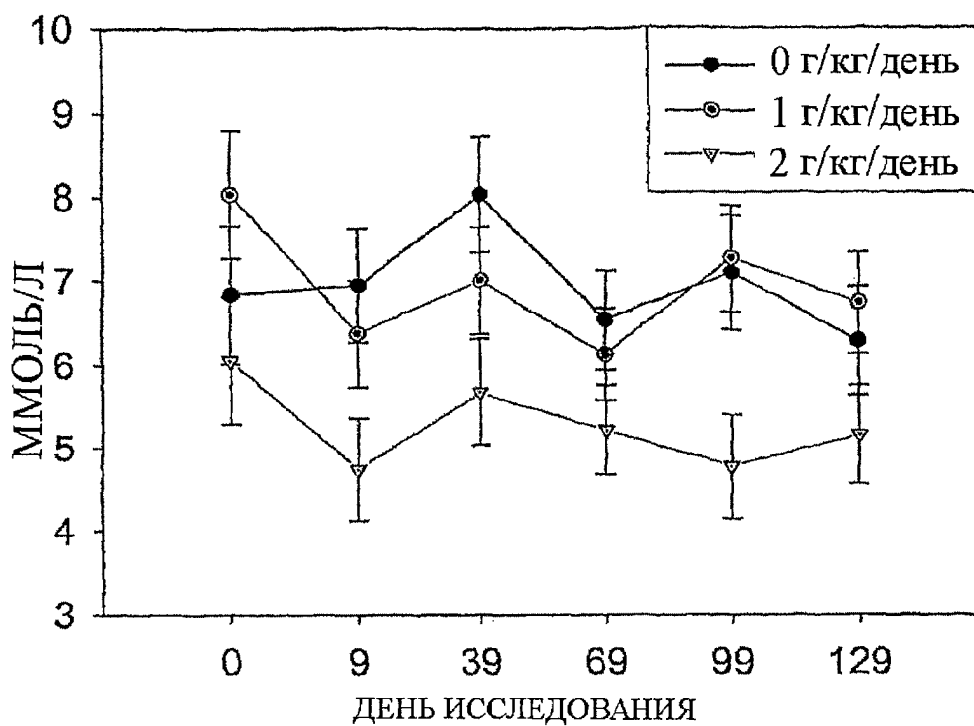
ФИГ. 1



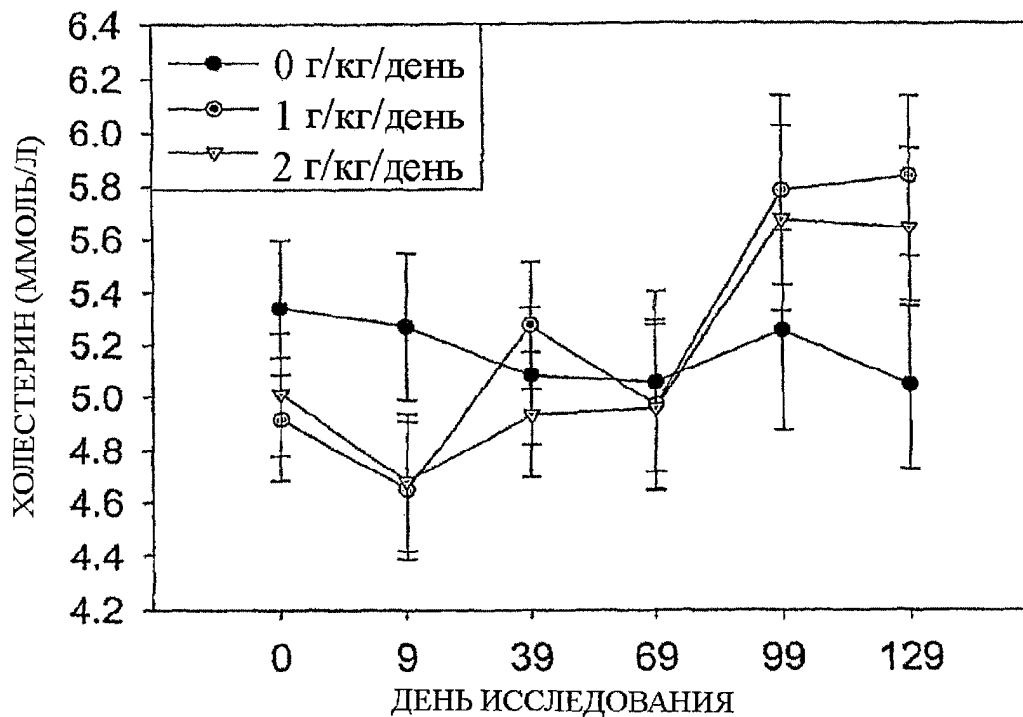
ФИГ. 2



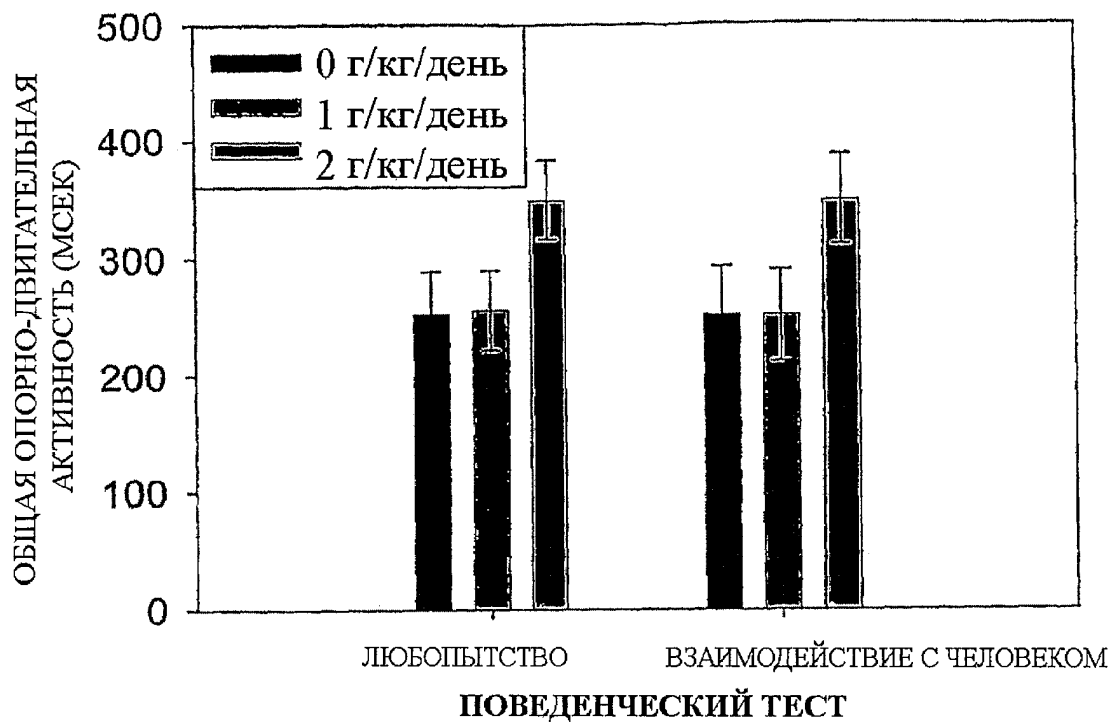
Фиг. 3



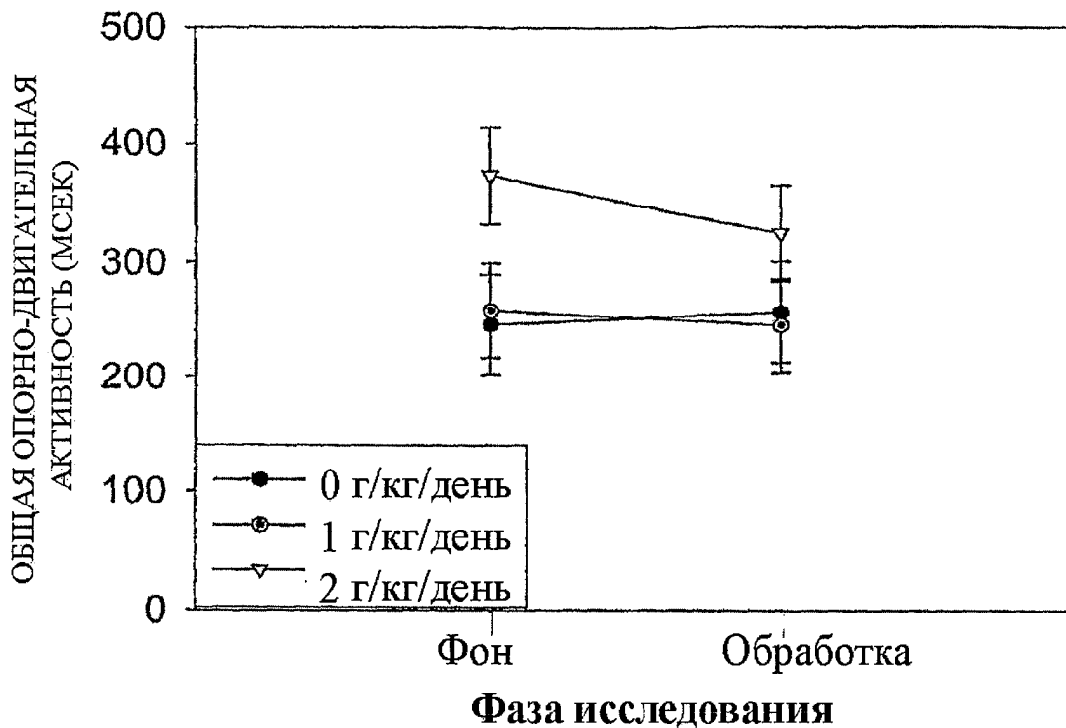
Фиг. 4



