

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA

Irena SEDEJ

**ANALITIKA SESTAVE MAŠČOBNIH KISLIN V
LIPIDIH HUMANEGA MLEKA IN PLAZME**

DOKTORSKA DISERTACIJA

Ljubljana, 2011

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA

Irena SEDEJ (HREN)

**ANALITIKA SESTAVE MAŠČOBNIH KISLIN V LIPIDIH
HUMANEGA MLEKA IN PLAZME**

DOKTORSKA DISERTACIJA

**ANALYTICS OF FATTY ACIDS COMPOSITION OF LIPIDS IN
HUMAN MILK AND PLAZMA**

DOCTORAL DISSERTATION

Ljubljana, 2011

POPRAVKI

Na podlagi Statuta Univerze v Ljubljani ter po sklepu Senata Biotehniške fakultete in Senata Univerze z dne 13. julij 2005 je bilo potrjeno, da kandidatka izpolnjuje pogoje za neposreden prehod na doktorski Podiplomski študij živilstva ter opravljanje doktorata znanosti. Za mentorico je bila imenovana doc. dr. Nataša Fidler Mis.

Celotna raziskava je bila opravljena v okviru projekta »Vpliv mlečnih nadomestkov na maščobno-kislinski status nedohranjenih dojenčkov« (št. projekta L3-2091), ki je potekal na Pediatrični kliniki Univerzitetnega kliničnega centra Ljubljana pod vodstvom prof. dr. Cirila Kržišnika, dr. med., in doc. dr. Nataše Fidler Mis ter v sodelovanju s prof. dr. Bertholdom Koletzki, dr. med., z Otroške poliklinike v Münchnu, v času od 1. 1. 2000 do 30. 6. 2002. Praktični del raziskave se je v celoti izvajal na Pediatrični kliniki, klinični del raziskave na Kliničnem oddelku za gastroenterologijo, hepatologijo in nutricionistiko in analitika sestave maščobnih kislin lipidov materinega mleka in plazme v laboratoriju Centra za nutricionistiko, ki deluje v okviru Službe za nutricionistiko, dietetiko in bolniško prehrano. Računalniška in statistična obdelava podatkov je bila izvedena na Pediatrični kliniki v sodelovanju z Inštitutom za biomedicinsko informatiko Medicinske fakultete, Univerza v Ljubljani.

Mentorica: doc. dr. Nataša FIDLER MIS

Komisija za oceno in zagovor:

Predsednik: prof. dr. MARJAN SIMČIČ
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo

Član: doc. dr. Nataša FIDLER MIS
Univerzitetni klinični center Ljubljana, Pediatrična klinika, Služba za nutricionistiko, dietetiko in bolnišnično prehrano

Član: prof. dr. IRENA ROGELJ
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za zootehniko

Datum zagovora: 25. november 2011

Delo je rezultat lastnega raziskovalnega dela.

Doktorandka:
Irena SEDEJ

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA

ŠD Dd
DK UDK 613.221+613.287+613.953:543.635.3(043)=163.6
KG prehrana dojenčkov/dojenje/humano mleko/formula za dojenčke/donošeni dojenčki/rast dojenčkov/napredovanje na telesni teži/dohranjevanje/maščobne kisline/maščobno-kislinska sestava/dolgoverižne večkrat nenasičene maščobne kisline/lipidi humanega mleka/plazma/fosfolipidi/trigliceridi/estri holesterola
AV SEDEJ (HREN), Irena, univ. dipl. inž. živ. tehn.
SA FIDLER MIS, Nataša (mentorica)
KZ SI-1000 Ljubljana, Jamnikova 101
ZA Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Podiplomski študij živilstva
LI 2011
IN ANALITIKA SESTAVE MAŠČOBNIH KISLIN V LIPIDIH HUMANEGA MLEKA IN PLAZME
TD Doktorska disertacija
OP XII, 117 str., 17 pregl., 12 sl., 18 pril., 182 vir.
IJ sl
JI sl/ en

AI Dojenje je najustreznejša oblika hranjenja dojenčkov, še zlasti prvih 6 mesecev življenja. Nezadostno dojenje ima lahko za posledico slabše napredovanje na telesni teži (FTT). Če ima mati premalo mleka, se najprej z njo pogovorimo, ji ponudimo vso strokovno podporo in ji svetujemo o ustrezni tehniki dojenja. Če dojenje kljub temu ni zadostno ali ni možno, se priporoča nadaljnje dojenje ter dodatek ali uvedba začetne formule po volji. Mleko mater je vir esencialnih in pogojno esencialnih dolgoverižnih večkrat nenasičenih maščobnih kislin (LCP). Razpoložljivost LCP v zgodnjem življenju vpliva na kakovost rasti in ima pomembno vlogo v razvoju vida ter v razvoju intelektualnih procesov dojenčka. Namen študije je bil ugotoviti, ali se maščobno-kislinska sestava zrelega mleka mater s hipogalaktijo razlikuje od maščobno-kislinske sestave zrelega mleka mater z dovolj mleka, ali se maščobno-kislinska sestava posameznih frakcij lipidov plazme zdravih donošenih (≥ 37 tednov), izključno dojenih dojenčkov s FTT razlikuje od enako starih zdravih dojenčkov z normalnim napredovanjem na teži in ugotoviti vpliv prehranskega ukrepanja z dodajanjem standardne začetne formule brez LCP (F) in z LCP obogatene formule (0,2–0,3 g n-3 LCP in 0,6–0,7 g n-6 LCP/100 g maščob, F-LCP) na parametre rasti in na LCP status v krvni plazmi dojenčkov. V študijo smo vključili 74 parov mati – dojenček. V skupino AB so bili razvrščeni dojenčki s FTT (≤ 10 . percentilom za starost glede na Euro-Growth percentilno krivuljo in/ali porast telesne teže od rojstva do vključitve v raziskavo $< 40\%$ pričakovanega porasta za starost, v starosti 1,87 (1,70) meseca, $n = 33$) in njihove matere. V skupino C so bili razvrščeni dojenčki z normalnim napredovanjem na teži (teža ≥ 50 . percentilom za starost, (Euro-Growth), v starosti 2,18 (0,80) meseca, $n = 41$) in njihove matere. Ob vključitvi v raziskavo smo dojenčke s FTT z dvojno slepo randomizacijo razdelili v dve skupini (skupina A in skupina B), ki sta bili poleg dojenja 31 dni dohranjevani s F-LCP (skupine A, $n = 15$) ali F (skupina B, $n = 16$). Antropometrični podatki, vzorci humanega mleka in vzorci plazme dojenčkov so bili pridobljeni ob vstopu v raziskavo in po enem mesecu prehranskega ukrepanja. Maščobno-kislinsko sestavo zrelega humanega mleka in plazemskih fosfolipidov (PL), trigliceridov (TG) in estrov holesterola (CE) posameznih frakcij plazemskih lipidov smo določili s kapilarno plinskotekočinsko kromatografijo in rezultate izrazili kot utežni odstotek (ut. %) ter absolutno vsebnost (mg maščobne kisline/100 g vzorca). Mleko mater s hipogalaktijo je imelo nepričakovano višji odstotek ω -6 LCP kot mleko mater kontrolne skupine. Obstaja možnost, da so se pri materah s hipogalaktijo zaradi majhnega izločanja humanega mleka (v povprečju le 470 ml/dan) zaloge ω -6 LCP praznile počasneje kot pri materah, ki so sintetizirale večjo količino mleka. Dojenčki s FTT so nepričakovano imeli boljši status LCP v PL in TG kot dojenčki z normalnim napredovanjem na telesni teži. Višji delež LCP v PL je lahko posledica višje vsebnosti dihomogama-linolenske in arahidonske kisline (ω -6 LCP) in tendenčno višje vsebnosti dokozaheksaenojske kisline (ω -3 LCP) v mleku mater teh dojenčkov. Naši rezultati nakazujejo, da slabše napredovanje dojenih dojenčkov na telesni teži ni bilo posledica pomanjkanja LCP. Med obema skupinama dojenčkov s FTT po mesecu dni dodajanja začetne formule ni bilo razlik v rastnih parametrih. Višji vnos LCP z začetno formulo se je že po 31-ih dneh odrazil v pomembno višjih vrednostih LCP tako v PL kot tudi v TG frakciji plazemskih lipidov. LCP dodane s prehrano se tudi pri dojenčkih s FTT učinkovito presnavljajo in vgrajujejo v telesne lipide.

KEY WORDS DOCUMENTATION

- ND Dd
DC UDC 613.221+613.287+613.953:543.635.3(043)=163.6
CX infant nutrition/breastfeeding/human milk/infant formula/term infants/infant growth/failure to thrive/additional feeding/fatty acids/fatty acid composition/long-chain polyunsaturated fatty acid/human milk lipids/plasma/phospholipid/triglyceride/sterol ester
AU SEDEJ (HREN), Irena, B.Sc.
AA FIDLER MIS, Nataša (supervisor)
PP SI-1000 Ljubljana, Jamnikova 101
PB University of Ljubljana, Biotechnical Faculty, Postgraduate study of Food Science and Technology
PY 2011
TI ANALYTICS OF FATTY ACIDS COMPOSITION OF LIPIDS IN HUMAN MILK AND PLAZMA
DT Doctoral dissertation
NO XII, 117 p., 17 tab., 12 fig., 18. ann., 182 ref.
LA sl
AL sl/ en
AB Breastfeeding is the preferred method of feeding for healthy infants for the first 6 months of life. Some fully breastfeed infants may experience critical failure to thrive (FTT) due to mothers hypogalactia. Their mothers are counselled to use all strategies to maintain the breastfeeding and to supplement with infant formula ad libitum. Human milk lipids provide precursors of essential fatty acids linoleic and α -linolenic acid together with their long-chain polyunsaturated (LCP) metabolites. The supply of LCP has been associated with functional outcomes of the recipient infants such as visual acuity and development of cognitive functions during the first year of life. The aims of this study were: to determine if the fatty acid composition of milk lipids of mothers with hypogalactia differ from fatty acid composition of milk collected from mothers with good milk supply, to determine whether fatty acid composition of main lipid fractions in plasma of main lipid fractions in plasma of healthy full-term (more than 37 gestation week) exclusively breastfed infants with FTT differ from age-matched healthy controls and to investigate the effects 31 days of dietary intervention with conventional formula without LCP (F) and formula enriched with LCP (0.2–0.3 g n-3 LCP and 0.6–0.7 g n-6 LCP/100 g fat, F-LCP) on plasma fatty acid composition and growth of infants with FTT. 74 mother-infant pairs were included in the study. Infants with FTT (less than 40 % of expected weight gain for age and/or body weight less than 10. Euro-Growth percentile for age) (age: 1.87 [1.70] mo, n = 33) and their mothers were assigned to group AB. Infants with normal weight gain (body weight more than 50. Euro-Growth percentile for age) (age: 2.18 [0.80] mo, n = 41) and their mothers served as a control group C. After inclusion infants with FTT were double-blindly randomized in two groups; those fed with F-LCP (group A, n = 15) or F (group B, n = 16). Anthropometric data, human milk and infants plasma samples were obtained at study entry and after one month of additional formula milk feeding. Fatty acid composition of mature human milk and plasma phospholipids (PL), triglycerides (TG) and cholesterol esters (CE) were determined by capillary gas chromatography. Results are expressed as weight percentage (% wt/wt of total fatty acids) and as concentration of individual fatty acid (mg/100g samle). Unexpectedly, higher ω -6 LCP content was found in milk lipids of mothers with hypogalactia. There is a possibility that the release rate of ω -6 LCP from maternal pool was slower in mothers with hypogalactia due to lower milk secretion (in average 470 ml/day) in comparison to mothers with higher milk secretion. Infants with FTT had unexpectedly better LCP status of PL and TG in plasma than infants with normal weight gain. Higher LCP content in plasma PL can result from higher extent of LCP from remaining infant's body fat stores. It can also result from higher content of dihomo- γ -linolenic, arachidonic and tendentious higher content of docosahexaenoic acid in breast milk of FTT infant's mothers. Gains in weight, length and head circumference did not differ between the two groups after one month of formula supplementation. One month of additional formula milk feeding with LCP enriched formula for infants with FTT effectively increased LCP contents in PL and TG, especially n-6 LCP contents in PL. The data obtained indicate that LCP from enriched formula were effectively metabolized and incorporated into infantile plasma lipids by infants with FTT.

KAZALO VSEBINE

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA.....	III
KEY WORDS DOCUMENTATION	IV
KAZALO VSEBINE	V
KAZALO PREGLEDNIC	VIII
KAZALO SLIK	IX
KAZALO PRILOG	X
OKRAJŠAVE IN SIMBOLI	XI
1 UVOD	1
1.1 NAMEN DELA	2
1.2 HIPOTEZE	2
2 PREGLED OBJAV	3
2.1 RAST DOJENČKOV S SLABŠIM NAPREDOVANJEM NA TELESNI TEŽI	3
2.2 PRESNOVA LCP	6
2.2.1 Sinteza ω-6 LCP in ω-3 LCP pri dojenčkih – študije s stabilnimi izotopi	7
2.2.2 Presnova maščob pri podhranjenosti	8
2.3 PREHRANA DOJENČKOV	9
2.3.1 Humano mleko	12
2.3.1.1 Vsebnost maščob	12
2.3.1.2 LCP sestava humanega mleka	13
2.3.2 Začetna formula	14
2.3.2.1 Priporočila za prehranski vnos maščob in LCP z začetno formulo	14
2.3.2.2 Dodajanje LCP v začetne formule	15
2.4 VPLIV LCP NA PRE- IN POSTNATALNI RAZVOJ NOVOROJENČKOV	16
2.4.1 Vpliv dodatka LCP na rast in razvoj donošenih dojenčkov	17
3 MATERIAL IN METODE DELA	20
3.1 POTEK RAZISKAVE	20
3.1.1 Načrt raziskave	21
3.1.2 Izbira oseb za raziskavo	23
3.1.3 Dokumentacija kliničnih podatkov in prehrane	24
3.1.4 Sestava začetnih formul	24
3.2 ZBIRANJE VZORCEV	26
3.2.1 Humano mleko	26
3.2.2 Krvna plazma dojenčkov	26
3.3 ANALITIKA	27
3.3.1 Aparature in reagenti	27
3.3.2 Analitski postopki	29
3.3.2.1 Ekstrakcija maščob mleka in plazme	30
3.3.2.2 Tankoplastna kromatografija	30
3.3.2.3 Esterifikacija maščob	31
3.3.2.4 Plinskotekočinska kromatografija	31
3.3.2.5 Identifikacija in kvantifikacija MEMK	33
3.3.3 Vrednotenje kromatografske metode	34

3.3.4	Zanesljivost rezultatov	35
3.4	IZRAČUNI IN PRIKAZ PODATKOV	37
3.4.1	Antropometrične mere dojenčkov	37
3.4.2	Prehrana dojenčkov	37
3.4.2.1	Prispevek dojenja k celotnemu vnosu mleka.....	37
3.4.2.2	Dnevni energijski vnos	37
3.4.2.3	Prehranski vnos LCP	38
3.4.3	Statistične metode	38
4	REZULTATI.....	39
4.1	OCENA ANALITSKIH POSTOPKOV.....	39
4.1.1	Ločljivost	39
4.1.2	Linearnost metode	39
4.1.3	Ponovljivost injiciranja	39
4.1.4	Ponovljivost analitskih postopkov	43
4.1.5	Meja kvantifikacije	44
4.1.6	Certificirani referenčni material	45
4.1.7	Mednarodna interlaboratorijska primerjava	45
4.1.8	Medlaboratorijska primerjava	45
4.2	ANTROPOMETRIČNE MERE DOJENČKOV.....	46
4.3	PREHRANA DOJENČKOV.....	47
4.3.1	Količina zaužitega humanega mleka	47
4.3.1.1	Vsebnost maščob v humanem mleku	48
4.3.1.2	Maščobno-kislinska sestava zrelega humanega mleka.....	48
4.3.2	Količina zaužite začetne formule	49
4.3.2.1	Maščobno-kislinska sestava začetnih formul	50
4.3.3	Skupna prehrana	51
4.3.3.1	Prispevek dojenja k celotnemu vnosu mleka.....	51
4.3.3.2	Celotna količina zaužitega mleka	53
4.3.3.3	Celotni energijski vnos	53
4.3.3.4	Prehranski vnos LCP	55
4.4	MAŠČOBNO-KISLINSKA SESTAVA PLAZME DOJENČKOV	57
4.4.1	Maščobno-kislinska sestava plazme dojenčkov ob vključitvi v raziskavo	57
4.4.1.1	Vsebnost maščobnih kislin plazemskih frakcij (mg/100g plazme) ob vključitvi v raziskavo.....	58
4.4.1.2	Maščobno-kislinska sestava (ut. %) plazemskih fosfolipidov	59
4.4.1.3	Maščobno-kislinska sestava (ut. %) plazemskih trigliceridov	60
4.4.1.4	Maščobno-kislinska sestava (ut. %) plazemskih estrov holesterola.....	60
4.4.2	Maščobno-kislinska sestava plazme dojenčkov s FTT po 31-ih dneh dodajanja formule z ali brez LCP	61
4.4.2.1	Vsebnost maščobnih kislin plazemskih frakcij (mg/100g plazme) po 31-ih dneh dodajanja formule z ali brez LCP	61
4.4.2.2	Maščobno-kislinska sestava (ut. %) plazemskih frakcij.....	62
4.4.3	Vpliv časa in prehrane na maščobno-kislinsko sestavo plazme dojenčkov	62
4.5	POVEZAVE	65
4.5.1	Povezava med prehrano in antropometričnimi merami dojenčkov	65

4.5.2	Povezava med prehrano in maščobno-kislinsko sestavo plazme dojenčkov	66
5	RAZPRAVA IN SKLEPI.....	68
5.1	USPEH PREHRANSKEGA UKREPANJA	68
5.2	VSEBNOST MAŠČOB IN MAŠČOBNO-KISLINSKA SESTAVA ZRELEGA HUMANEGA MLEKA	72
5.2.1	Vsebnost maščob	72
5.2.2	Večkrat nenasičene maščobne kisline v zrelem humanem mleku	72
5.2.3	Večkrat nenasičene maščobne kisline v mleku mater dojenčkov s FTT	79
5.2.4	Usklajenost maščob v raziskovalnih začetnih formulah z zdajšnjimi priporočili	83
5.3	LCP V KRVNI PLAZMI DOJENČKOV	83
5.3.1	Oskrba z LCP ob vključitvi v raziskavo	84
5.3.2	Vpliv dodajanja začetne formule na LCP status v krvni plazmi	89
5.4	SKLEPI.....	95
6	POVZETEK (SUMMARY).....	96
6.1	POVZETEK	96
6.2	SUMMARY	98
6.3	ZUSSAMENFASSUNG	100
7	VIRI	102
ZAHVALA		
PRILOGE		

KAZALO PREGLEDNIC

Preglednica 1: Sestava začetnih formul za dojenčke iz raziskave in humanega mleka	25
Preglednica 2: Reagenti in standardi, ki smo jih uporabili v raziskavi	28
Preglednica 3: Antropometrične mere dojenčkov prvi in 31-ti dan raziskave	46
Preglednica 4: Celotna količina zaužitega humanega mleka v prehrani dojenčkov s FTT (g) glede na PBS v zadnjih treh dneh	48
Preglednica 5: Vsebnost maščob v humanem mleku	48
Preglednica 6: Dnevna in mesečna celotna količina zaužite začetne formule v prehrani dojenčkov s FTT tekom 31-ih dni študije (g) glede na PBS v zadnjih treh dneh.....	50
Preglednica 7: Razredi PSD pri dojenčkih s FTT ob vključitvi v raziskavo (dan 0) in v prvih ter zadnjih treh dneh dodajanja začetne formule (Sedej in sod., 2009)	52
Preglednica 8: Celotna količina zaužitega mleka v prehrani dojenčkov s FTT (g) glede na PSD	53
Preglednica 9: Prehranski vnos dojenčkov s FTT ob vključitvi v raziskavo ter prve in zadnje tri dni dodajanja začetne formule (povprečje \pm SO) (Sedej in sod., 2009).....	54
Preglednica 10: Povprečni skupni dnevni vnos ω -3 in ω -6 maščobnih kislin (mg) v prvih in zadnjih treh dneh raziskave ter povprečni mesečni vnos teh maščobnih kislin z začetno formulo v prehrani dojenčkov s FTT	55
Preglednica 11: Povprečna skupna količina zaužitih ARK, DHK, ω -3 LCP in ω -6 LCP (mg/dan) v prehrani dojenčkov s FTT glede na PSD (%) v zadnjih treh dneh	57
Preglednica 12: Razlike v LCP statusu dojenčkov s FTT po 31-ih dneh dodajanja začetne formule z ali brez LCP (P vrednosti).....	64
Preglednica 13: Uspeh prehranskega ukrepanja z vidika napredovanja na telesni teži in ohranjanja dojenja pri dojenčkih s FTT.....	65
Preglednica 14: Odstotek večkrat nenasičenih maščobnih kislin v vzorcih zrelega humanega mleka iz Slovenije in drugih evropskih držav	74
Preglednica 15: Odstotek večkrat nenasičenih maščobnih kislin v vzorcih zrelega humanega mleka mater dojenčkov s FTT.....	82
Preglednica 16: Primerjava LCP maščobno-kislinske sestave posameznih frakcij plazemskih lipidov v Sloveniji s podatki iz drugih držav	87
Preglednica 17: Maščobno-kislinska sestava (ut. %, povprečje (SD), p vrednosti iz mešanega modela dvosmerne analize variance) plazemskih lipidov dojenčkov s FTT, hranjenih s standardno začetno formulo brez LCP (skupina B, n = 15) ali s formulo obogateno z LCP (skupina A, n = 16)	92

KAZALO SLIK

Slika 1: Shematski prikaz desaturacije in elongacije ω -6 in ω -3 maščobnih kislin (Innis, 2003: S2)	8
Slika 2: Dnevni energijski vnos in viri makrohranil pri izključno dojenem dojenčku, starem 3 do 4 mesece (6,3 kg), in odraslem moškem (70kg) z zmerno telesno aktivnostjo (Michaelsen in sod., 2003: 47)	10
Slika 3: Shematski prikaz poteka raziskave (Fidler in sod., 2000a).....	20
Slika 4: Časovna shema antropometričnih meritev ter spremljanja prehrane dojenčkov s FTT tekom raziskave z dodajanjem začetne formule.....	22
Slika 5: Shematski prikaz analitskih postopkov za določanje vsebnosti maščob v humanem mleku ter analiziranje maščobno-kislinske sestave humanega mleka in plazemskih lipidov (PL-fosfolipidov, TG-triacilglicerolov, CE-estrov holesterola) (Fidler Mis in Sedej, 2003)	29
Slika 6: Plinski kromatogram metilnih estrov maščobnih kislin lipidov humanega mleka	40
Slika 7: Plinski kromatogram metilnih estrov maščobnih kislin fosfolipidne frakcije plazemskih lipidov.....	41
Slika 8: Plinski kromatogram metilnih estrov maščobnih kislin standarda 18919-1AMP za identifikacijo maščobnih kislin.....	42
Slika 9: Odstotek DHK in ω -3 LCP (ut. %) v plazemskih PL, TG in CE pri dojenčkih s FTT (povprečje \pm SO)	63
Slika 10: Odstotek ARK in ω -6 LCP (ut. %) v plazemskih PL, TG in CE pri dojenčkih s FTT (povprečje \pm SO)	64
Slika 11: Povezava med razliko v številu standardnih odklonov od povprečja (SOP) teže za starost (dan 31 – dan 1) in PSD (%) v zadnjih treh dneh raziskave pri 29 dojenčkih s FTT (Sedej in sod., 2009).....	66
Slika 12: Povezava med razliko v količini zaužite DHK (mg/dan) in razliko v vsebnosti DHK v PL frakciji plazemskih lipidov (mg/100g plazme) dojenčkov skupine A tekom raziskave	67

KAZALO PRILOG

- Priloga A1: Večkrat nenasičene maščobne kisline v začetnih formulah za dojenčke, ki so dostopne na slovenskem trgu v letu 2011
- Priloga A2: Okrajšave, simboli in kemijska imena maščobnih kislin, ki smo jih identificirali v raziskavi
- Priloga A3: Okrajšave, trivialna imena in nekatere fizikalne lastnosti maščobnih kislin, ki smo jih identificirali v raziskavi
- Priloga B1: Ponovljivost rezultatov desetih zaporednih injiciranj dveh različnih mešanic standardov, izvedenih v treh zaporednih dneh (ut. %)
- Priloga B2: Ponovljivost kromatografskih metod med vzorci kvantitativnega standarda GLC-85 z znanimi utežnimi odstotki v obdobju trajanja analiz študijskih vzorcev
- Priloga B3: Ponovljivost med paralelnimi meritvami (ut. %), merjenimi isti dan pri določanju maščobno-kislinske sestave olja, kravjega in humanega mleka
- Priloga B4: Ponovljivost med paralelnimi meritvami pri določanju maščobno-kislinske sestave humanega mleka med dnevi
- Priloga B5: Primerjava v našem laboratoriju izmerjenih vrednosti maščobnih kislin v certificiranem referenčnem materialu CRM 163 s certificiranimi vrednostmi (ut. %)
- Priloga B6: Rezultati udeležbe v mednarodni interlaboratorijski primerjavi DGF 2004: maščobno-kislinska sestava (ut. %) dveh vzorcev olja
- Priloga B7: Primerjava maščobno-kislinske sestave (ut. %), izmerjene na istih vzorcih humanega mleka v našem laboratoriju in kemijskem laboratoriju Katedre za prehrano, Rodica
- Priloga B8: Primerjava maščobno-kislinske sestave (ut. %) v skupnih lipidih krvne plazme, izmerjene v našem laboratoriju in kemijskem laboratoriju Katedre za prehrano, Rodica
- Priloga C1: Maščobno-kislinska sestava zrelega humanega mleka mater s hipogalaktijo
- Priloga C2: Maščobno-kislinska sestava lipidov zrelega humanega mleka
- Priloga C3: Maščobno-kislinska sestava začetnih formul
- Priloga C4: Maščobno-kislinska sestava (ut. %) plazemskih fosfolipidov, trigliceridov in estrov holesterola ob vključitvi v raziskavo
- Priloga C5: Koncentracija maščobnih kislin (mg/100g vzorca) plazemskih fosfolipidov, trigliceridov in estrov holesterola ob vključitvi v raziskavo
- Priloga C6: Maščobno-kislinska sestava (ut. %) plazemskih fosfolipidov, trigliceridov in estrov holesterola dojenčkov s FTT po 31-ih dneh dodajanja začetne formule
- Priloga C7: Koncentracija maščobnih kislin (mg/100g vzorca) plazemskih fosfolipidov, trigliceridov in estrov holesterola dojenčkov s FTT po 31-ih dneh dodajanja začetne formule

OKRAJŠAVE IN SIMBOLI

ALK	α -linolenska kislina (C18:3n-3)
ARK	arahidonska kislina (C20:4n-6)
CE	estri holesterola (ang. Sterolesters)
CRM	certificirani referenčni material (ang. Certified Reference Material)
DGF	Nemško združenje za znanost o maščobah (nem. Deutsche Gesellschaft Für Fettwissenschaft)
DHGLK	dihomo- γ -linolenska kislina (C20:3n-6)
DHK	cis-4,7,10,13,16,19-dokozaheksaenojska kislina (C22:6n-3)
ENMK	enkrat nenasičene maščobne kisline
EPK	klopadska kislina ali eikozapentaenojska kislina (C20:5n-3)
ESPGHAN	Evropsko združenje za pediatrično gastroenterologijo, hepatologijo in nutricionistiko (ang. European Society of Paediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition)
F	začetna formula za dojenčke brez LCP; t. i. standardna formula
FID	plamensko ionizacijski detektor (ang. Flame Ionisation Detector)
F-LCP	začetna formula za dojenčke z LCP
FTT	slabše napredovanje na telesni teži (ang. Failure To Thrive)
GLC	plinskotekočinska kromatografija (ang. Gas Liquid Chromatography)
GLK	γ -linolenska kislina (C18:3n-6)
HMF	kromatografska metoda, ki smo jo uporabljali za ločevanje MEMK humanega mleka
IS	interni standard
ITM	indeks telesne mase (kg/m ²)
KV	koeficient variabilnosti
LCP	dolgoverižne večkrat nenasičene maščobne kisline (ang. Long Chain Polyunsaturated fatty acids)
LK	linolna kislina (C18:2n-6)
ME	metilni ester
MEMK	metilni estri maščobnih kislin
n ali ω	označevanje dvojnih vezi z metilnega konca maščobnih kislin
NMK	nasičene maščobne kisline
OK	oleinska kislina (C18:1n-9)
PL	fosfolipidi (ang. Phospolipids)
PLL	kromatografska metoda, ki smo jo uporabljali za ločevanje MEMK posameznih frakcij plazemskih lipidov
PSD	prispevek dojenja k celotnemu vnosu mleka (ang. ContriBution of Breastfeeding to total milk intake)
PSD ₁₋₃	prispevek dojenja k celotnemu vnosu mleka v prvih treh dneh raziskave
PSD ₂₉₋₃₁	prispevek dojenja k celotnemu vnosu mleka v zadnjih treh dneh raziskave
ω -3 DPK	cis-7,10,13,16,19-dokozapentaenojska (C22:5n-3)
Q ₁	prvi kvartil

Q ₃	tretji kvartil
r	Pearsonov korelacijski koeficient
Rf	faktor odzivnosti (ang. Responce factor)
SNP	standardna napaka povprečja
SO	standardni odklon
SOP	število standardnih odklonov od povprečja
SZO	Svetovna zdravstvena organizacija (ang. World Health Organization)
TG	trigliceridi oz. triacilgliceroli (ang. TriGlycerides)
TMK	<i>trans</i> maščobne kisline
VNMK	večkrat nenasičene maščobne kisline
\bar{X}	povprečje (mean)

1 UVOD

Dojenje je najustreznejša oblika hranjenja. Humano mleko je za dojenčka vir dolgotrajnih večkrat nenasičenih maščobnih kislin (LCP) (Koletzko in sod., 2001a). Nezadostno dojenje ima lahko za posledico slabše napredovanje na telesni teži (FTT) (Kliegman in sod., 2011). Če ima mati premalo mleka (hipogalaktija), ji najprej ponudimo vso strokovno podporo in ji svetujemo o ustrezni tehniki dojenja. Če dojenje kljub temu ni zadostno ali ni možno, se priporoča nadaljnje dojenje ter dodatek ali uvedba začetne formule po volji (Neifert, 2001; Sedej in sod., 2009).