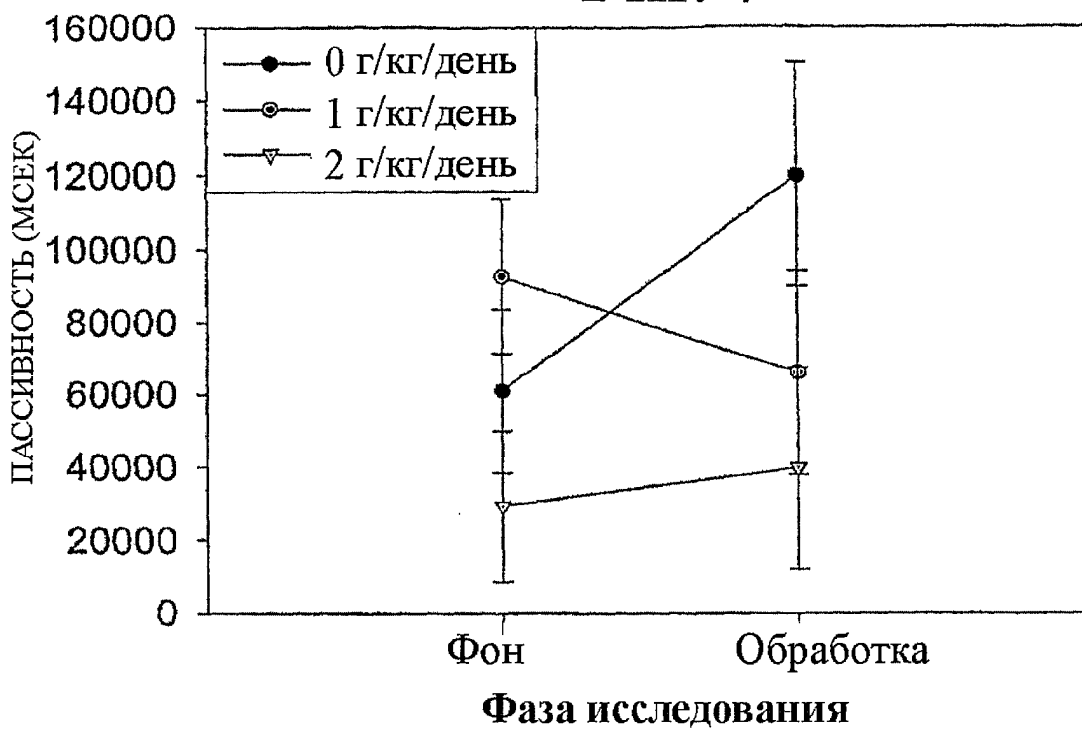
Фиг. 5



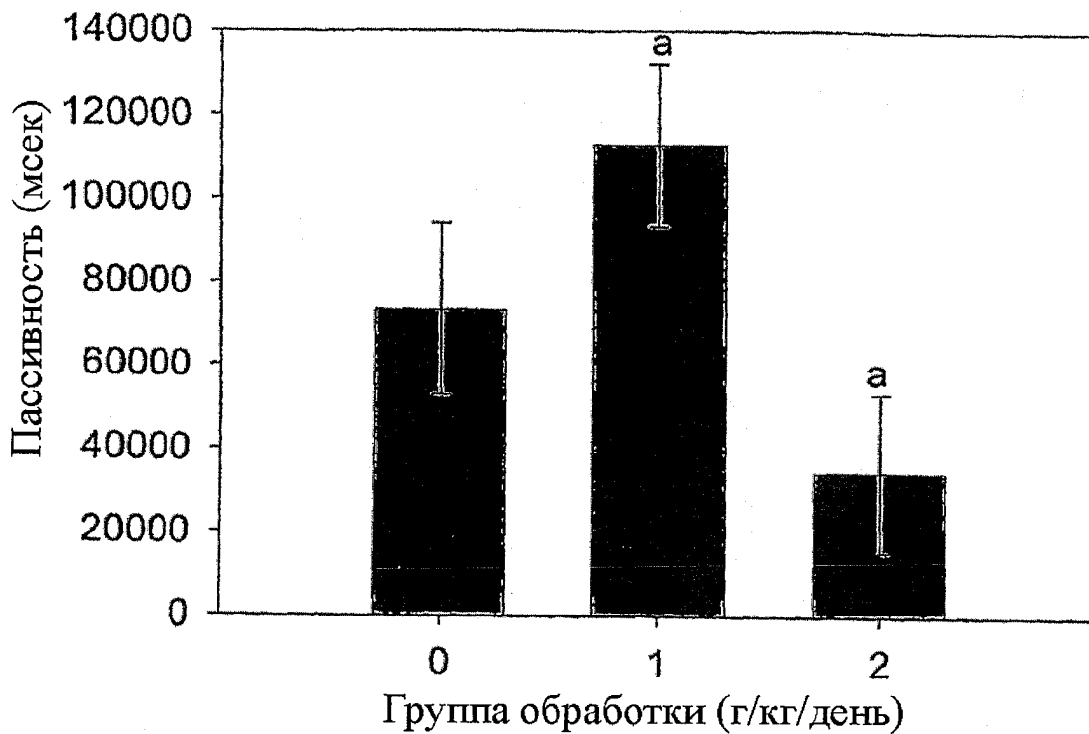
Фиг. 6



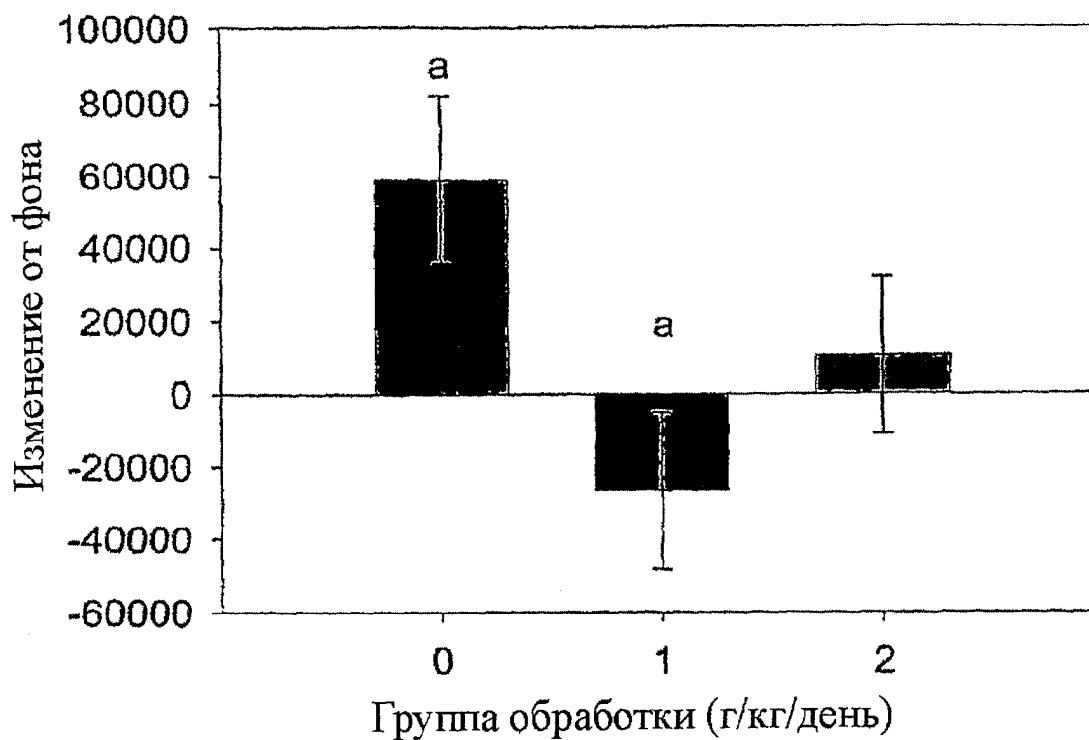
ФИГ. 7



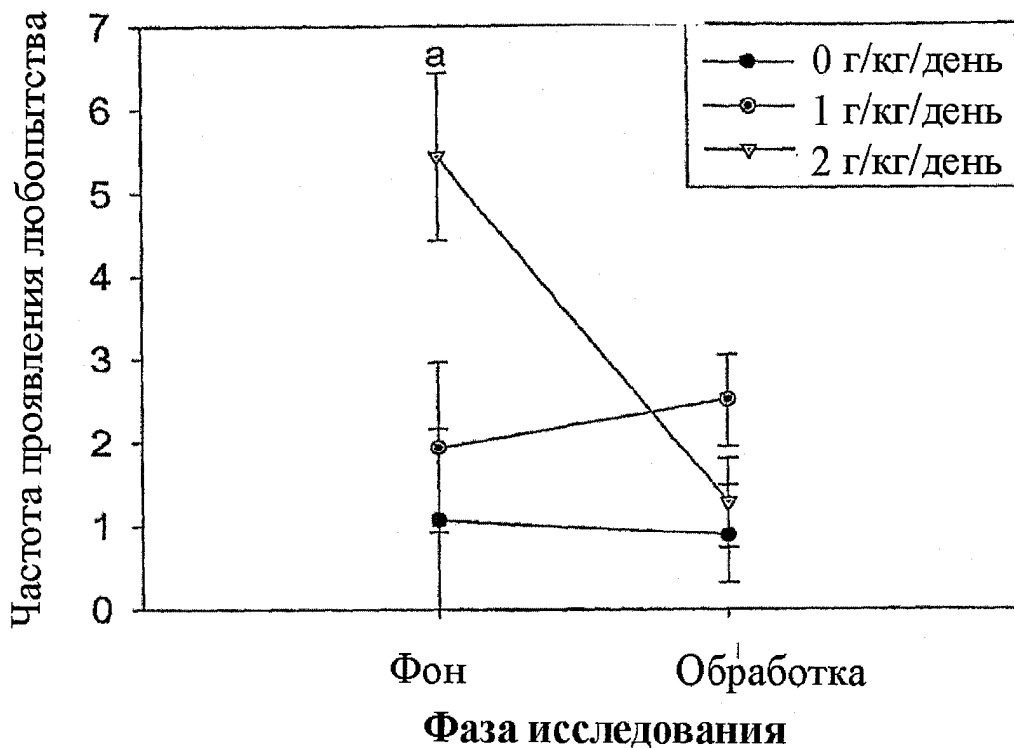
ФИГ. 8



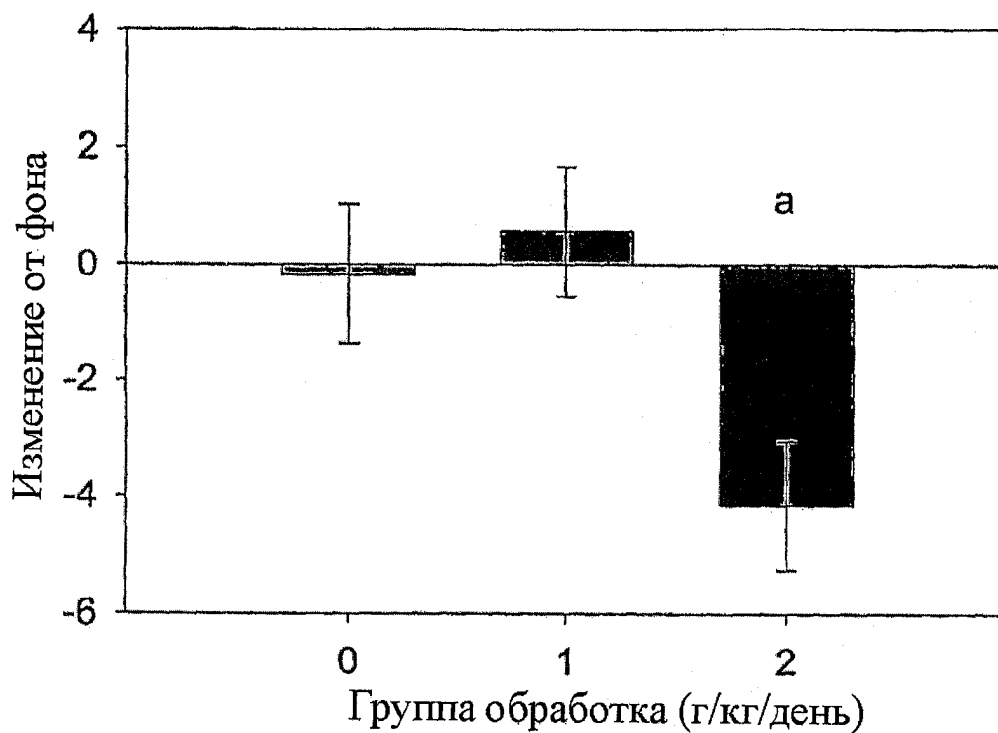