LCP imajo pomembno vlogo v razvoju vida in v razvoju intelektualnih procesov dojenčka (Koletzko in Rodriguez-Palmero, 1999), pripisujejo jim tudi vse večjo vlogo v kasnejšem razvoju intelektualnih procesov otrok (Ryan in sod., 2010). LCP so nujno potrebne v zadnji tretjini nosečnosti in vse do drugega leta starosti, ko potekata hitra rast in razvoj človeških možganov. Pred rojstvom se zarodek z dokozaheksaenojsko kislino (DHK) in arahidonsko kislino (ARK), potrebnima za razvoj zarodka, oskrbuje skozi posteljico. Po rojstvu pa preko humanega mleka ali z LCP obogateno začetno formulo. Za tvorbo življenjsko pomembnih celičnih struktur v centralnem živčnem sistemu ima dojenček v obdobju hitre rasti visoke potrebe po LCP (Ryan in sod., 2010).

Po izsledkih raziskav se rutinsko dodajanje LCP v začetne formule za izboljšanje gibalnega in nevrološkega razvoja ter razvoja vida donošenim dojenčkom ne priporoča (Simmer in sod., 2008).

V dvojno slepo placebo kontrolirano raziskavo smo vključili skupno 74 dojenčkov, starih od 28 do 107 dni. Ob vključitvi v raziskavo smo formirali dve skupini: skupina AB je vključevala 33 dojenčkov s FTT in njihove matere, skupina C pa 41 dojenčkov z normalnim napredovanjem na telesni teži in njihove matere. Za nadaljevanje raziskave smo dojenčke s FTT z dvojno slepo randomizacijo razdelili v dve skupini (skupina A in skupina B), ki sta bili deležni različnega prehranskega ukrepanja. Dojenčki skupine A so poleg dojenja 31 dni uživali začetno formulo z LCP (F-LCP) in dojenčki skupine B začetno formulo brez LCP (F).

Želeli smo ugotoviti vpliv prehranskega ukrepanja na parametre rasti, določiti količino in sestavo zaužitega humanega mleka in začetne formule ter ugotoviti vpliv dodajanja z LCP obogatene začetne formule (F-LCP) na LCP status v krvni plazmi dojenčkov.

Pričujoča raziskava je prva raziskava v razvitih državah, ki obravnava dojenčke s FTT po uvedbi dvovrstnega hranjenja in njihove matere s hipogalaktijo. Dala nam je tudi prvi vpogled v maščobno-kislinsko sestavo zrelega humanega mleka mater z in brez hipogalaktije ter v maščobno-kislinsko sestavo dojenčkov z normalnim in slabšim napredovanjem na telesni teži.

1.1 NAMEN DELA

- a) Ugotoviti napredovanje telesne teže in ostalih parametrov rasti dojenčkov s FTT po 31-dnevnem dodajanju formule z (skupina A) ali brez (skupina B) LCP.
- b) Ugotoviti količino zaužitega mleka dojenih dojenčkov (starih 28 do 99 dni) s FTT (skupina AB) ter vrednosti primerjati z normalno prehranjenimi zdravimi dojenčki podobne starosti (literaturni podatki).
- c) Ugotoviti sestavo zrelega mleka mater dojenčkov, vključenih v raziskavo: določiti vsebnost maščob in maščobno-kislinsko sestavo lipidov zrelega humanega mleka mater dojenčkov s FTT ter vrednosti primerjati z vrednostmi pri materah dojenčkov z normalnim napredovanjem na telesni teži (skupina C) ter literaturnimi podatki o sestavu zrelega humanega mleka.
- d) Analizirati maščobno-kislinsko sestavo posameznih frakcij plazemskih lipidov (fosfolipidov, triacilglicerolov in estrov holesterola) dojenčkov s FTT ter jo primerjati s skupino C ter literaturnimi podatki za enako stare zdrave dojenčke (Decsi in Koletzko, 1994).
- e) Ugotoviti spremembo oskrbe z LCP po 31-dnevnem dodajanju začetne formule z (F-LCP) ali brez LCP (F) (skupini A in B).

1.2 HIPOTEZE

- a) Pridobivanje telesne teže dojenčkov s FTT se bo po 31-dnevnem dodajanju začetne formule izboljšalo v obeh skupinah (skupina A proti skupina B).
- b) Dojeni dojenčki s FTT ($\leq 10.$ percentilom za starost in/ali dosežejo $\leq 40 \%$ pričakovanega porasta telesne teže za starost (Haschke in sod., 2000) (skupina AB)):
 - so zaužili premajhno količino humanega mleka zaradi hipogalaktije matere,
 - imajo znižano vsebnost plazemskih LCP v primerjavi z dojenčki z normalnim napredovanjem na telesni teži (skupina AB proti skupina C ter Decsi in Koletzko, 1994) in s tem povečane potrebe po LCP.
- c) Vsebnost maščob in maščobno-kislinska sestava zrelega humanega mleka mater dojenčkov s FTT bo primerljiva z vsebnostjo in sestavo humanega mleka mater dojenčkov z normalnim napredovanjem na telesni teži ter literaturnimi podatki za druge države (skupina AB proti skupina C ter literaturni podatki).
- d) Dojenčki s FTT, ki bodo poleg dojenja 31 dni uživali F-LCP, bodo imeli višjo vsebnost LCP v plazemskih fosfolipidih kot tisti, ki bodo uživali F (skupina A proti skupina B).

2 PREGLED OBJAV

2.1 RAST DOJENČKOV S SLABŠIM NAPREDOVANJEM NA TELESNI TEŽI

Prvo leto otrokovega življenja sodi med najintenzivnejša obdobja, saj sta rast in razvoj najhitrejša. Telesna teža zdravih dojenčkov se v prvih petih mesecih podvoji in v prvem letu starosti potroji (Michaelsen in sod., 2003; Referenčne vrednosti za vnos hranil, 2004; Bratanič in sod., 2010). Prehrana v najzgodnejšem obdobju življenja, že pred rojstvom v času nosečnosti in zlasti v prvem letu življenja, ima pomembne dolgoročne učinke na razvoj in zdravje vse v odraslo dobo (Singhal in sod., 2004; Koletzko in sod., 2005a).

Dojenje je normalen, naraven in optimalen način prehranjevanja novorojenčka in dojenčka (Sedmak in sod., 2010). Izključno ali polno dojenje v prvih šestih mesecih ter pozneje delno dojenje ob dopolnilni prehrani zagotavlja optimalno rast, razvoj in zdravje dojenčka (Bratanič in sod., 2010). Ima tudi enkraten biološki in čustven vpliv na zdravje matere in otroka, zato ga tako v svetu kot v Slovenji spodbujamo (Bratanič, 2003). V letu 2008 je ob odpustu iz porodnišnic polno ali delno dojilo 97 % mater. Centralno zbiranje podatkov o stanju na področju pogostosti dojenja po odpustu iz porodnišnice in trajanju dojenja še ni urejeno (Bratanič in sod., 2010). Dojenje priporočamo vsaj do dopolnjenega prvega leta starosti, po tej starosti pa, dokler to želita doječa mati in otrok (Sedmak in sod., 2010).

Kljub spodbujanju in nadzoru dojenja se v klinični praksi opaža, da dojenje v vseh primerih ni uspešno (Sedej in sod., 2004). Zaradi nezadostnega dojenja lahko dojenčki slabše napredujejo na telesni teži. FTT je ne glede na vzrok najnevarnejše in najbolj ogroža prav dojenčke v prvem letu starosti. Največja postnatalna rast možganov nastopi v prvih šestih mesecih življenja. Omenjen pojav lahko ogrozi normalen razvoj in rast dojenčkov ter ima lahko posledice v kasnejšem obdobju (Kliegman in sod., 2011). Čeprav je potrebno izvajati strategijo vzpodbujanja in pospeševanja dojenja, morajo biti primeri nezadostnega dojenja odkriti pravočasno in po potrebi se uvede prehransko ukrepanje. Če dojenje ni zadostno ali ni možno, se priporoča nadaljnje dojenje ter dodatek ali uvedba začetne formule po volji (Neifert, 2001).

Pediatri opisujejo podhranjene otroke z angleškimi besedami 'failure to thrive', v prevodu 'slabše napredovanje na telesni teži', že vsaj od 19. stoletja (Markowitz in Duggan, 2003).

FTT je rezultat nezadostnega kritja otrokovih energijskih potreb in se odraža v bistveno manjši telesni rasti kot pri enako starih vrstnikih. Do danes ni nihče postavil jasnih kriterijev rasti, ki bi definirali FTT (Kliegman in sod., 2011). Nekateri avtorji ugotavljajo, da je ta termin zamenjava za nedohranjenost. Bolj verjetno je, da bodo v deželah v razvoju s tem terminom opisovali podhranjene otroke ali otroke z beljakovinsko-energijsko podhranjenostjo (Markowitz in Duggan, 2003).

Kriterije rasti, ki so v literaturi običajno uporabljeni za opis otrok s FTT, sta zbrala Markowitz in Duggan (2003).

- a) Kriteriji glede na težo:

- teža (ali teža za starost), ki je za več kot 2 standardna odklona (SO) pod povprečjem za spol in starost ali
- teža, ki je pod tretjim percentilom za starost (Peterson in sod., 1984) ali
- število standardnih odklonov od povprečja (SOP) teže za starost (ali teže za višino), ki je manjše od -2.

Svetovna zdravstvena organizacija (SZO) priporoča uporabo SOP teže za starost, zlasti kadar podajamo antropometrične mere skupine oseb. Izračuna se po formuli: $SOP = (\text{dejanska teža} - \text{povprečna teža}) / \text{standardni odklon}$.

b) Kriterij glede na percentilne krivulje teže za starost:

- krivulja teže je »padla« za več kot dve percentilni krivulji na CDC (ang. Center for Disease Control and prevention; slo. Center za nadzor in preprečevanje bolezni) rastnih kart teže za starost.

Da po prehranskem ukrepanju otrok ponovno doseže svojo v preteklosti že stabilno krivuljo rasti, mora prečkati vsaj dve percentilni krivulji teže za starost.

V Evropi imamo zadnje desetletje svoje krivulje rasti za zdrave dojenčke (Haschke in sod., 2000).

Kriteriji za beljakovinsko-energijsko podhranjenost so jasnejši (Müller in Krawinkel, 2005):

- podhranjenost: ko je teža za starost več kot 2 SO pod povprečjem,
- upočasnjena rast: ko je višina za starost več kot 2 SO pod povprečjem,
- hiranje: ko je teža za višino več kot 2 SO pod povprečjem.

Upočasnjena rast je pokazatelj nedavne izgube telesne teže, hiranje pa je običajno odraz kronične izgube telesne teže (Müller in Krawinkel, 2005; Markowitz in Duggan, 2003). Razširjenost podhranjenosti med predšolskimi otroki je v razvitih državah v obdobju od 1990 do 2005 padla z 1,6 % na 1,1 %, v svetu pa zaradi velike razširjenosti podhranjenost otrok v deželah v razvoju ostaja visoka (22,7 %). V istem obdobju se je na globalni ravni znižala z 26,5 % na 20,6 %. Razširjenost upočasnjene rasti se je v državah v razvoju v istem obdobju znižala z 37,9 % na 26,5 %, medtem ko v razvitih državah ostaja nizka (2,8 % do 2,6 %). Napoved SZO je, da naj bi se število podhranjenih predšolskih otrok do leta 2015 v svetu prepolovilo (de Onis in sod., 2004). Tudi cilj Svetovnega vrha za hrano (ang. World Food Summit) je v obdobju med leti 1990–1992 in 2015 prepoloviti število podhranjenih ljudi. Razvojni cilj tisočletja (ang. Millenium Development Goal) je nekoliko manj ambiciozen. Med leti 1990 in 2015 želijo prepoloviti odstotek ljudi, ki trpijo zaradi lakote. Organizacija za hrano in kmetijstvo Združenih narodov (Food and Agriculture Organization of the United Nations) letno spremlja globalno podhranjenost po svetu in napredek pri uresničevanju zgoraj omenjenih ciljev. V zadnjem poročilu poročajo, da se je ocenjeno število in odstotek podhranjenih ljudi v svetu znižal, vendar še vedno ostaja nesprijemljivo visok. Po triletnem povečanju odstotka lačnih ljudi v svetu, ki je nastopilo zaradi visokih cen hrane in svetovne gospodarske krize med leti 2006 in 2009, se je ocenjen odstotek lačnih ljudi v svetu v letu 2010, ko si je svetovno gospodarstvo opomoglo, znižal. Toda število podhranjenih v svetu še vedno ostaja višje, kot je bilo pred gospodarsko krizo, zaradi česar se zdi dosega mednarodno dogovorjenih ciljev za zmanjšanje lakote v svetu vse težje dosegljiva (FAO, 2010).

Huda podhranjenost s hiraanjem in/ali edemi se pojavljajo skoraj izključno pri otrocih. Marazmus je huda izguba teže, kvašiorkor je podhranjenost z edemi, marazmik kvašiorkor

(ang. marasmic kwashiorkor) pa huda izguba teže ob prisotnosti edemov (Müller in Krawinkel, 2005).

Za uspešno obravnavo FTT je potrebno multidisciplinarno sodelovanje (Peterson in sod., 1984; Markowitz in Duggan, 2003; Kliegman in sod., 2011). Pri tem je potrebno upoštevati vse dejavnike, ki prispevajo k rasti otroka: zdravstveno stanje, prehranski status, psihosocialno komponento in interakcijo starš – otrok. Za vse otroke s FTT je pomembno tudi vzdušje ob hranjenju v domačem okolju (Kliegman in sod., 2011).

Za dosego ustreznega energijskega vnosa pri obravnavi FTT le nasvet o izbiri primernega začetnega mleka običajno ne zadošča (Markowitz in Duggan, 2003). Uspeh obravnave zavisi od specifičnosti diagnoze, zdravljenja in resnosti FTT. Pri otrocih s hudo podhranjenostjo hranimo previdno, s postopnim povečevanjem energijskega vnosa za preprečitev sindroma ponovnega hranjenja (ang. refeeding syndrom) (Kliegman in sod., 2011). Za dosego ustreznega prehranskega vnosa je potrebno najti najbolj primerno metodo, ki je odvisna od individualnih potreb otroka (White, 1995).

Zasledili smo različne ocene za načrtovanje energijskih potreb za dosego optimalne rasti, t. i. »dohitevalne rasti«, pri dojenčkih s FTT (MacLean in sod., 1980; Markowitz in Duggan, 2003; Claybour in Hampsey, 2008).

MacLean in sod. (1980) so za oceno individualnih energijskih potreb, ki bi v danem primeru zadoščale za dosego zelene telesne teže, uporabili sledečo formulo: Energijske potrebe za dosego dohitevalne rasti (kcal/kg) = $(120 \times \text{idealna teža za dejansko višino (kg)}) / \text{dejanska teža (kg)}$. Uporaba njihove ocene je v svetu uveljavljena, saj so jo že uporabljali ali priporočali tudi drugi avtorji (White, 1995; Peterson in sod., 1984). V zadnjih letih je bilo predlagano, da je bolj ustrezen izraz »pospeševalna rast« (Singhal in Lucas, 2004).

Claybour in Hampsey (2008) ugotavljata, da so potrebe po energiji za dosego pospeševalne rasti podhranjenih otrok povečane za 20 do 30 %. Povečane so tudi potrebe po beljakovinah. Potrebe so povišane, dokler ne dosežemo prvotne percentilne krivulje. Navajata sledečo oceno: Potrebe po energiji za pospeševalno rast (kcal/kg/dan) = $(\text{povprečne energijske potrebe za starost (kcal)} \times \text{idealna teža za višino (kg)}) / \text{dejanska teža (kg)}$. Tudi to oceno so že navajali starejši viri (Markowitz in Duggan, 2003). Orientacijske vrednosti za povprečen vnos energije za donošene zdrave dojenčke od rojstva do četrtega meseca starosti so v Sloveniji ocenjene na 94 kcal/kg telesne teže za dečke in 91 kcal/kg telesne teže za deklice (Referenčne vrednosti za vnos hranil, 2004).

Začetni hitri pospešeni rasti sledi postopno umirjanje rasti, dokler ni dosežena otroku lastna (prvotna) percentilna krivulja rasti (White, 1995; Peterson in sod., 1984). Neifertova je podala oceno za hitrost pridobivanja na telesni teži pri dojenčkih s FTT. Predvideva hitro začetno pridobivanje na telesni teži (t. j. 56 g/dan) v prvih nekaj dnevih dodajanja začetne formule, ki mu sledi enakomerno pridobivanje telesne teže približno 28 g/dan (Neifert, 2001).

Hitra diagnoza FTT in takojšnje zdravljenje in ustrezno ukrepanje sta bistvenega pomena za otroka in celotno družino (Sedmak in sod., 2004).

2.2 PRESNOVA LCP

LCP so večkrat nenasičene maščobne kisline, ki imajo 20 ali več C-atomov in vsaj eno dvojno vez več kot esencialni maščobni kislini linolna in α -linolenska. Med maščobnimi kislinami imajo še posebej pomembno vlogo maščobne kisline iz družin ω -6 in ω -3, kamor spadata ARK (C20:4n-6) in DHK (C22:6n-3) (Fidler Mis in Sedej, 2003). Omenjeni maščobni kislini se tvorita v celicah jeter iz linolne kisline (C18:2n-6; LK) in α -linolenske kisline (C18:3n-3; ALK) v seriji izmeničnih desaturacij (dodajanje dvojne vezi) in elongacij (dodajanje dveh ogljikovih atomov) (Sprecher in sod., 1995) (slika 3). Rastline lahko same tvorijo LK in ALK, medtem ko ju sesalci zaradi odsotnosti encimov, potrebnih za pretvorbo iz oleinske kisline (C18:1n-9; OK), ne moremo. To sta encima Δ 12- in Δ 15-desaturaza. Encim Δ 12-desaturaza omogoča vstavljanje dvojne vezi OK na mestu ω -6 in jo tako pretvori v LK, Δ 15-desaturaza pa z dodajanjem dvojne vezi na mestu ω -3 nadalje pretvori LK do ALK. Ker omenjeni pretvorbi pri sesalcih nista možni, štejemo LK in ALK za esencialni oz. starševski maščobni kislini. Prehranski LK in ALK se z verižnimi encimskimi reakcijami, in sicer z Δ 6-desaturacijo, elongacijo, Δ 15-desaturacijo, pretvorita v ARK in klopadonsko ali eikozapentaenojsko kislino (C20:5n-3; EPK). Encim Δ 5-desaturaza in nadaljne poti pretvorbe so poznane le v živalskih celicah. Derivata esencialnih maščobnih kislin ARK in DHK, sintetizirana po omenjeni poti presnove sta zato prisotna le v hrani živalskega izvora (meso, ribe in jajca) in ne v sadju, zelenjavi, oreščkih, semenih in izdelkih iz njih (Innis, 2003). Derivata Δ 6-desaturacije C24:5n-6 in C24:6n-3 sta prenesena na peroksisome, kjer z delno β -oksidacijo nastaneta C22:5n-6 in DHK (Sprecher, 2000).

Poleg omenjene presnovne poti se velik delež ALK oksidira v mitohondrijih in služi kot vir energije, le manjši del se vgradi v tkivne lipide: fosfolipide (PL), trigliceride (TG) in estre holesterola (CE). V nasprotju z ALK se v tkivne lipide vgradi večji delež LK (Innis, 2003; Fidler, 1997). Zaenkrat ni znano, ali v presnovno pot desaturacije vstopi dovolj ALK za vzdraževanje optimalne koncentracije DHK v živčevju in očesni mrežnici dojenčkov (Innis, 2003). Poleg tega je stopnja pretvorbe zaužitih esencialnih maščobnih kislin v LCP nizka, kar povzroča skrb, da je sinteza LCP zlasti v zgodnjem obdobju rasti in razvoja nezadostna (Nakamura in sod., 2001).

Pomanjkanje ω -6 maščobnih kislin se odraža v FTT in kožnih spremembah. LK ima pomembno vlogo v presnovi holesterola in maščob v koži, derivat dihomo- γ -linolenska kislina (C20:3n-6; DHGLK) pa je prekurzor eikozanoidov. ALK je prekurzor EPK in DHK. Ni znano, da bi ALK v presnovi imela še kako pomembnejšo funkcijo. S poskusi na živalih so ugotovili, da pomanjkanje ALK vodi v zmanjšanje DHK in sočasno povečanje ω -6 maščobnih kislin, predvsem C22:5n-6 v očesni mrežnici in možganih. Kljub podobno dolgi verigi ogljikovih atomov C22:5n-6 ni funkcionalna zamenjava za DHK (Innis, 2003).

DHK in ARK uporabljata za endogeno sintezo isto Δ 5- in Δ 6-desaturazo, kar lahko vodi v tekmovanje med LK in ALK kot tudi inhibicijo encimske poti z lastnimi derivati ali derivati nasprotne verige. Visok prehranski vnos EPK in DHK zmanjša tkivno ARK in tvorbo eikozanoidov iz nje v korist povečane tvorbe eikozanoidov iz ω -3 maščobnih kislin (Innis, 2003). Zato je za kritje potreb po ω -3 LCP in ω -6 LCP pomembna ne le zadostna

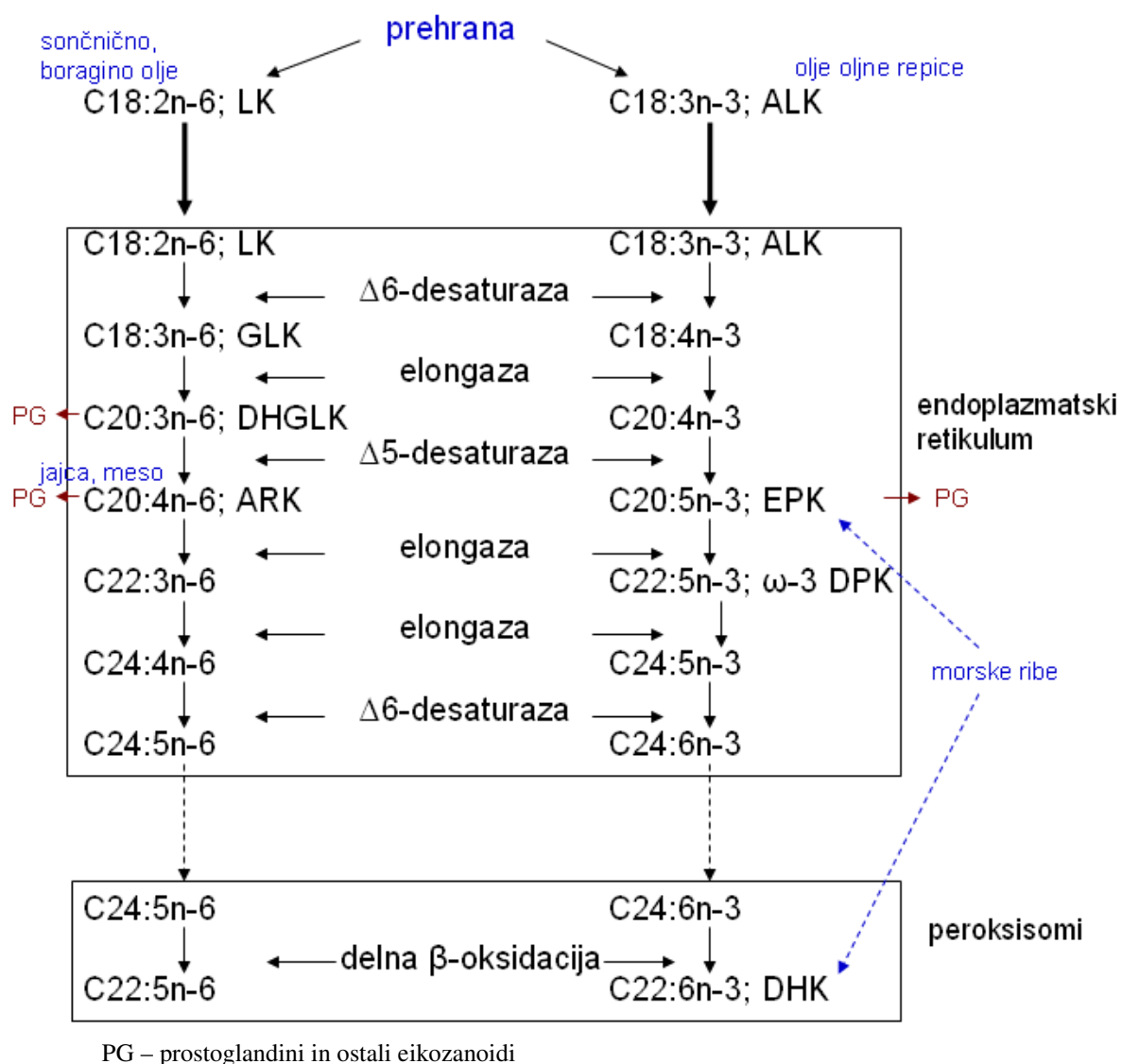
količina, temveč tudi pravo razmerje med LK in ALK oz. uravnotežen prehranski vnos ω -3 in ω -6 maščobnih kislin (Nakamura in sod., 2001).

2.2.1 Sinteza ω -6 LCP in ω -3 LCP pri dojenčkih – študije s stabilnimi izotopi

Zdravi novorojenčki že v prvem tednu po rojstvu zmorejo procese desaturacije in elongacije LK, le da so količine presnovnih produktov majhne. Do DHGLK se je pretvorilo 1,5 % in do ARK 1,4 % LK. Rezultati kažejo na to, da je bila pretvorba LK inhibirana z LCP iz humanega mleka, ki zagotavlja dovolj LCP za kritje novorojenčkovih potreb (Emken, 2001).

Tudi nedonošenčki z nizko porodno težo zmorejo sintezo ARK in DHK. Carnielli in sod. (1998) so nedonošenčke preko hranilne sonde v želodec kontinuirano 48 ur hranili s formulo, ki je vsebovala ^{13}C označeno LK in ALK v razmerju 10 : 1. Iz plazemskih PL so ocenili, da se je pretvorilo 6 % LK in 14 % ALK (Emken, 2001).

Demmelmair in sod. (1995) so izvedli raziskavo na donošenih dojenčkih starih 18 dni, kjer so uporabili redko uporabljen pristop z ^{13}C naravnega izvora. Dojenčkom so 4 dni namesto mleka ali začetne formule dodajali formulo na osnovi sončničnega olja. ^{13}C je v sončničnem olju naravno prisoten približno v količini 1,1 %. Tudi avtorji te raziskave so že po štirih dneh opazili porast bazalne ARK v plazemskih lipidih, kar kaže na aktivno endogeno sintezo ARK iz LK.



Slika 1: Shematski prikaz desaturacije in elongacije ω-6 in ω-3 maščobnih kislin (Innis, 2003: S2)
Figure 1: Schematic of ω-6 and ω-3 fatty acid desaturation and elongation (Innis, 2003: S2)

2.2.2 Presnova maščob pri podhranjenosti

Pri beljakovinsko-energijski podhranjenosti je presnova maščob motena. Kljub malo podatkom o zalogah in presnovi esencialnih maščobnih kislin pri beljakovinsko-energijsko podhranjenih so ugotovili nizke plazemske vsebnosti LK in funkcionalno pomembnih metabolitov skupaj z višjimi vsebnostmi NMK in neesencialnih ENMK. Omejene rezerve LK se ne presnavljajo pravilno (Koletzko in sod., 1986a).