ФИГ. 9



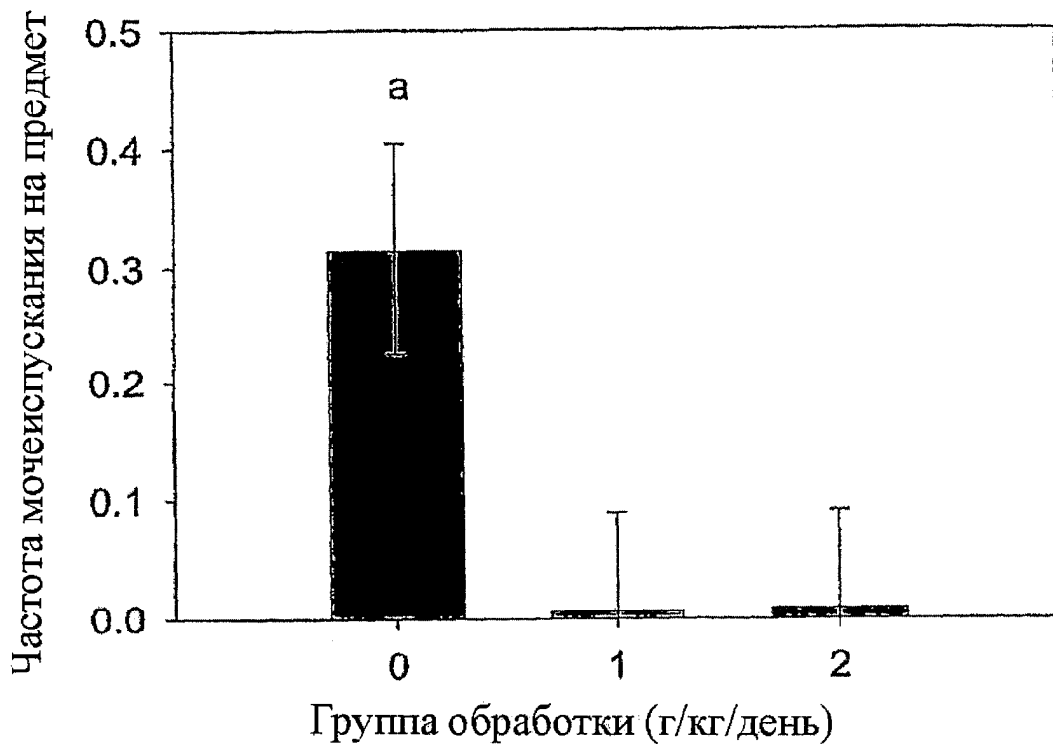
ФИГ. 10



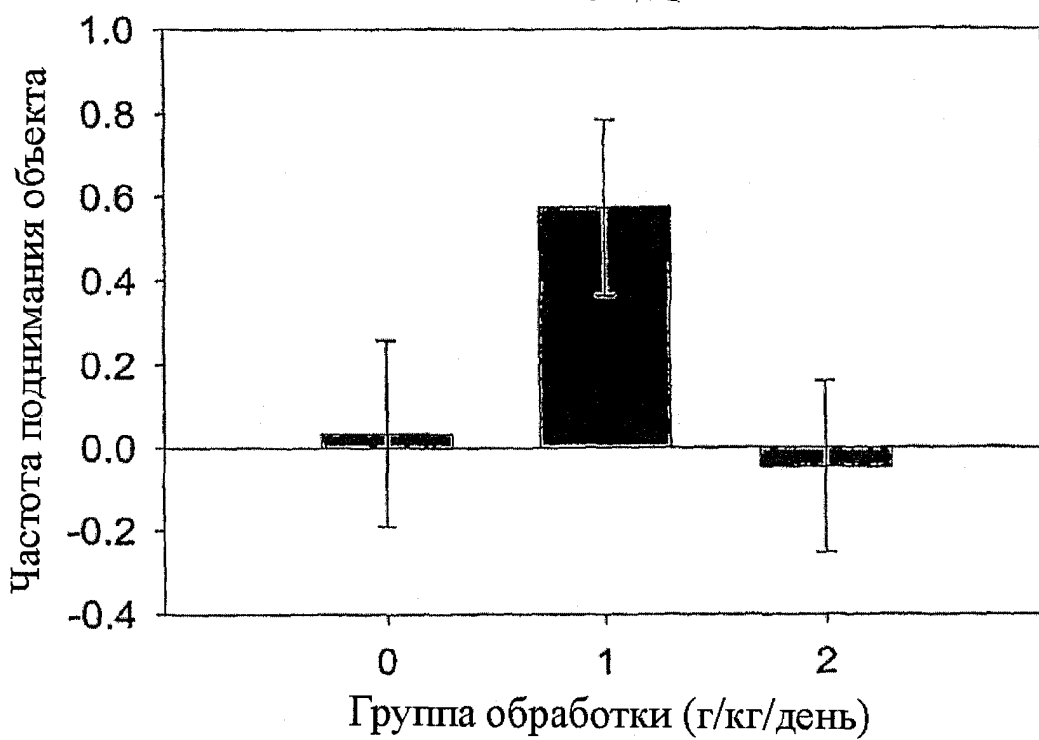
ФИГ. 11



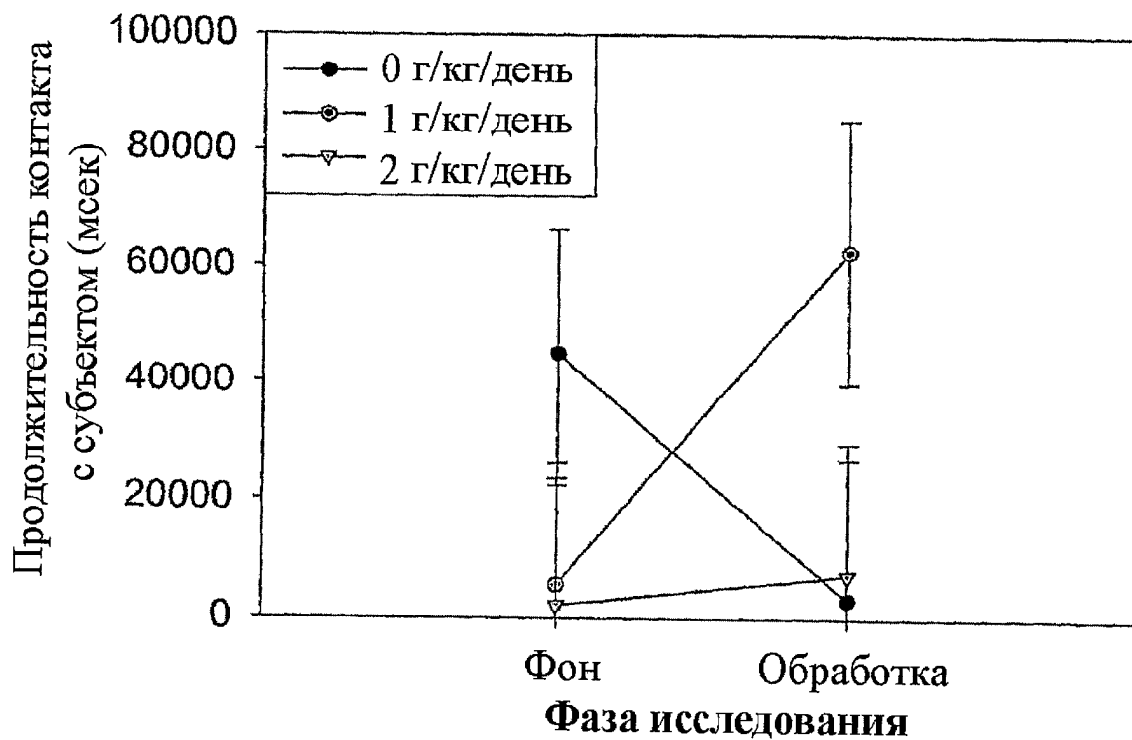
ФИГ. 12



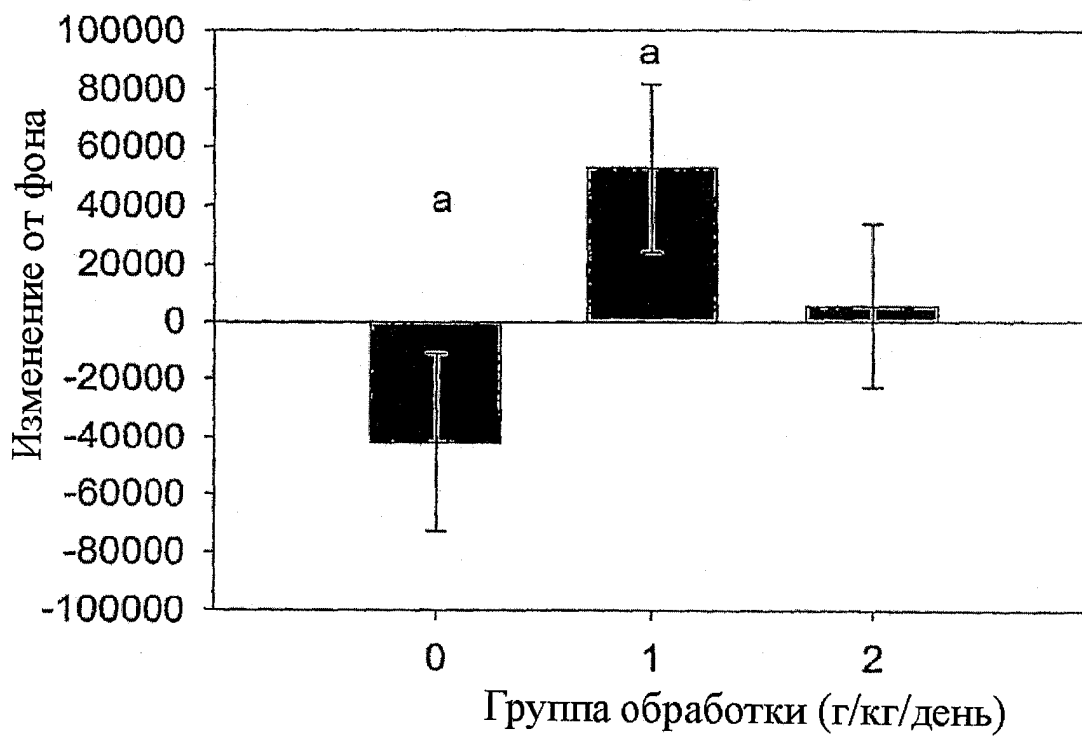