Že Taylor (1971) je poročal o izrazitem znižanju LK in ARK v serumu nigerijskih otrok s kvašiorokor v primerjavi s kontrolno skupino zdravih dojenčkov. Tudi Naismith (1973) je pri dve do tri leta starih nigerijskih otrocih s kvašiorokor ugotovil znižanje LK in ARK v plazemskih lipidih ob sočasnem povečanju endogene DHGLK. Te spremembe je povezoval z dolgotrajnim prenizkim prehranskim vnosom LK. Otroci so imeli znake pomanjkanja esencialnih maščobnih kislin. Holman in sod. (1981) so pri argentinskih

otrocih z beljakovinsko-energijsko podhranjenostjo, starih 2 do 24 mesecev, ugotovili zmerno pomanjkanje LK v serumskih PL. Tudi hudo beljakovinsko-energijsko podhranjeni otroci s HIV so zaloge ARK in DHK izčrpali sorazmerno stopnji podhranjenosti (Decsi in sod., 1995b).

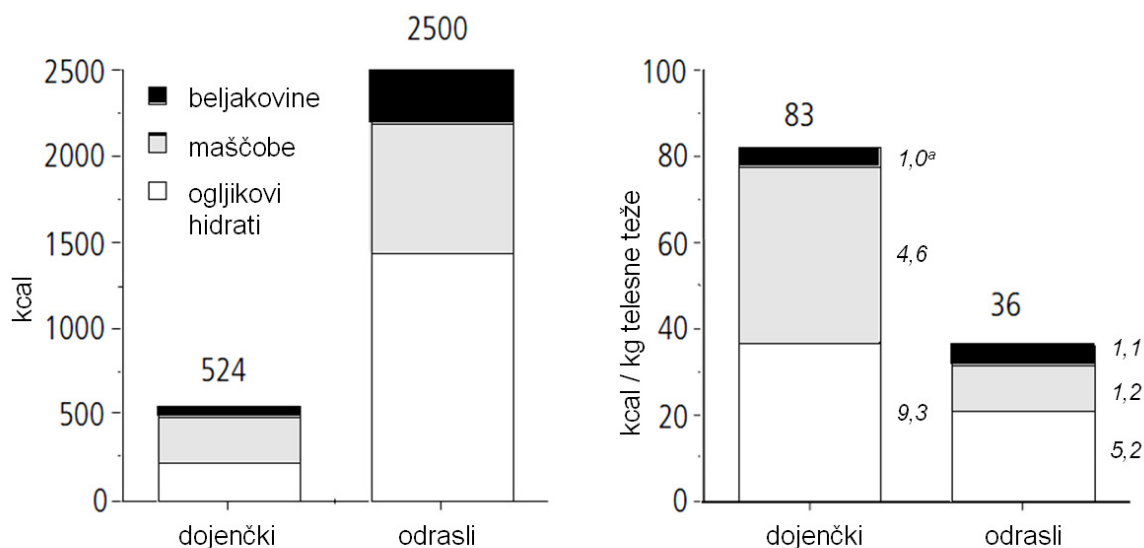
Pri podhranjenih otrocih je znižana aktivnost δ -6-desaturaze, ključnega encima za biosintezo ARK. Aktivnost encima ostane znižana tudi v zgodnji fazi okrevanja po prehranskem ukrepanju. Povišano razmerje LK/ARK kaže na nezadostno biosintezo ARK iz LK. Kronično podhranjen otrok ne more nadomestiti nezadostnih zalog esencialnih maščobnih kislin, saj je že porabil tudi večino telesnih zalog. Možne posledice pomanjkanja esencialnih kislin pri beljakovinsko-energijsko podhranjenih niso povsem razumljene. Esencialne maščobne kisline so prekurzorji prostoglandinov, tromboksanov in levkotrienov, zato njihovo pomanjkanje lahko vpliva na številne regulatorne procese (Koletzko in sod., 1986a) in se lahko odraža v kliničnih znakih kot so upočasnjena rast, zamaščenost jeter, luščenje kože, pogostejše okužbe, ekcematoiden izpuščaj... (Lord in Bralley, 1999).

2.3 PREHRANA DOJENČKOV

Maščobe predstavljajo pomemben vir energije v prehrani dojenčka. Vsebujejo življenjsko pomembne maščobne kisline, pospešujejo absorpcijo v maščobah topnih vitaminov (A, D, E, K), povečujejo energijsko gostoto obrokov, izboljšujejo vonj in okus hrane (Simmer in sod., 2008; Bratanič in sod., 2010) ter ohranjajo relativno majhen ozmotski tlak v humanem mleku (Fidler Mis, 2004).

Dojenčki v prvih mesecih življenja potrebujejo visoko energijsko gostoto, ki jo je mogoče doseči le z zadostnim vnosom maščob, saj lahko uživajo le omejene količine hrane (Referenčne vrednosti za vnos hranil, 2004).

Maščobe v humanem mleku predstavljajo približno 50 % energije in so glavni vir energije za dojenčka do šestega meseca starosti. Dojenčki zaradi hitre rasti v prvih mesecih življenja zaužijejo bistveno več hranil na kg telesne teže kot odrasel človek. Dojen dojenček v starosti 3–4 mesece v povprečju zaužije 2,3-krat več energije, približno enako količino beljakovin, 4-krat več maščob in 2-krat več ogljikovih hidratov na kilogram telesne teže kot odrasel človek (slika 2) (Michaelsen in sod., 2003).



^a – ležeče označene vrednosti na desni strani stolpcev prikazujejo vnos makrohranil, izraženo v g/kg telesne teže

Slika 2: Dnevni energijski vnos in viri makrohranil pri izključno dojenem dojenčku, starem 3 do 4 mesece (6,3 kg), in odraslem moškem (70kg) z zmerno telesno aktivnostjo (Michaelsen in sod., 2003: 47)
Figure 2: Daily energy intake and energy sources in an exclusively breastfed infant aged 3 - 4 months (6,3 kg) and an adult male (70kg) with moderate physical activity (Michaelsen et. al., 2003: 47)

Energijske potrebe dojenčka

Pri donošenem dojenčku se povprečna poraba energije v času od 1. do konca 3. tedna življenja podvoji z okoli 230 kJ ± 59 kJ/kg/dan (55 ± 14 kcal/kg/dan) na okoli 460 kJ/kg/dan (110 kcal/kg/dan). Tedaj dojenček doseže največjo hitrost rasti (več kot 2 cm telesne dolžine na mesec). Po 3. mesecu hitrost rasti upade in relativne potrebe po energiji, ki se nanašajo na telesno težo, se zmanjšajo (Referenčne vrednosti za vnos hranil, 2004). V času od 1. do 6. meseca življenja se jim povprečna poraba energije zniža z okoli 473 kJ/kg/dan (113 kcal/kg/dan) za dečke in 447 kJ/kg/dan (107 kcal/kg/dan) za deklice na okoli 337 kJ/kg/dan (80,6 kcal/kg/dan) za dečke in 341 kJ/kg/dan (81,5 kcal/kg/dan) za deklice (Butte, 2005). V evropskem prostoru je dnevna orientacijska vrednost za energijski vnos zdravih dojenčkov od rojstva do manj kot 4. meseca starosti 94 kcal/kg za dečke in 91 kcal/kg za deklice (Referenčne vrednosti za vnos hranil, 2004). Novejša priporočila SZO (FAO, 2004) priporočajo za starost 2 do 3 mesece 95 kcal/kg/dan za dečke in 94 kcal/kg za deklice. Kljub opozorilom, da so bila stara priporočila SZO (WHO, 1985a) precenjena za 10–32 % in da so potrebna prenove (Butte, 2005), jih še vedno navajajo tudi v sodobnih učbenikih (npr. Kliegman in sod., 2011). Po slednjih je bil priporočen dnevni energijski vnos dojenčkov od rojstva do manj kot 3. meseca starosti 115 kcal/kg in v starosti od 3. do 6. meseca 110 kcal/kg (Kliegman in sod., 2011).

O načrtovanju energijskih potreb za doseg pospeševalne rasti pri dojenčkih s FTT smo pisali v poglavju o rasti dojenčkov s FTT (poglavje 2.1).

Količina zaužitega humanega mleka

Količina humanega mleka je prvi dan po rojstvu zelo spremenljiva, okoli 25 g/dan, in se v prvem mesecu povečuje na 650 g/dan in z 800 g/dan doseže vrh okoli šestega meseca dojenja. Povprečna količina zrelega mleka je 750 ml (773g)/dan (Jensen, 1996; Referenčne

vrednosti za vnos hranil, 2004). Butte in sod. (2000) so pri polno dojenih donošenih dojenčkih v starosti treh mesecev poročali o 814 ± 177 g mleka/dan pri dečkih in 715 ± 111 g mleka/dan pri deklicah. Pri enako starih dojenčkih, hranjenih izključno s formulo, pa so pri dečkih izmerili 867 ± 159 in pri deklicah 809 ± 123 g zaužite formule/dan.

Povprečni dnevni vnos humanega mleka v razvitejših okoljih je pri štiri mesece starih dojenčkih v območju 711 do 856 g/dan, o izjemno visokih količinah (1238 ± 75 g/dan) so poročali le iz Avstralije (Butte in sod., 1992). O manjši količini zaužitega humanega mleka (479–619 g/dan) poročajo iz manj razvitih okolij Kenije, Indije in Mehike (WHO, 1985b). Masa dojenčka je pomembna determinanta količine zaužitega humanega mleka (Emmet in Rogers, 1997).

Energijske vrednosti iztisnjenega mleka močno nihajo, večinoma zaradi različne vsebnosti maščob. Povprečna energijska vrednost humanega mleka v srednjeevropskem prostoru je 69,04 kcal/100g humanega mleka (Souci in sod., 2000).

Priporočila za vnos LCP

Dnevno dobi polno dojen dojenček, ki popije 750 ml humanega mleka s povprečno vsebnostjo 40 g maščob/l, približno 3,0 do 4,5 g LK (Koletzko in sod., 1992). Priporočila za vnos makrohranil v prvih šestih mesecih temeljijo na povprečnem vnosu humanega mleka in so enaka ne glede na način hranjenja dojenčkov (izključno dojenje, dvovrstno hranjenje ali hranjenje z začetno formulo). V starosti 0 do manj kot 4 mesece naj skupne maščobe zagotavljajo 45–50 % dnevno potrebne energije, od tega naj bi 4 % energije zaužili z ω -6 esencialnimi maščobnimi kislinami in okoli 0,5 % energije z ω -3 esencialnimi maščobnimi kislinami. Razmerje med LK in ALK naj bi bilo med 5 : 1 in 15 : 1 (Referenčne vrednosti za vnos hranil, 2004). Konkretnega priporočila za količinski vnos LCP v priporočilih za prehrano dojenih dojenčkov nismo našli, v priporočilih za sestavo mlečnih formul pa je dodajanje LCP zaenkrat neobvezno.

Prehranski viri LCP pri dojenčkih

Dojenje je najustreznejša oblika hranjenja in je vir LCP za dojenčka (Koletzko in sod., 2001a). Če ima mati premalo mleka, ji najprej ponudimo vso strokovno podporo in ji svetujemo o ustrezni tehniki dojenja. Če dojenje kljub temu ni zadostno ali ni možno, se priporoča nadaljnje dojenje ter dodatek ali uvedba začetne formule po volji (Neifert, 2001; Sedej in sod., 2009).

Kvaliteta prehranskih maščob v zgodnjem obdobju življenja ima pomemben vpliv na sestavo telesa, diferenciacijo tkiv in funkcijo organov (Koletzko in Rodrigues-Palmero, 1999). Zadnja leta so se raziskovalci usmerili predvsem na raziskovanje pomena LCP, kot sta DHK in ARK, v prehrani dojenčkov. LCP so močno zastopane v strukturnih lipidih celičnih membran centralnega živčnega sistema in očesne mrežnice (Fleith in Clandinin, 2005).

LPC so nujno potrebne v zadnji tretjini nosečnosti in vse do drugega leta starosti, ko poteka hitra rast in razvoj človeških možganov. Pred rojstvom se zarodek z DHK in ARK, potrebnima za razvoj zarodka, oskrbuje skozi posteljico. Po rojstvu pa preko humanega mleka ali z LCP obogateno začetno formulo (Ryan in sod., 2010).

Vsebnost LCP v humanem mleku je v tesni povezavi z zalogami maščob v maščobnem tkivu mater (Martin in sod., 1993; Demmelmaier in sod., 2001; Del Prado in sod., 2001).

V maternici se zarodek oskrbuje z DHK in drugimi LCP od matere preko posebnega transportnega mehanizma (Larque in sod., 2002). Med nosečnostjo vsebnost ARK in DHK v tkivih plodu enakomerno narašča (Bokor in sod., 2007). LCP se v njem kopičijo zlasti v zadnji tretjini nosečnosti (Koletzko in Rodrigues-Palmero, 1999). Prenos LCP od matere k plodu je med krajšo nosečnostjo pri nedonošenčkih manjši, običajno v prvih mesecih po rojstvu zaužijejo tudi manj humanega mleka kot starostno primerljivi donošeni dojenčki (Genzel-Boroviczeny in sod., 1997). To bi lahko vodilo v večje LCP zaloge pri materah, kar bi lahko pojasnilo višje vsebnosti LCP v materinem mleku nedonošenčkov v primerjavi z donošenimi dojenčki (Kovács in sod., 2005).

Razpoložljivost LCP za razvoj novorojenčka je odvisna: od dojenčkovih LCP zalog ob rojstvu, od prehranskega vnosa LCP in zmožnosti lastne sinteze iz prekursorških maščob (Bokor in sod., 2007).

2.3.1 Humano mleko

2.3.1.1 Vsebnost maščob

Povprečna vsebnost maščob v zrelem humanem mleku je zelo različna in znaša v povprečju 3,8–3,9 g/100 ml (Koletzko in sod., 2001b). Tekom prvih štirih tednov laktacije se povečuje (Koletzko in Rodrigues Palmero, 1999) in znaša 4. teden po porodu 4,0 % (Jensen, 1996) ter 6., 12. in 16. teden po porodu 4,1 % , 4,6 % in 5,2 % (Clark in sod., 1982). Narašča tudi med podojem in je ob koncu podoja 2- do 3-krat višja kot ob začetku podoja (Koletzko in sod., 2001b). Odvisna je tudi od časovnega intervala med dvema podojema; dlje časa kot mine med dvema podojema, manjša je vsebnost maščob v naslednjih podojih (Jensen in sod., 1992). Poleg naštetega so še drugi dejavniki, ki vplivajo na vsebnost maščob in maščobno-kislinsko sestavo humanega mleka, npr. prehranski status, genetske značilnosti, prehranski vnos matere in morebitne presnovne motnje matere (Koletzko in Rodrigues Palmero, 1999). Na analitsko določeno vsebnost maščob vplivajo tudi čas odvzema, metoda in način zbiranja vzorcev (Clark in sod., 1982).

Z naraščanjem vsebnosti maščob v humanem mleku, se razmerje med membranskimi lipidi (fosfolipidi in estri holesterola) ter lipidi jedra (trigliceridi) manjša. Večja kot je skupna vsebnost maščob, večji delež predstavlja trigliceridna frakcija humanega mleka. Pretežni del maščob humanega mleka sestavljajo trigliceridi (≥ 98 % celokupnih maščob), sledijo fosfolipidi (okrog 0,7 %) in holesterol (okrog 0,5 %). Sveže mleko vsebuje tudi sledi produktov lipolize, ki vključujejo proste maščobne kisline, mono- in digliceride (Koletzko in sod., 2001b).

Večji del maščob humanega mleka izhaja iz prehrane matere in njenih maščobnih rezerv. Del maščob nastane v mlečni žlezi z endogeno sintezo iz glukoze (Koletzko in sod., 2001b).

2.3.1.2 LCP sestava humanega mleka

Maščobno-kislinska sestava humanega mleka je odvisna od mnogih dejavnikov, kot so: prehrana mater in njihov prehranski status med nosečnostjo in dojenjem, faze dojenja (kolostrum, prehodno, zrelo mleko), vsakodnevni ritem, razlike med dojkama, boleznimi matere, ki vplivajo na presnovo maščob in številni drugi dejavniki (Bokor in sod., 2007). Odgovora na vprašanje, ali zavisi tudi od gestacijske starosti dojenčka (donošen ali nedonošen), še ni.

Maščobne kisline pridejo v mlečno žlezo v obliki hilomikronov (iz prehrane), lipoproteinov nizke gostote (iz jeter) in kot kompleksi z albumini (iz maščobnega tkiva) (Demmelmaier in sod., 1998). Hachey in sod. (1987) so ugotovili, da po 72 urah le 29 % dolgoveričnih maščobnih kislin v humanem mleku izvira iz prehrane matere, 59 % iz maščobnega tkiva in jeter ter okoli 10–12 % srednjeveričnih NMK iz endogene sinteze iz glukoze v mlečni žlezi. V prehrani doječih mater v tej raziskavi je bil odstotek energije iz maščob (t. j. 27 %) manjši, kot je v običajni prehrani ameriških doječih mater (40 %), beljakovine so predstavljale 17 % in ogljikovi hidrati 56 % energije. V novejši raziskavi so ugotovili, da je le 30 % LK v humanem mleku izviralo neposredno iz prehrane mater, pri čemer je le okoli 11 % DHGLK in ne več kot 1,2 % ARK izviralo iz endogene sinteze prehranske LK. Rezultati kažejo na to, da maščobno tkivo mater pomembno prispeva k sestavi materinega mleka (Demmelmaier in sod., 1998). Zato so dnevna nihanja v prehranskem vnosu maščobnih kislin do neke mere presnovno uravnana in vsebnost VNMK, predvsem vsebnost LCP v humanem mleku, kot tudi oskrba dojenčkov z njimi preko mleka, ostaja relativno stabilna. To bi lahko bila pomembna biološka prednost (Koletzko in Rodrigues Palmero, 1999; Koletzko in sod., 2001b; Larque in sod., 2002).

Maščobe zrelega materinega mleka povprečno vsebujejo 10 do 15 % LK in > 1 % ALK, vključno z njunimi derivati z daljšimi verigami.

Raziskave, objavljene v letih med 1997 in 2002, kažejo, da je mleko mater, ki sledijo t. i. "zahodnemu tipu prehrane" na splošno sestavljeno iz 10 % do 17 % LK, 0,8 % do 1,4 % ALK, 0,3 % do 0,7 % ARK in 0,1 % do 0,5 % DHK (Innis, 2003).

V humanem mleku je med VNMK z najvišjim odstotkom zastopana LK (Koletzko in sod., 2001b). Sauerwald in sod. (2001) ugotavljajo, da se je vsebnost LK v humanem mleku v zadnjih desetletjih podvojila, kar je lahko odraz sprememb v prehrani zahodnih držav v smeri višjega vnosa ω -6 maščobnih kislin.

Porušeno razmerje prekurzorskih maščobnih kislin LK in ALK v prehrani mater lahko privede do neravnovesja pri pretvorbi ω -3 in ω -6 maščobnih kislin. Neuravnoteženo razmerje med n-6 in n-3 maščobnimi kislinami lahko zaradi tekmovanja maščobnih kislin za skupni encimski sistem neugodno vpliva na maščobno-kislinsko sestavo rastočih tkiv in na ravnotežje antagonistično učinkujočih eikozanoidov (Referenčne vrednosti za vnos hranil, 2004). Porušeno razmerje LK/ALK lahko posega v normalno delovanje imunskega sistema (Sauerwald in sod., 2001).

Prevladujoča ω -6 LCP je ARK, ω -3 LCP pa DHK. Odstotek ω -6 LCP v humanem mleku je večinoma vsaj 10-krat nižji od odstotka LK (Sauerwald in sod., 2001). Koletzko in sod.

(2001b) so ugotovili, da je bil profil VNMK in LCP v humanem mleku v primerjanih raziskavah kljub velikim razlikam v bivalnih pogojih pred dvajsetimi leti presenetljivo podoben. Na drugi strani poročajo o veliki variabilnosti zlasti v vsebnosti DHK v odvisnosti od prehrane in regije (Ruan in sod., 1995; Smit in sod., 2002; Yuhas in sod., 2006). Rezultati analiz kažejo na večjo variabilnost DHK kot ARK (Yuhan in sod., 2006; Brenna in sod., 2007).

Po podatkih zadnje metaanalize je v svetu povprečna vsebnost ARK v humanem mleku $0,47 \pm 0,13$ ut. % in DHK $0,32 \pm 0,22$ ut. % (Brenna in sod., 2007). Koncentracije ARK in DHK so vse od kolostruma do enega leta dojenja relativno stabilne. Gibljejo se v območju 12 do 16 mg/dcl za ARK in 6 do 8 mg/dcl za DHK (Marangoni in sod., 2000).

Kanadsko arktično področje, Japonska, Dominikanska republika, Filipini in Kongo so področja z največjo vsebnostjo DHK (0,6–1,4 ut. %) v humanem mleku na svetu. Vsa področja, razen Konga, so obalna ali predstavljajo otočja z visokim prehranskim vnosom morske hrane. Področja z izmerjeno najnižjo vsebnostjo DHK (0,06 – 0,14 ut. %) v humanem mleku pa so Pakistan, podeželska področja južne Afrike, Kanada, Nizozemska in Francija, področja, kjer običajno uživajo manj morske hrane (Brenna in sod., 2007).

Prehranjevalne navade severno- in južnoevropskih držav imajo le neznamenit vpliv na LCP v zrelem humanem mleku. Razmerje ω -6 LCP/ ω -3 LCP je bilo v vseh raziskavah med leti 1980 do 1992 med 1,6 in 4 (Koletzko in sod., 1992).

Pričakovati gre, da slaba oskrba z LCP preko humanega mleka neugodno prispeva k številnim kliničnim težavam dojenčkov, ki so povezane z beljakovinsko-energijsko podhranjenostjo. V zrelem mleku pakistanskih mater podhranjenih dojenčkov so ugotovili nižji odstotek vseh ω -3 LCP, LK in večine ω -6 LCP (C20:2n-6, DHGLK in ARK) v primerjavi z mlekom kontrolne skupine zdravih dojenčkov. Avtorji so razlike pripisovali izrazitim razlikam v prehrani doječih mater (Smit in sod., 2000a).

2.3.2 Začetna formula

Začetne formule za dojenčke so živila za posebne prehranske namene za dojenčke v prvih mesecih starosti, ki same po sebi popolnoma zadovoljujejo prehranske potrebe dojenčkov do uvedbe ustrezne dopolnilne hrane (Pravilnik o začetnih..., 2007). Sestava začetne formule mora ustrezati standardom (Koletzko in sod., 2005b) in biti usklajena z lokalnimi pravilniki (Pravilnik o začetnih..., 2007) in priporočili pediatrov (Sedmak in sod., 2010). Zgodovinsko gledano je bil pogoj za ustreznost začetne formule le čimvečja podobnost z materinim mlekom po sestavi, kar pa ni ustrezen pokazatelj varnosti in primernosti začetne formule (Sedmak in sod., 2010).

2.3.2.1 Priporočila za prehranski vnos maščob in LCP z začetno formulo

Priporočila za prehranski vnos maščob in LCP z začetno formulo so povzeta po standardih Evropskega združenja za pediatrično gastroenterologijo, hepatologijo in nutricionistiko (ESPGHAN) (Koletzko in sod., 2005b; Sedmak in sod., 2010) ter veljavnem pravilniku, ki

določa priporočeno sestavo začetnih formul (Pravilnik o začetnih..., 2007). Začetna formula naj vsebuje:

- 4,4–6,0 g maščob/100 kcal

Priporočena vsebnost maščob zagotavlja 40–50 % energije in posnema vsebnost maščob v zrelem humanem mleku.

- 300–1200 mg LK/100 kcal

2,7 % energijskega vnosa oz. 300mg/100kcal LK je minimalna količina esencialne LK, ki zadostuje za kritje dnevnih potreb. Ker prevelike količine LK lahko neugodno vplivajo na presnovo lipoproteinov, imunost, ravnotežje eikozanoidov in oksidativni stres, je potrebna tudi zgornja meja vsebnosti LK v začetni formuli.

- 50–240 mg ALK/100 kcal

Za kritje potreb zadošča 50 mg/100 kcal ALK, kar predstavlja 0,45 % dnevnega energijskega vnosa. ALK je prekurzor DHK, katere razpoložljivost je povezana z razvojem dojenčkov. Vendar v določenih okoliščinah visok vnos ALK lahko poveča tveganje za peroksidacijo maščob. Zmanjša lahko tudi stabilnost začetne formule.

- LK : ALK = 5 : 15

Obe starševski esencialni kislini pri biosintezi LCP tekmujeta za iste encime, predvsem za encim $\Delta 6$ -desturazo (Innis, 2003). Ustrezno razmerje LK/ALK je potrebno za zagotavljanje ravnotežja derivatov presnove, LCP in eikozanoidov (Koletzko in sod., 2005b). Porušeno razmerje LK/ALK lahko posega v normalno delovanje imunskega sistema (Sauerwald in sod., 2001). Upoštevanje tega razmerja hkrati določa zgornjo mejo ALK, ki sicer ni poznana.

- dodajanje LCP je neobvezno

Mednarodna skupina strokovnjakov pri ESPGHAN podpira neobvezno dodajanje LCP v začetne formule, vendar naj DHK ne preseže 0,5 % skupne vsebnosti maščob, ARK naj bo vsaj toliko kot DHK, pri čemer EPK ne sme presegati vsebnosti DHK (Koletzko in sod., 2005b). Zgornja meja dodatka ω -3 LCP je 1 % in ω -6 LCP 2 % skupne vsebnosti maščob. ARK naj ne presega 1 % skupne vsebnosti maščob (Pravilnik o začetnih..., 2007).

Ribja olja, jajčni lipidi, olja morskih alg ter olja plesni so bili proučevani kot možni viri LCP v formulah za dojenčke. Ribja olja vsebujejo DHK in različne količine EPK, kar zavisi od vrste olja. Prevladujoča LCP v oljih morskih alg je DHK in v oljih plesni ARK. Jajčni lipidi ali PL vsebujejo obe, DHK in ARK (Ramirez in sod., 2001). Olja enoceličnih organizmov (kvasovke, plesni in evkariontske alge) so primerna kot prehranski dodatek ali dodatek k mlečni formuli in so v kombinaciji s stabilnimi izotopi nenadomestljiva za študij presnovnih poti (Fidler in sod., 1999).

2.3.2.2 Dodajanje LCP v začetne formule

Za sedaj se rutinsko dodajanje LCP v začetne formule za izboljšanje gibalnega in nevrološkega razvoja ter razvoja vida donošenim dojenčkom po izsledkih raziskav ne priporoča (Simmer in sod., 2008). Raziskave niso pokazale niti koristnih niti škodljivih učinkov dodatka LCP v začetno formulo na telesno težo, dolžino in obseg glave do starosti treh let. Rezultati so bili isti, ne glede vrsto, koncentracijo in čas dopolnjevanja z LCP.

Nedavna metaanaliza, ki temelji na velikem vzorcu otrok (870), podaja tehtne dokaze, da dodajanje LCP v formule nima kliničnega pomena za nevrološki razvoj donošenih dojenčkov v starosti 18 mesecev (Beyerlein in sod., 2010). Večina raziskav za oceno zgodnjega nevrološkega razvoja uporablja oceno po Bayley-u. V predhodnem preglednem članku (Simmer in sod., 2008) pa so to oceno uporabili v starosti 3, 6, 12, 18 in 24 mesecev. Avtorji raziskav so nekatere druge teste izvajali tudi pri kasnejši starosti otrok. Zgodnjemu nevrološkemu razvoju pri dojenčkih, ki so bili eno leto dohranjevani s F-LCP, v primerjavi z dojenimi dojenčki, so po pregledani literaturi najdlje sledili Auestad in sod. (2003). Z oceno po Stanford-Binetu so pri otrocih, starih 39 mesecev, našli razlike v številu točk, doseženih pri oceni inteligenčnega količnika.

Avtorji starejše metaanalize o vplivu dodajanja LCP v začetne formule na parametre rasti donošenih dojenčkov podobno ugotavljajo, da dodajanje LCP prav tako nima vpliva na parametre rasti (Makrides in sod., 2005). Slednja temelji še na večjem vzorcu, 1846 dojenčkov zajetih v 14-ih izvirnih kliničnih raziskavah. Avtorji sicer niso ugotovili škodljivih učinkov na parametre rasti donošenih dojenčkov ob sočasnem dodajanju DHK in ARK v začetno formulo kot tudi ne ob dodatku samo ω -3 LCP. Vendar pa so v starejših raziskavah z dodatkom ribjega olja z visoko vsebnostjo EPK brez sočasnega dodatka ω -6 LCP ugotovili zaviralen vpliv na parametre rasti nedonošenih dojenčkov (Carlson in sod., 1996a; Makrides in sod., 2005; Schultze in sod., 2011). Zaenkrat ni dovolj dokazov o prednostih in varnosti dodajanja DHK v začetne formule v več kot 0,5 % skupne vsebnosti maščob ali dodajanja DHK brez sočasnega dodatka ARK (Koletzko in sod., 2005b). Starejše priporočilo evropskih strokovnjakov je definiralo delež v začetno formulo za donošene dojenčke dodanih LCP, in sicer 0,2 ut. % DHK in 0,35 ut. % ARK (Koletzko in sod., 2001a). Ker se starejše priporočilo ne izključuje z novejšim, mnogi evropski proizvajalci mlečnih formul vztrajajo pri stari sestavi mlečnih formul.