ФИГ. 13



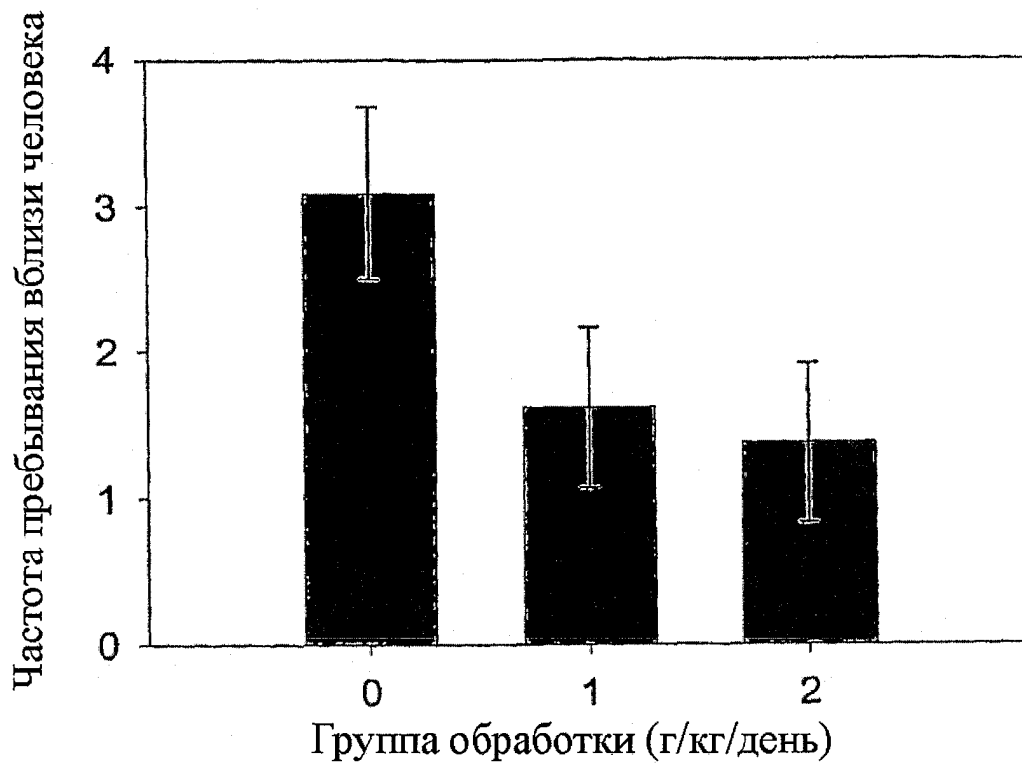
ФИГ. 14



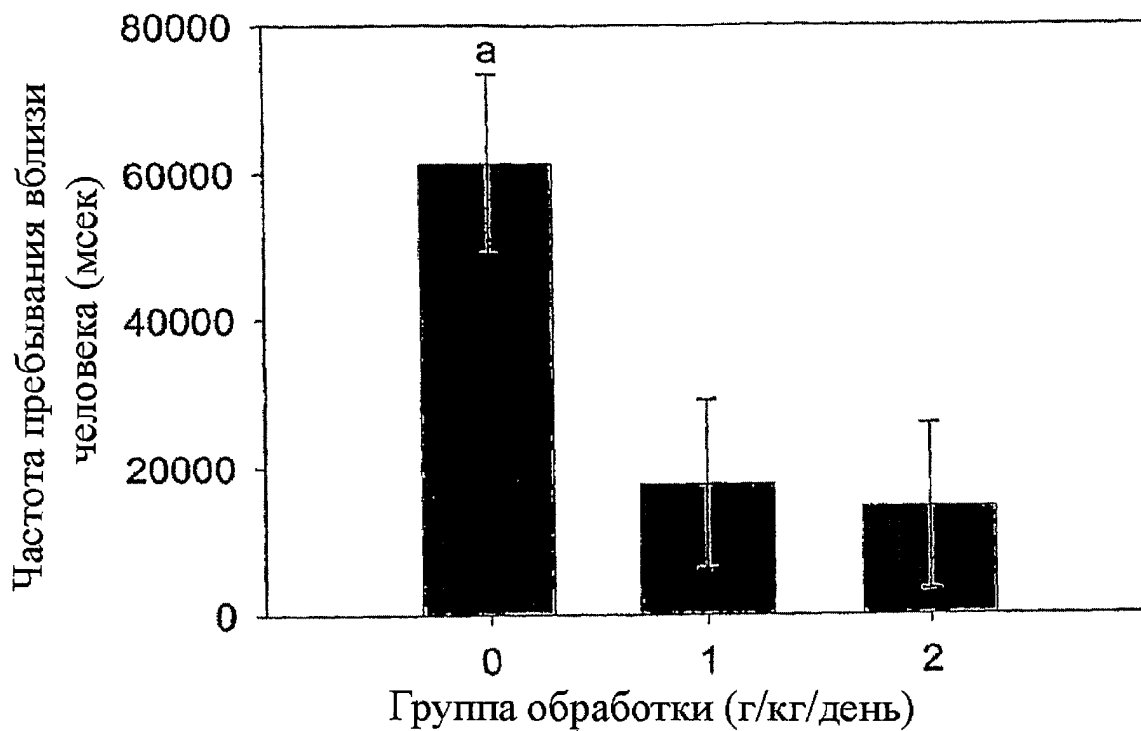
ФИГ. 15



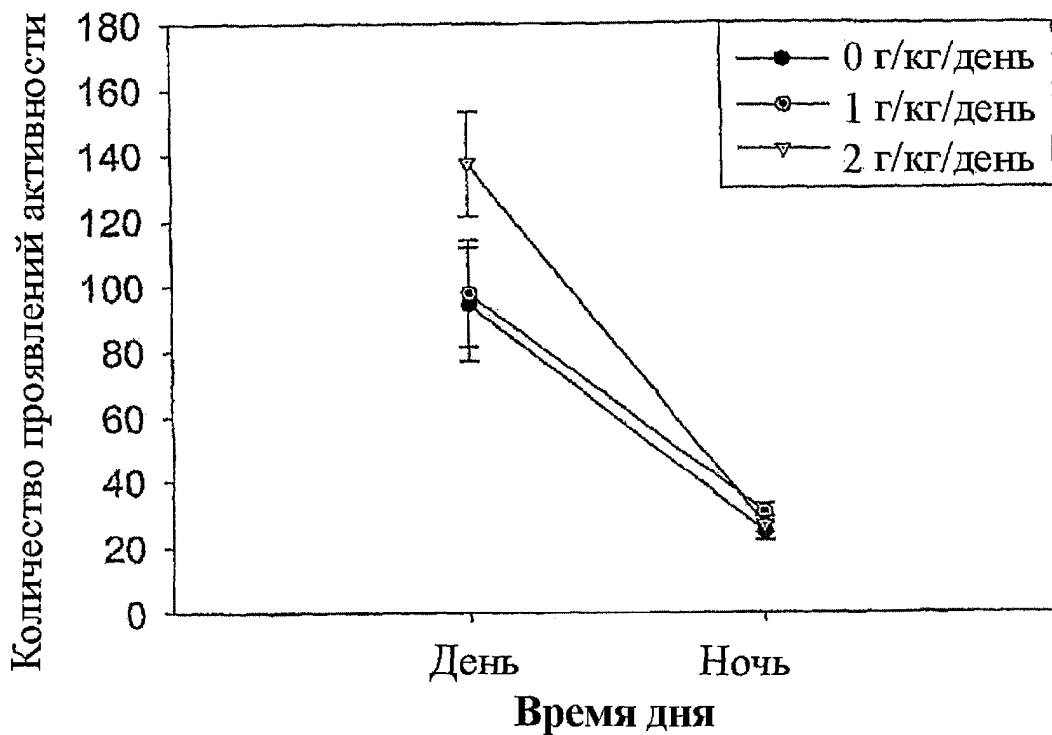
ФИГ. 16



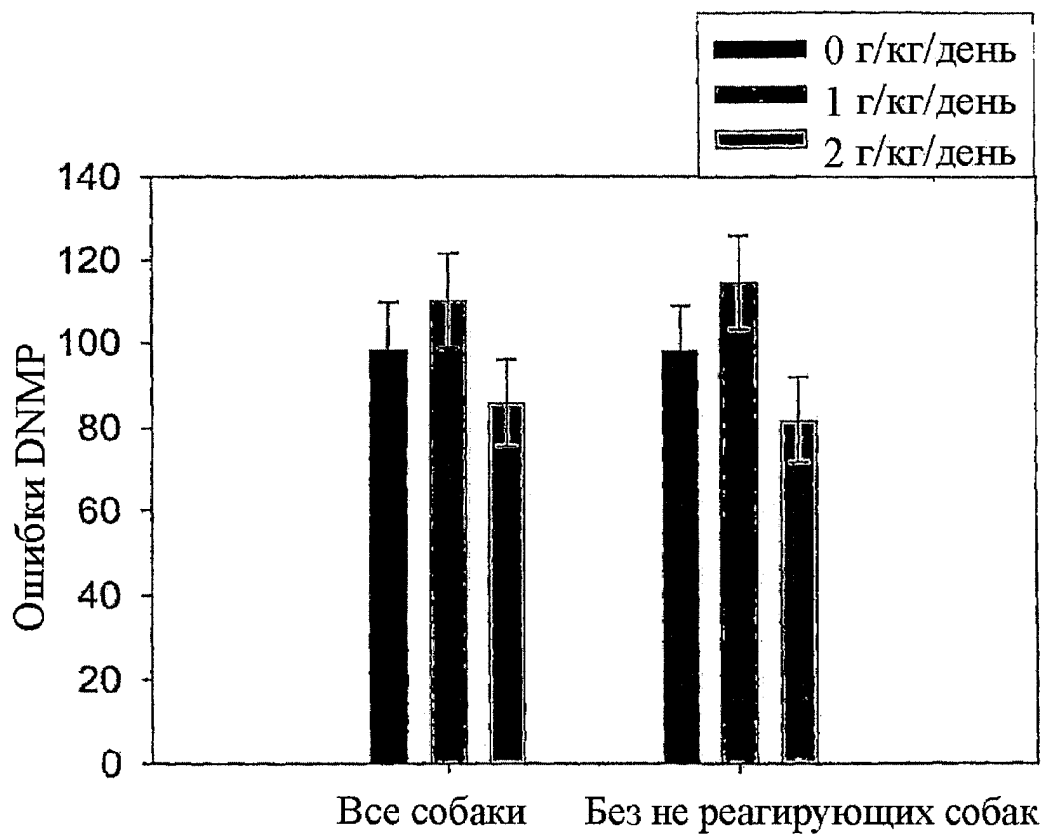
ФИГ. 17



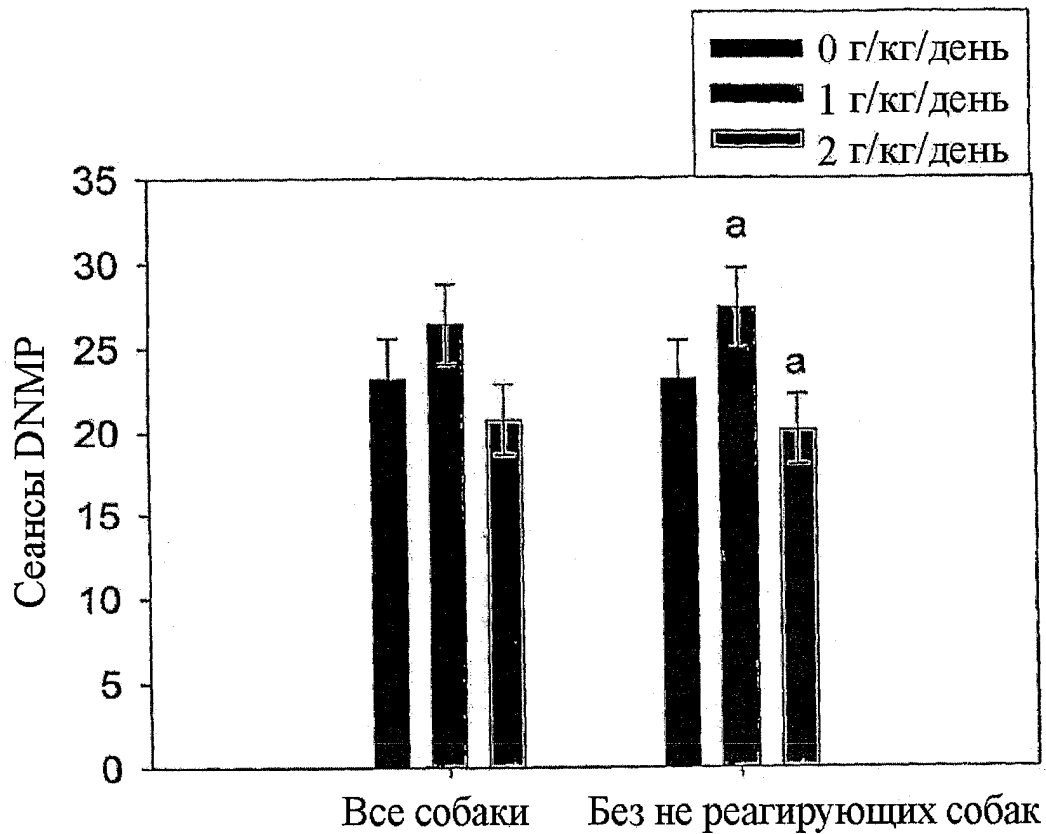
ФИГ. 18



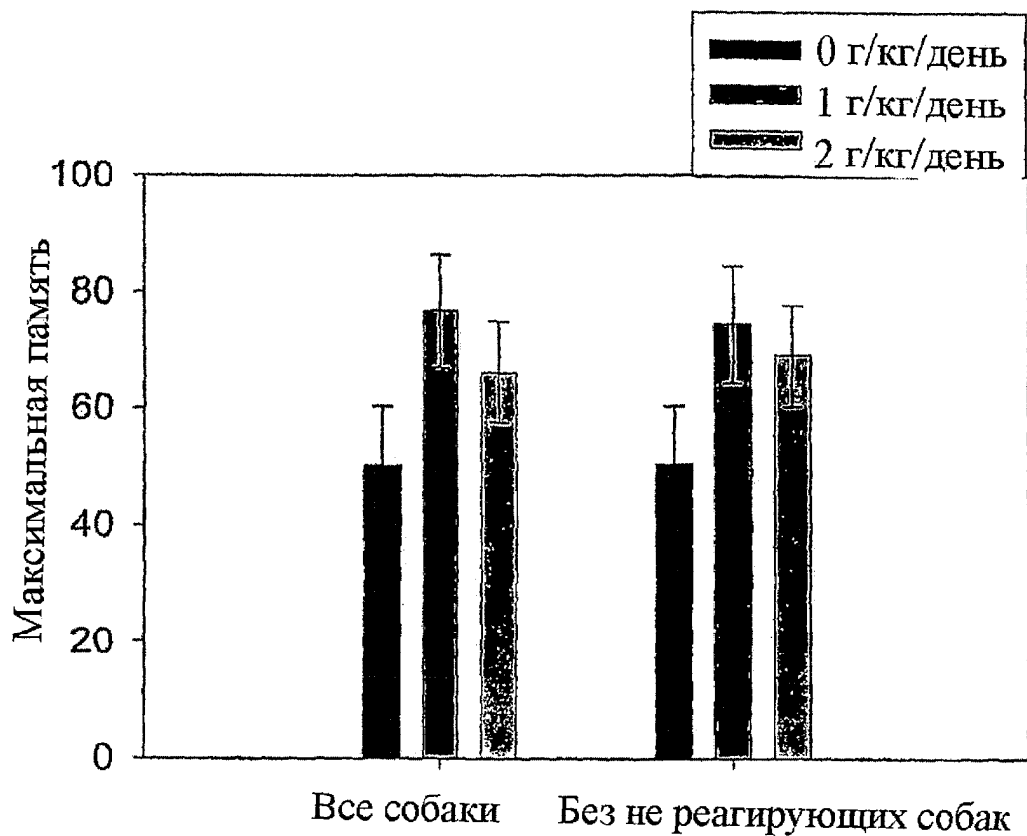
Фиг. 19



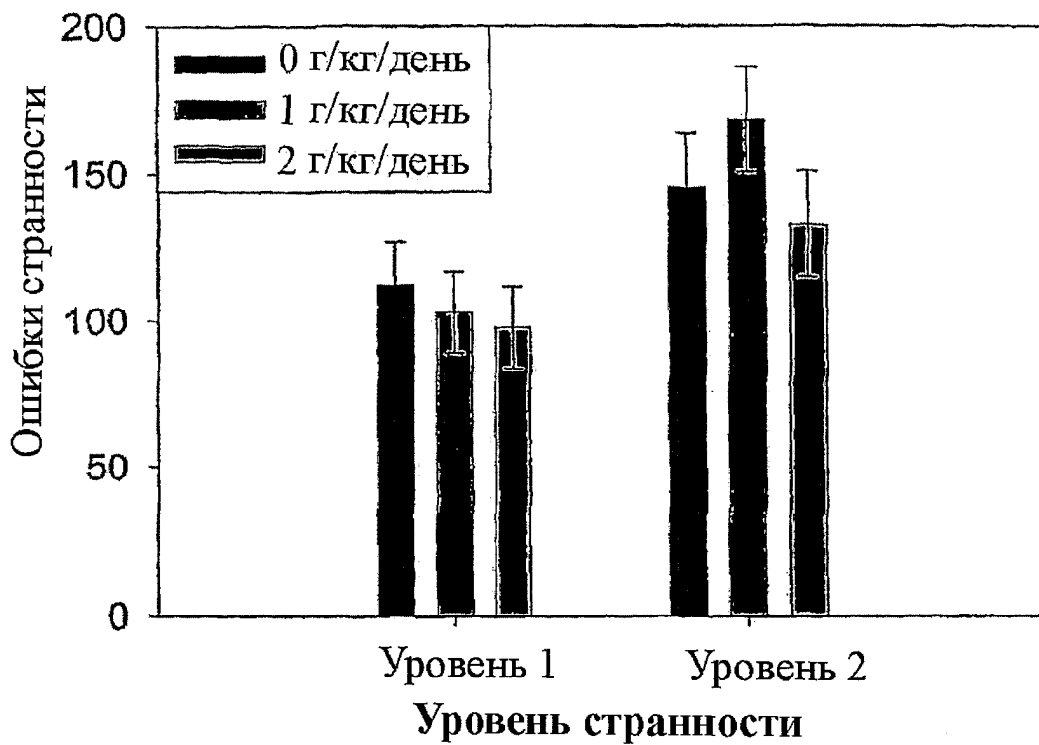
Фиг. 20



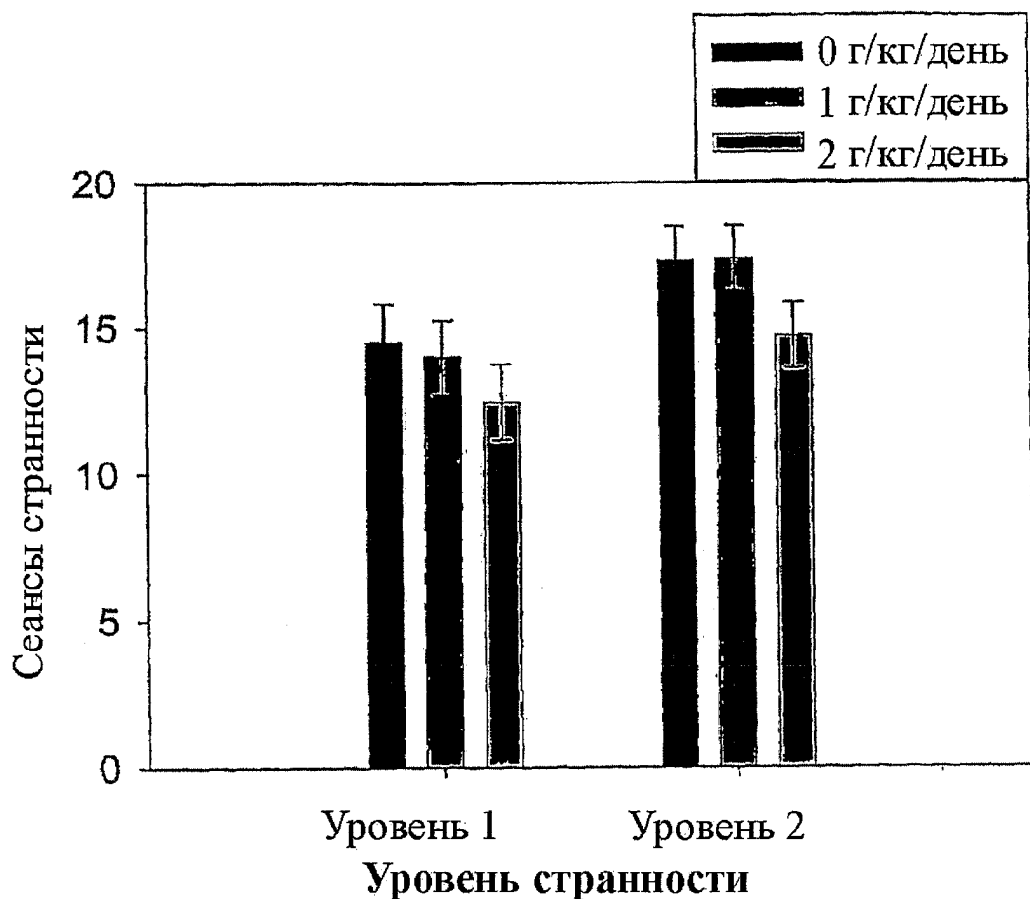
Фиг. 21