Hoffman in sod. (2009) se strinjajo z nekaterimi skupinami strokovnjakov, ki priporočajo vsaj 0,3 ut. % DHK z vsaj 0,3 ut. % ARK v prehrani dojenčkov. V primerjavi raziskav so ugotovili, da so imele večjo verjetnost za izkazane ugodne učinke tiste klinične raziskave, ki so se v količini dodane DHK približale povprečni vsebnosti DHK v humanem mleku (t. j. 0,32 ut. %). Nekateri klinični dokazi kažejo na to, da je razmerje ARK : DHK večje kot 1 : 1 povezano z boljšim razvojem intelektualnih procesov.

Zaenkrat torej ni dovolj dokazov, da bi se priporočilo obvezno dodajanje DHK in ARK v začetne formule za donošene in nedonošene dojenčke (Simmer in sod., 2008; Connor in sod., 2009; Schulzke in sod., 2011).

2.4 VPLIV LCP NA PRE- IN POSTNATALNI RAZVOJ NOVOROJENČKOV

LCP imajo pomembno vlogo v razvoju vida in v razvoju intelektualnih procesov dojenčka (Koletzko in Rodriguez-Palmero, 1999), pripisujejo jim tudi vse večjo vlogo v kasnejšem razvoju intelektualnih procesov otrok (Ryan in sod., 2010).

DHK in ARK sta glavni LCP v možganih. Obe maščobni kislini sta koncentrirani v membranskih lipidih sivine in v celicah očesne retine. EPK, tudi pomembna predstavnik LCP, se v možganih in retini ne nahaja v pomembnih količinah. Pripisujejo pa ji pomembno vlogo v preprečevanju srčno-žilnih obolenj in ohranjanju imunske funkcije.

LCP so še posebej pomembne v času hitrega razvoja možganov v zadnji tretjini nosečnosti in v času hitre rasti vse do drugega leta starosti (Ryan in sod., 2010). V maternici se zarodek oskrbuje z DHK od matere preko posebnega transportnega mehanizma (Larque in sod., 2002). Dojenčki imajo zaradi hitrega razvoja po rojstvu visoke potrebe po LCP za tvorbo pomembnih celičnih membranskih struktur v centralnem živčnem sistemu (Ryan in sod., 2010).

LCP so integralne sestavine vseh celičnih membran. V zgodnjem postnatalnem razvoju so v relativno velikih količinah vgrajene v strukturnih lipidih možganov in očesne mrežnice. Nekateri LCP (DHGLK, ARK in EPK) so prekursorji za sintezo prostoglandinov in ostalih eikozanoidov (slika 1). Le-ti imajo pomembne bioregulacijske vloge in sodelujejo v številnih celičnih in tkivnih procesih (Koletzko in Rodrigues-Palmero, 1999).

DHK vpliva na funkcijo celičnih membran, kot so fluidnost, aktivnost membransko vezanih encimov in nevroreceptorjev, funkcijo ionskih kanalčkov in prenos signala preko membrane (Innis, 2008; Ryan in sod., 2010). Raziskave na primatih so pokazale, da pomanjkanje ω -3 LCP vodi v znižanje nivoja DHK v možganih, zmanjša dopamine in serotonine, zmanjša velikost živčnih celic, poslabša funkcijo vida, poslabša vidno pomnjenje, ogroža učenje (Makrides in sod., 2010).

2.4.1 Vpliv dodatka LCP na rast in razvoj donošenih dojenčkov

Potreba po LCP se močno povečajo v zadnji tretjini nosečnosti in v prvem letu življenja. Plod se med nosečnostjo oskrbuje z LCP preko posteljice in po rojstvu preko humanega mleka in/ali z LCP obogateno začetno formulo (Ryan in sod., 2010).

Standardne formule (F) za dojenčke vsebujejo le prekursorski esencialni maščobni kislini LK in ALK, iz katerih dojenčki sintetizirajo lastno ARK in DHK. Visoka koncentracija LK v nekaterih standardnih formulah lahko inhibira vgrajevanje endogenih LCP. Dojenčki hranjeni s F imajo bistveno manj DHK in ARK v eritrocitih (Simmer in sod., 2008) in nižjo raven LCP v možganski skorji kot njihovi dojeni vrstniki (Farquharson in sod., 1995). Zato bi lahko bile formule le z LK in ALK premalo učinkovite za pokrivanje potreb po esencialnih maščobnih kislinah.

Iz raziskav na beljakovinsko-energijsko podhranjenih je znano, da pomanjkanje esencialnih maščobnih kislin lahko prispeva h kliničnim znakom podhranjenosti, npr. luščenju kože, izgubi las, večji dovzetnosti za okužbe, zamaščenosti jeter, slabšemu celjenju ran, psihomotoričnim spremembam in upočasneni rasti (Koletzko in sod., 1986a). Omenjeni klinični znaki so bili ob pomanjkanju esencialnih maščobnih kislin opaženi tudi pri normalno hranjenih dojenčkih in otrocih (Koletzko in sod., 1986a) kot tudi pri odraslih (Lord in Bralley, 1999). Marin in sod. (2000) so po prehranskem ukrepanju pri zmerno beljakovinsko-energijsko podhranjenih donošenih dojenčkih (-2 do -3 SOP teža za starost) ugotovili, da so dojenčki hranjeni s F-LCP dosegli podobno funkcijo vida kot kontrolna skupina podhranjenih dojenčkov, ki je bila polno dojena. V skupini hranjeni s F so izmerili slabšo funkcijo očesne mrežnice.

Zadnje desetletje nekateri proizvajalci začetnim formulam za donošene dojenčke dodajajo LCP. Z LCP obogatene formule (F-LCP) pogosto tržijo tako, da izpostavljajo ugodne vplive na razvoj dojenčka. Leta 2005 noben izmed štirih na slovenskem trgu prisotnih proizvajalcev začetnih formul za donošene dojenčke v formuli še ni imel dodanih LCP. Danes lahko na slovenskem trgu kupimo 14 različnih osnovnih začetnih formul za donošene dojenčke osmih proizvajalcev. Trije izmed njih, z velikim tržnim deležem, imajo dodane LCP (priloga A1). Stroški proizvodnje F-LCP so višji kot F.

Zato je bilo v zadnjem desetletju izvedenih veliko kvalitetnih randomiziranih kontroliranih raziskav, ki so proučevale vpliv dodatka LCP standardnim formulam na funkcijo vida, razvoj intelektualnih procesov in rast donošenih dojenčkov (Simmer in sod., 2008).

Dodatek LCP začetni formuli izboljša funkcijo vida (Birch in sod., 1998; Birch in sod., 2005) in razvoj intelektualnih procesov donošenih dojenčkov (Birch in sod., 1998). Willats in sod. (1998) so ugotovili, da so bili dojenčki hranjeni s F-LCP pri starosti 10 mesecev bolj spretni pri reševanju problemov kot kontrolna skupina hranjena s F.

Vendar mnoge druge raziskave teh pozitivnih vplivov bogatenja začetnih formul z LCP na funkcijo vida in nevrološki razvoj niso podprle (Carlson in sod., 1996b; Agostoni in sod., 1997; Auestad in sod., 1997; Lucas in sod., 1999; Morris in sod., 2000; Agostoni in sod., 2000; Auestad in sod., 2001; Lucas in sod., 2002; Auestad in sod., 2003). Razlogi za neskladne rezultate niso poznani. Nekateri avtorji predlagajo višjo koncentracijo LCP v začetni formuli kot tudi daljše obdobje dodajanja (Uauy in sod., 2003; Birch in sod., 2005). Vendar pa tudi raziskave z enoletnim dodajanjem LCP niso dokazale pozitivnih vplivov bogatenja začetnih formul z LCP (Auestad in sod., 1997; Auestad in sod., 2001; Auestad in sod., 2003). Vsebnost LCP v slednjih raziskavah je bila nižja kot v raziskavi Birch in sod. (2005), kjer so začetno formulo, obogateno z 0,36 % DHK in 0,71 % ARK, dodajali 54 tednov.

Polovica raziskav na otrocih je potrdila, da imajo višje dodane koncentracije LCP (> 190 mg/dan) v prehrano predšolskih in šolskih otrok ugoden vpliv na razvoj intelektualnih procesov (Ryan in sod., 2010). McNamara in sod. (2010) so ugotovili, da dodajanje 400 ali 1200 mg/dan DHK otrokom spremeni aktivacijo levega frontalnega dela možganske skorje med kontinuiranim reševanjem daljših nalog. To je hkrati prva raziskava na otrocih, ki ugotavlja direktno povezavo med DHK in delovanjem možganov.

Mnoge izmed teh raziskav so primerjale tudi parametre rasti donošenih dojenčkov, hranjenih s F-LCP (v kateri so bile prisotne tako ω -3 kot tudi ω -6 maščobne kisline) ali s F (Makrides in sod., 1995; Auestad in sod., 1997; Jørgensen in sod., 1998; Birch in sod., 1998; Lucas in sod., 1999; Makrides in sod., 1999; Auestad in sod., 2001). Ne glede na različna razmerja ω -3 LCP in ω -6 LCP ter različne vire LCP, ki so bile v F-LCP, niso v prav nobeni izmed raziskav našli vpliva prehrane na parametre rasti. Parametri rasti so bili podobni v različnih časovnih točkah meritev do največ drugega leta starosti (Makrides in sod., 2005). Zgolj ena izmed mnogih raziskav je ugotovila slabše pridobivanje na telesni teži po hranjenju s formulo z visoko vsebnostjo ALK (ω -3), vendar le ob meritvi v četrtem mesecu starosti, ne pa tudi kasneje (Fleith in Clandinin, 2005). V večini raziskav so bili

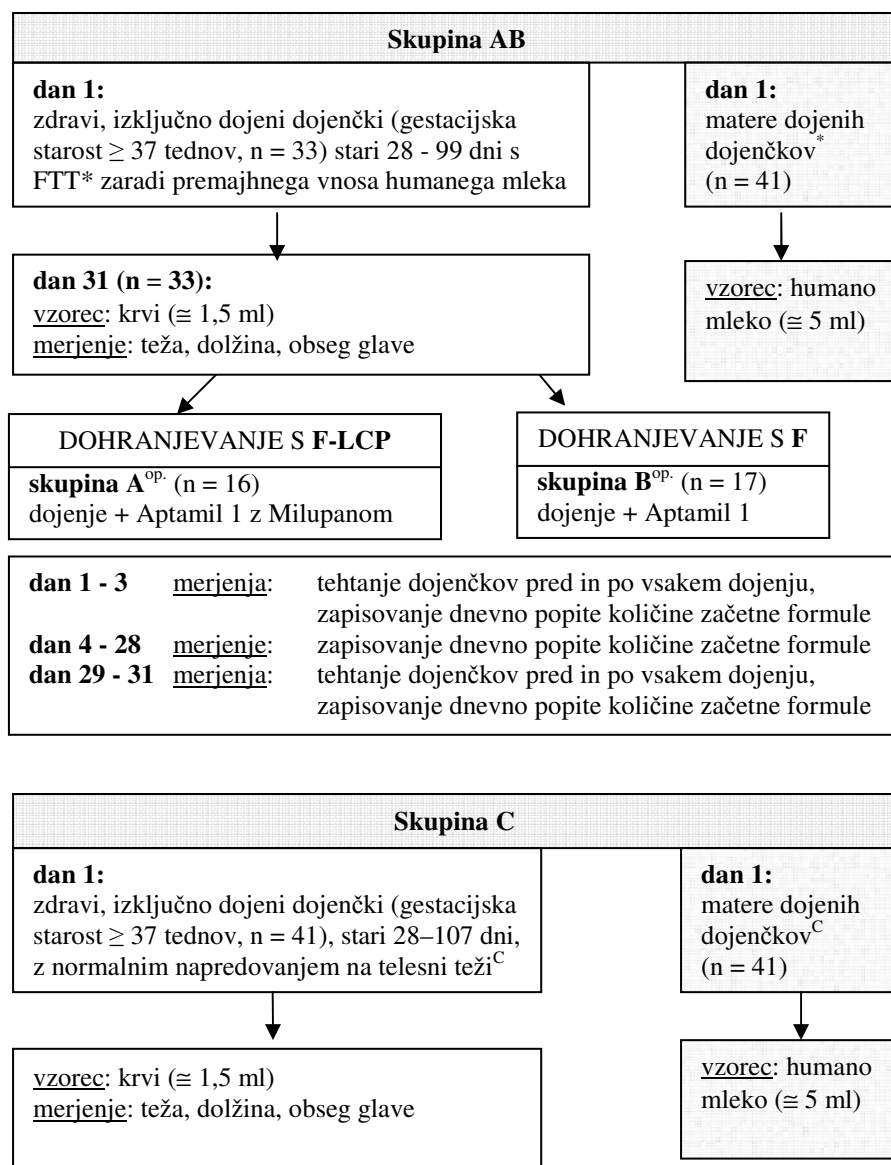
parametri rasti predstavljeni kot antropometrični del niza ostalih proučevanih podatkov in niso bili načrtovani posebej za spremljanje vpliva prehrane na izbrane parametre rasti.

Nedavna primerjava raziskav na donošenih dojenčkih, ki so proučevale vplive obogatitve začetnih mlek z DHK in ARK je pokazala, da sprememba v količini dodane DHK vpliva na izide raziskav (Hoffman, 2009). Tiste klinične raziskave, ki so se v količini dodane DHK približale povprečni svetovni oceni DHK v humanem mleku (t. j. 0,32 ut. %), so z večjo verjetnostjo izkazale ugodne učinke. Nekateri klinični dokazi kažejo na to, da je razmerje ARK : DHK večje kot 1 : 1 povezano z boljšim razvojem intelektualnih procesov. Zaenkrat ni dovolj dokazov, da bi se priporočilo obvezno dopolnjevanje začetnih formul z DHK in ARK za donošene in nedonošene dojenčke (Simmer in sod., 2008; Connor in sod., 2009; Schulzke in sod., 2011). Novejše raziskave so zato usmerjene v določitev optimalne količine formulam dodanih LCP kot tudi iskanje odgovora, kdaj uvesti z LCP obogateno formulo.