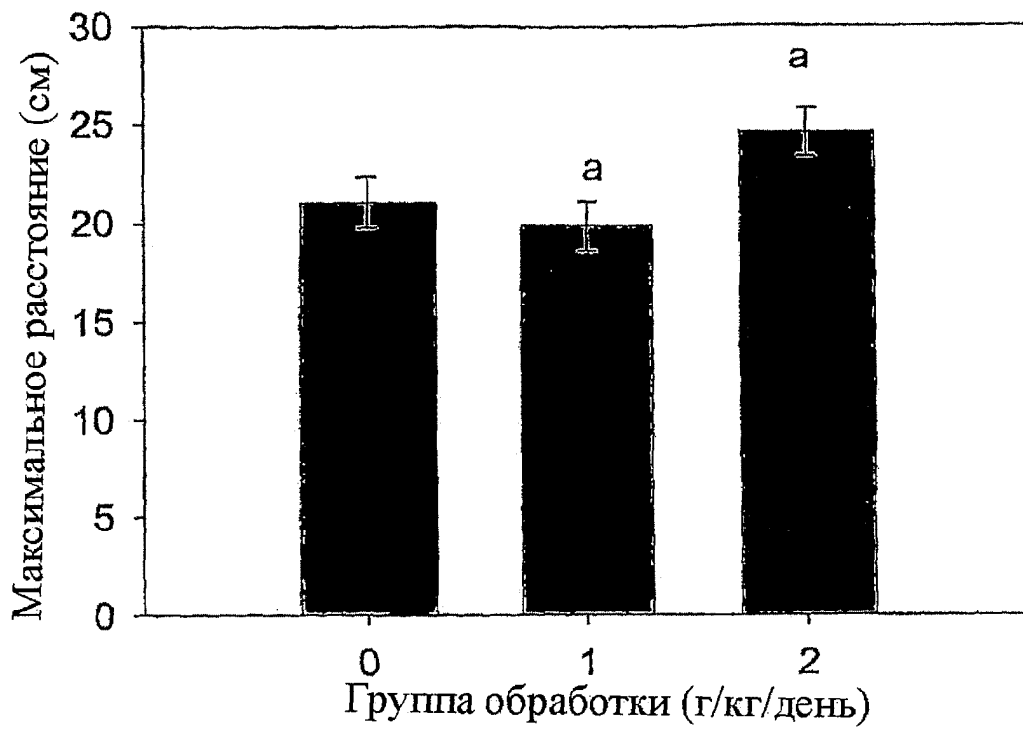
Фиг. 22



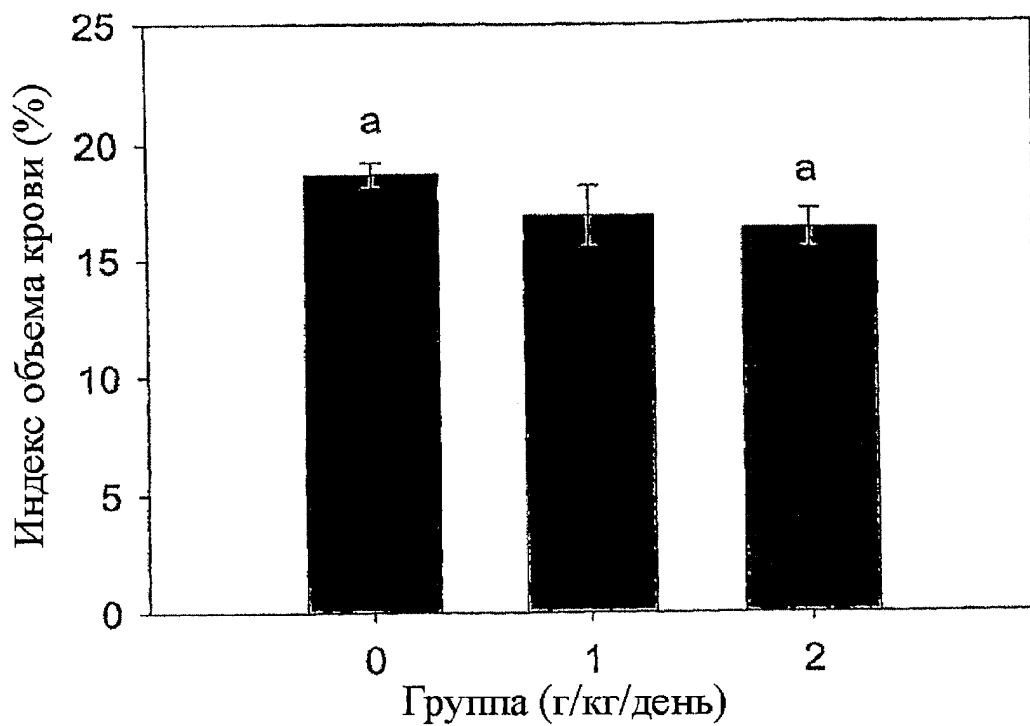
ФИГ. 23



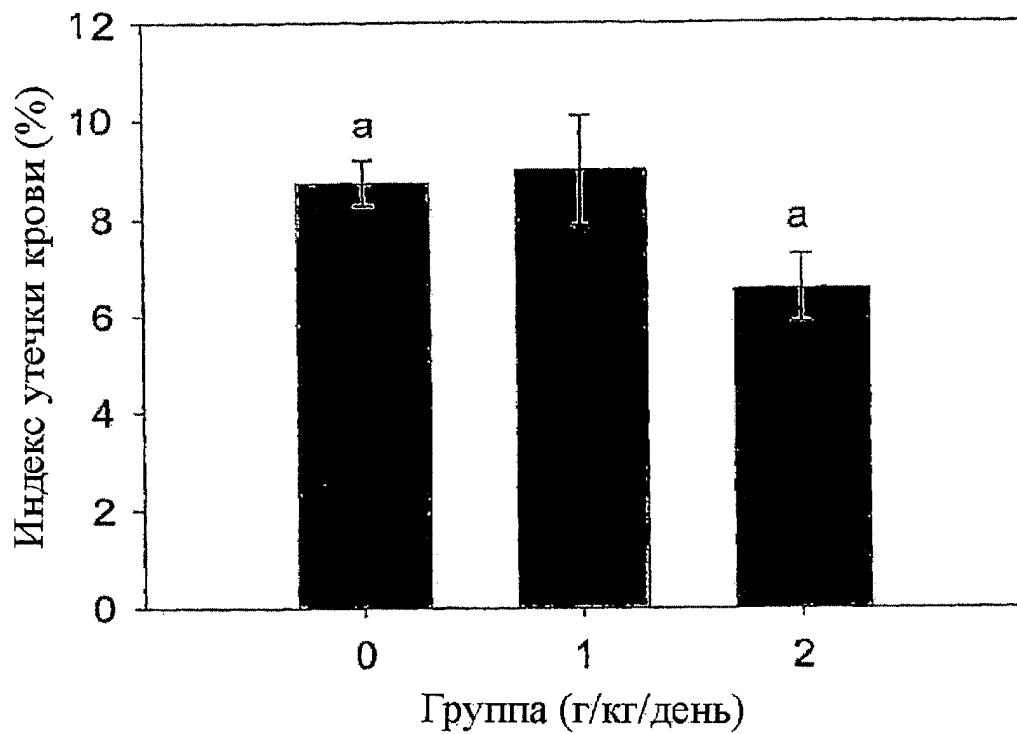
ФИГ. 24



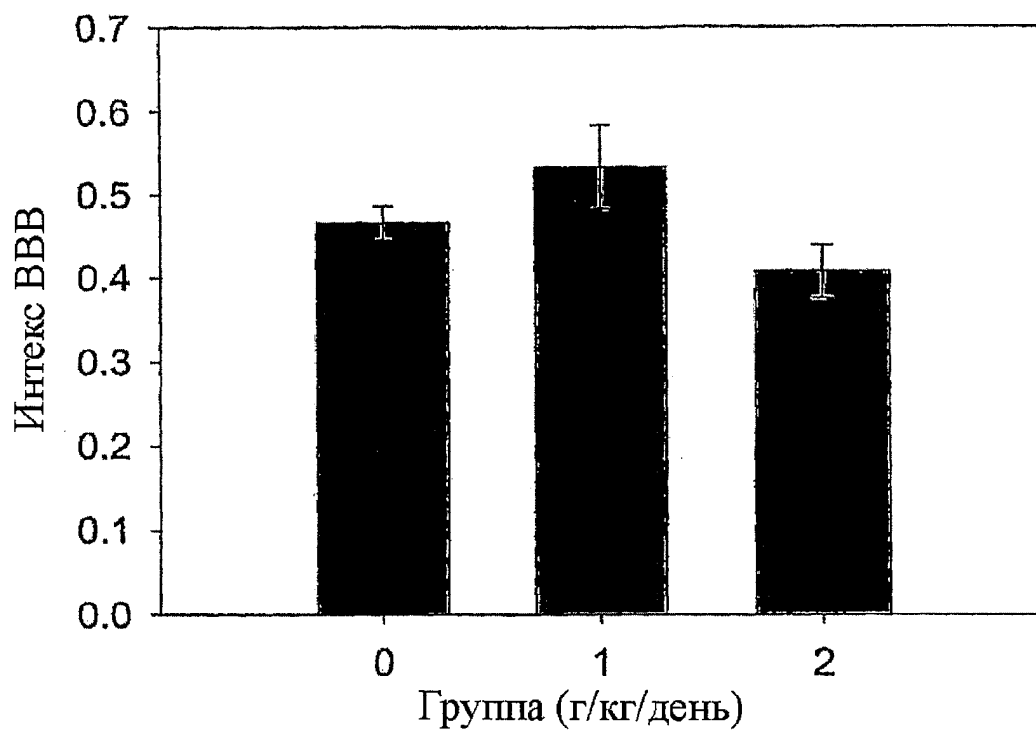
ФИГ. 25



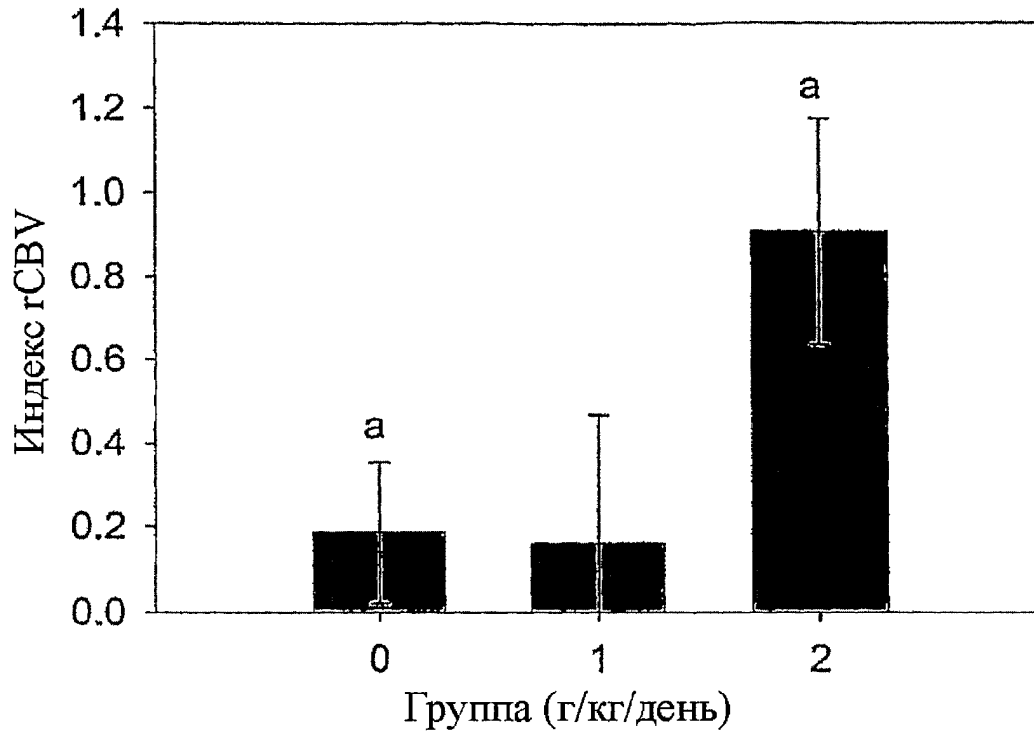
ФИГ. 26



ФИГ. 27



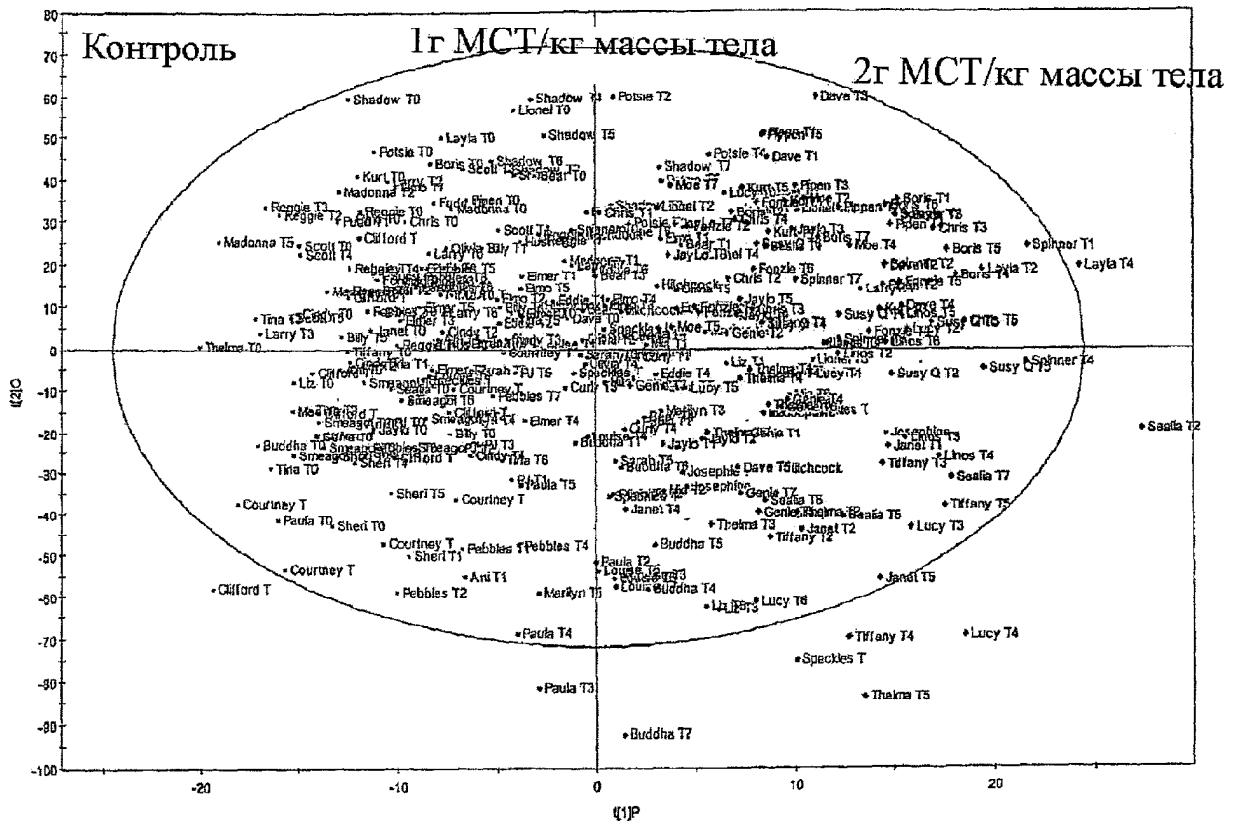
ФИГ. 28



Фиг. 29

metdefacpmgprocess\_new\_n.M7 (OPLS), OPLS UV class 1-2-3  
 (Comp. 1)/(Comp. 2)  
 Colored according to classes in M7

Class 1  
 Class 2  
 Class 3



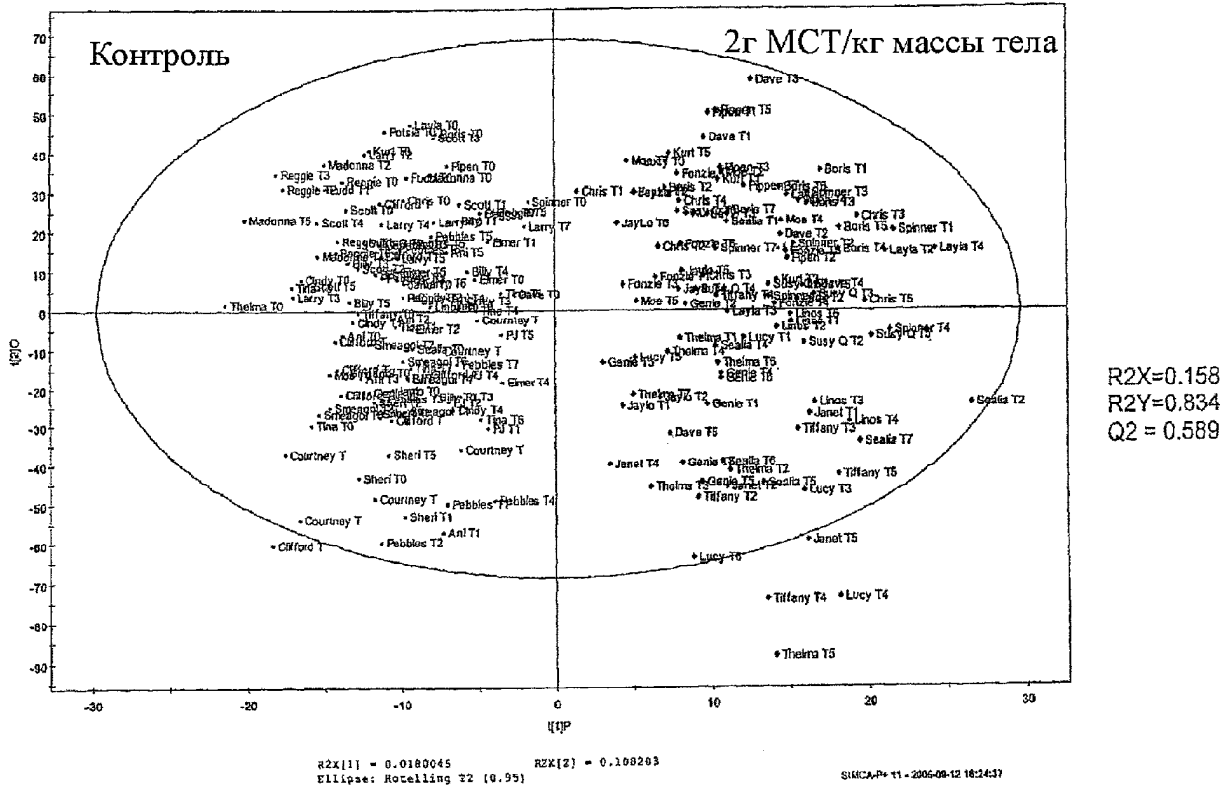
R2K[1] = 0.0129747 R2K[2] = 0.113755  
 Ellipse: Hotelling T2 (0.95)

SIMCA-P+ 11 - 2008-09-16 15:31:41

Фиг. 30

mc\data\prgm\process\_new\_n.M8 (OPLS), OPLS UV class 1-3  
 [Comp. 1]/[Comp. 2]  
 Colored according to classes in M8

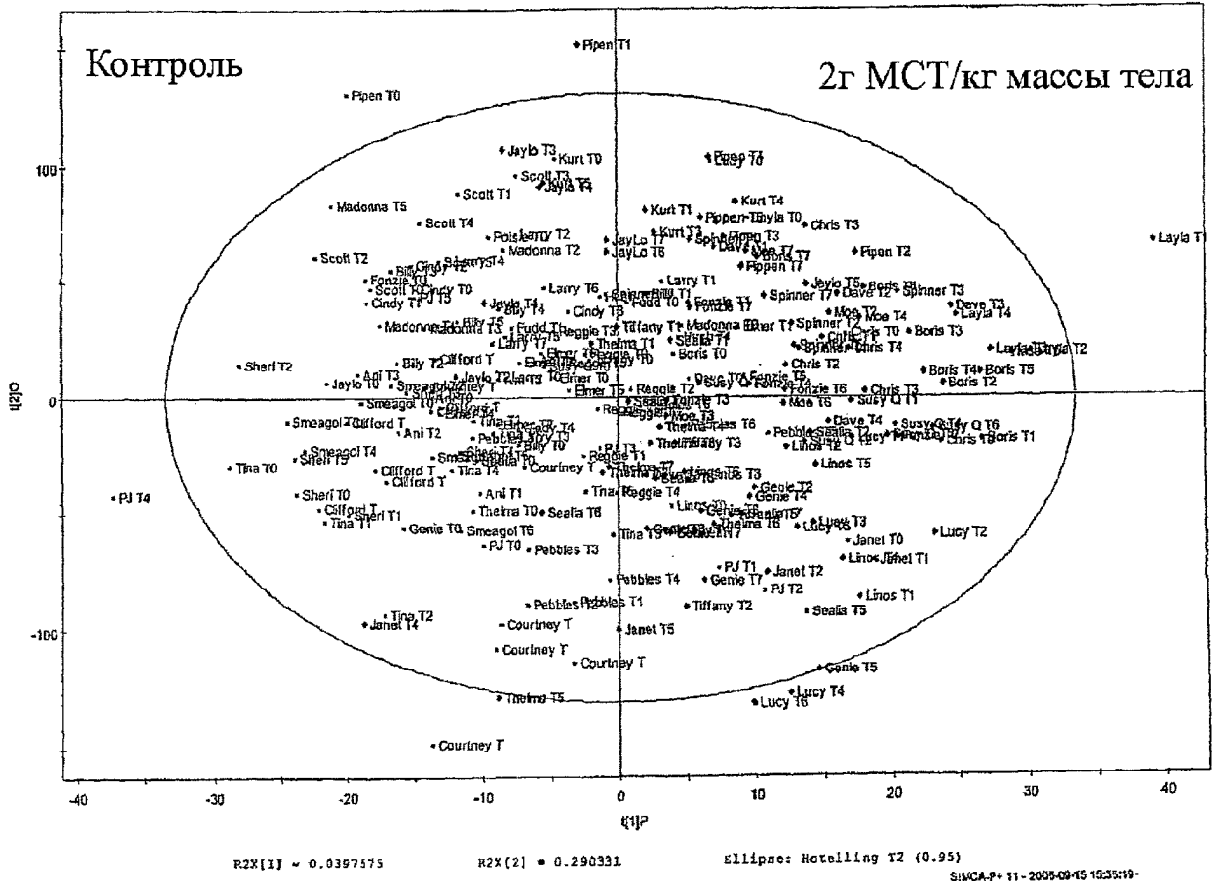
Class 1  
 Class 3



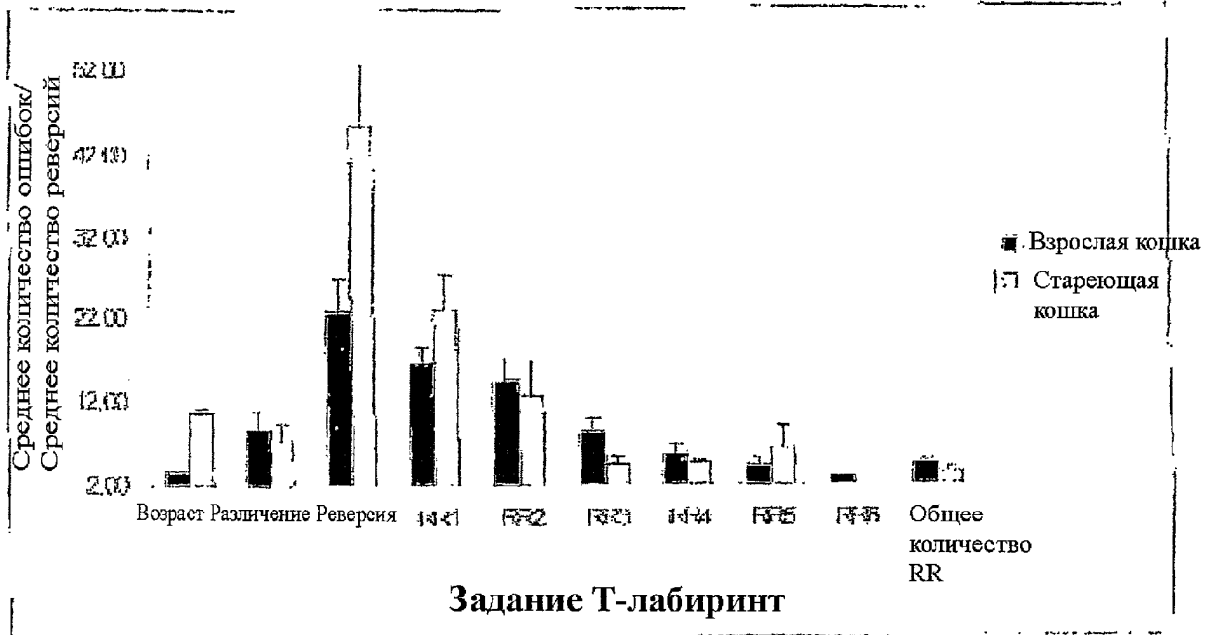
Фиг. 31

metdatanicesyprocess\_new.M15 (OPLS), OPLS UV class 1-3  
 [Comp. 1]/[Comp. 2]  
 Colored according to classes in M15

Class 1  
 Class 3



Фиг. 32



Фиг. 33