3 MATERIAL IN METODE DELA

3.1 POTEK RAZISKAVE

Slika 3 shematsko prikazuje potek raziskave.



* – ≤ 10 . percentilom za starost glede na Euro-Growth percentilno krivuljo in/ali < 40 % pričakovanega prirasta telesne teže za starost (Haschke in sod., 2000)

^C – ≥ 50 . percentilom za starost glede na Euro-Growth percentilno krivuljo (Haschke in sod., 2000), hospitalizirani zaradi gastroezofagealnega refluksa brez zapletov, teža ob rojstvu primerna gestacijski starosti, brez znakov težav s požiranjem ali dihanjem

^{op} – dvojno slepa randomizacija

Slika 3: Shematski prikaz poteka raziskave (Fidler in sod., 2000a)

Figure 3: Schematic flow chart of research (Fidler in sod., 2000a)

3.1.1 Načrt raziskave

Predstavljena raziskava je del projekta »Vpliv mlečnih nadomestkov na maščobno-kislinski status nedohranjenih dojenčkov«, ki ga je financiralo Ministrstvo za šolstvo, znanost in šport (L3-2091) (Fidler in sod., 2000a). Potek raziskave je odobrila Komisija Republike Slovenije za medicinsko etiko Medicinske fakultete Univerze v Ljubljani. Vse sodelujoče mame so prejele pisno pojasnilo o poteku raziskave in so po pogovoru s pediatrom dale pisno soglasje za sodelovanje v raziskavi. Praktični del raziskave se je v celoti izvajal na Pediatrični kliniki. Klinični del raziskave je potekal na Kliničnem oddelku za gastroenterologijo, hepatologijo in nutricionistiko pod vodstvom prim. Marjete Sedmak. V namen raziskave smo v laboratorij Centra za nutricionistiko, ki deluje v okviru Službe za nutricionistiko, dietetiko in bolniško prehrano pod vodstvom doc. dr. Nataše Fidler Mis, vpeljali metodi za določanje maščobno-kislinske sestave posameznih frakcij plazemskih lipidov in lipidov zrelega humanega mleka (Fidler Mis in Sedej, 2003). O preliminarnih rezultatih smo poročali na strokovnem srečanju v Celju (Sedmak in sod., 2004; Sedej in sod., 2004; Širca Čampa in sod., 2004), na mednarodnem letnem srečanju nemškega, avstrijskega in švicarskega združenja za prehransko medicino in klinično prehrano »Ernährung 2004« v Münchnu (Fidler Mis in sod., 2004a) in na 2. svetovnem kongresu pediatrične gastroenterologije, hepatologije in prehrane »2nd WCPGHAN 2004« v Parizu (Fidler Mis in sod., 2004b, Fidler Mis in sod., 2004c) ter v knjigi Early nutrition and later consequences: new opportunities (Fidler Mis in sod., 2005). Rezultate smo delno predstavili v Sloveniji na simpoziju z mednarodno udeležbo v Laškem (Širca Čampa in sod., 2005), na prvem slovenskem kongresu klinične prehrane v Mariboru (Sedej in sod. 2005a; Sedej in sod., 2005b) in na strokovnem srečanju v Laškem (Sedmak in sod., 2008) ter v tujini na 39. srečanju ESPGHAN v Dresdnu (Sedej in sod., 2006; Širca Čampa in sod., 2006) in 40. srečanju ESPGHAN v Barceloni (Sedej in sod., 2007a, Sedej in sod., 2007b, Sedej in sod., 2007c, Sedej in sod., 2007d, Sedej in sod., 2007e). Rezultate o prehrani doječih mamic, vključenih v raziskavo, in o učinkih dohranjevanja z začetno formulo pri dojenih dojenčkih z nenapredovanjem na telesni teži smo predstavili tudi v dveh izvirnih znanstvenih člankih (Širca Čampa in sod., 2003; Sedej in sod., 2009).

Tvorba skupin in randomizacija

Raziskava je zasnovana kot dvojno slepa placebo kontrolirana raziskava.

V skupino AB (n = 33) so bili ob vključitvi v raziskavo razvrščeni dojenčki s FTT in njihove matere. Dojenčke smo z dvojno slepo randomizacijo razvrstili v dve skupini za različno prehransko ukrepanje. V skupino A (n = 16) so bili razvrščeni dojenčki s FTT, ki so poleg dojenja 31 dni uživali F-LCP, in v skupino B (n = 17) dojenčki s FTT, ki so poleg dojenja 31 dni uživali F. V skupino C (n = 41) so bili ob vključitvi v raziskavo razvrščeni izključno dojeni dojenčki z normalnim napredovanjem na telesni teži in njihove matere. Slednji niso potrebovali prehranskega ukrepanja.

Prehransko ukrepanje

Ob vključitvi v raziskavo je zdravnik staršem pojasnil strategije za podporo dojenju. Pri dojenčkih s FTT (skupina AB) smo začeli s spodbujanjem dojenja ter z dohranjevanjem z izbrizganim humanim mlekom po steklenički ali žlički po koncu dojenja. Šele nato smo dojenčke dohranjevali z začetno formulo. Dojenčkom smo po shemi dvojno slepe randomizacije dodelili eno izmed dveh začetnih formul »F-LCP« ali »F«. Začetni formuli

sta se razlikovali po vsebnosti LCP (Aptamil z LCP ali brez LCP, Milupa GmbH, Friedrichsdorf, Nemčija, odebeljen tisk v preglednici 1). LCP so bile dodane v obliki jajčnih lipidov in jegličevega olja. Sestavo obeh začetnih formul v primerjavi s humanim mlekom prikazuje preglednica 1. V redkih primerih, ko je bilo potrebno, je dojenček zaradi gastroezofagealnega refluksa dobil obroke, zgoščene z riževimi kosmiči (2g "Rižolino, riževi kosmiči z vitamini", Podravka, Hrvaška, na 100 ml pripravljene začetne formule).

Spremljanje prehrane dojenčkov

Spremljanje prehrane dojenčkov s FTT po vključitvi v raziskavo je nazorno prikazano na sliki 2. Slika je bila predstavljena na postriških predstavitvah več kongresov, katerih povzetki so objavljeni (Fidler Mis in sod., 2004a, Fidler Mis in sod., 2004b; Fidler Mis in sod., 2004c, Sedej in sod., 2006).



Slika 4: Časovna shema antropometričnih meritev ter spremljanja prehrane dojenčkov s FTT tekom raziskave z dodajanjem začetne formule

Figure 4: Study course of anthropometric measurements and monitoring of nutrition of infants with FTT during the diet intervention

Prehrano dojenčkov smo spremljali na osnovi kontrolnega tehtanja pred in po vsakem dojenju (dan 1–3 in 29–31), s čimer smo ugotovili količino popitega humanega mleka (v ml/dan) (Jensen, 1989). Količino zaužite začetne formule (v ml) in v redkih primerih tudi dodatek riževih kosmičev smo tekom vseh 31-ih dni raziskave natančno spremljali z beleženjem v prehranski protokol.

Antropometrične mere ter prehrana doječih mater

V okviru projekta smo natančno ugotavljali tudi prehrano doječih mater (skupini AB in C), kar pa ni del predstavljene raziskave (Širca Čampa in sod., 2003).

Zbiranje vzorcev in antropometrične meritve

Zbirali smo vzorce humanega mleka na začetku (dan 1, skupini AB in C) raziskave. Dojenčkom smo odvzeli vzorec krvi na začetku (dan 1, skupini AB in C) ter ob koncu raziskave (dan 31, skupini A in B). Po enaki shemi smo zbrali tudi antropometrične mere (sliki 1 in 2).

Analitika

Analizirali smo vsebnost maščob ter maščobno-kislinsko sestavo humanega mleka. Poleg tega smo analizirali maščobno-kislinsko sestavo posameznih frakcij plazemskih lipidov dojenčkov. Slika 5 shematsko prikazuje analitske postopke za določanje vsebnosti maščob v humanem mleku ter analiziranje maščobno-kislinske sestave humanega mleka in posameznih frakcij plazemskih lipidov (PL-fosfolipidov, TG-triacilglicerolov, CE-estrov holesterola).

3.1.2 Izbira oseb za raziskavo

V raziskavo smo vključili 74 zdravih, izključno dojenih donošenih dojenčkov, starih 28 do 107 dni (gestacijska starost ≥ 37 tednov), rojenih s težo, primerno gestacijski starosti (t. j. > 2500 g), in 74 doječih mater. Kriteriji vključitve, ne vključitve in izključitve so povzeti po projektni dokumentaciji (Fidler in sod, 2000a).

Vključitveni kriterij

Vključitveni kriterij za skupino AB je bilo FTT zaradi premajhnega vnosa humanega mleka (hipogalaktija). Dojenčki iz skupine AB so izpolnjevali vsaj enega izmed sledečih vključitvenih kriterijev (Haschke in sod., 2000):

- telesna teža $\leq 10.$ percentilom za starost glede na Euro-Growth percentilno krivuljo in/ali
- napredovanje na telesni teži od rojstva do vključitve v raziskavo < 40 % pričakovanega porasta telesne teže za starost.

Z omenjenima kriterijema smo zagotovili, da so bili v raziskavo vključeni le dojenčki, rojeni s telesno težo na višjem percentilu, katerih teža je ob vključitvi v raziskavo padla pod 10. percentil. Tako smo se izognili zahiranim novorojenčkom.

Dojenčki, hospitalizirani zaradi gastroezofagealnega refluksa brez zapletov, katerih telesna teža je bila $\geq 50.$ percentilom za starost glede na Euro-Growth percentilno krivuljo, (Haschke in sod., 2000) in njihove matere, so bili razvrščeni v skupino C.

Nevključitveni kriterij

V raziskavo nismo vključili dojenčkov, pri katerih smo ugotovili obolenja, kot so alergija na kravje mleko, presnovne motnje ali druge bolezni, ki bi lahko bile vzrok za FTT. Prav tako nismo vključili dojenčkov z znanimi kromosomskimi anomalijami, s prirojenimi ali pridobljenimi infekcijami, z akutnimi infekcijami, nedonošenčkov ter tistih, katerih matere so bile vegetarijke ali bolnice s sladkorno boleznijo.

Izključitveni kriterij

Naknadno smo izključili dojenčke (in njihove matere), ki so zaradi različnih vzrokov zboleli med raziskavo ali pa je bil med raziskavo odkrit kateri izmed ne vključenih kriterijev.

3.1.3 Dokumentacija kliničnih podatkov in prehrane

Doječe matere

Sodelavci Službe za nutricionistiko, dietetiko in bolniško prehrano smo zbirali antropometrične mere mater in spremljali njihovo prehrano. Rezultate tega dela projekta smo objavili v prispevku Širca Čampa (Širca Čampa in sod., 2005).

Dojenčki

Dojenčke smo stehali in zmerili prvi dan raziskave (skupini AB in C) in po 31-ih dneh (skupini A in B; v povprečju po 28-ih do 33-ih dneh) (slika 3 in 2). Stehali smo jih brez oblekice na standardni tehtnici z natančnostjo ± 10 g (Seca, Model: 33413210019, Ser. No.: 13403901806, Vogel&Helke, Hamburg, Nemčija). Telesno dolžino smo zmerili pri ležečem dojenčku na merilnem inštrumentu z natančnostjo ± 5 mm (Sanolabor, Slovenija). Za merjenje obsega glave smo uporabili fiksen, neraztegljiv centimeter z natančnostjo ± 5 mm. Vsa antropometrična merjenja je opravilo za to usposobljeno medicinsko osebje Kliničnega oddelka za gastroenterologijo, hepatologijo in nutricionistiko. Telesno težo, višino in obseg glave, izmerjene po 31-ih dneh dodajanja F-LCP ali F, smo primerjali z izhodiščnimi vrednostmi.

Prehrano dojenčkov skupine AB smo natančno spremljali in dokumentirali tekom 31-ih dni raziskave (opisano v poglavju 3.1.1).

3.1.4 Sestava začetnih formul

Sestava začetnih formul, ki sta bili slepo dodeljeni dojenčkom iz skupine AB, je razvidna iz preglednice 1 ter priloge B3. Povzeli smo jo po proizvajalčevi specifikaciji. Vsebnost hranil v humanem mleku smo povzeli iz baze hranil nemških prehranskih tabel – Bundeslebensmittelschlüssel, II.3 in Souci, Fachmann, Kraut: Nährwerttabellen (Souci in sod., 2000). Omenjeni bazi vključujeta v evropskem prostoru najobsežnejše podatke za 11.500 različnih živil in vrednosti za 330 različnih hranil. Nemške prehranske preglednice smo izbrali, ker ustreznega podatka o vsebnosti maščobnih kislin v zrelem humanem mleku slovenskih doječih mater še ni bilo. Tekom te raziskave smo pridobili tudi podatke o vsebnosti maščobnih kislin v zrelem humanem mleku slovenskih doječih mater dojenčkov z normalnim napredovanjem na telesni teži (poglavje 4.3.1.2.2; priloga C2).

Pomembnejše opazne razlike med F-LCP in F:

- F je imela za 1,4-krat višjo vsebnost prekurzorskih maščobnih kislin LK (C18:2n-6) in 1,2-krat višjo vsebnost ALK (C18:3n-3) kot F-LCP.
- Razmerje med esencialnima maščobnima kislinama LK/ALK je bilo ožje v F-LCP kot v F (8,4 : 10).
- F-LCP je vsebovala vse maščobne kisline iz družine ω -6 LCP: C20:2n-6, DHGLK (C20:3n-6), ARK (C20:4n-6) in adrensko kislino (C22:4n-6) ter ω -3 LCP: EPK (C20:5n-3), klupanodonsko kislino (C22:5n-3; ω -3 DPK) in DHK (C22:6n-3) za razliko od F, ki teh LCP ni vsebovala.

Zadnji pravilnik (Pravilnik o začetnih..., 2007) navaja, da se začetne formule prodajajo pod imenom „začetna formula za dojenčke“ (krajše „začetne formule“). V primeru, ko so začetne formule v celoti izdelane le iz beljakovin kravjega mleka, se smejo prodajati pod imenom „začetno mleko za dojenčke“. Podatek o izvoru beljakovin v naših raziskovalnih formulah iz pridobljene specifikacije proizvajalca ni bil razviden, zato smo se v tem delu odločili za poimenovanje »začetne formule«.

Preglednica 1: Sestava začetnih formul za dojenčke iz raziskave in humanega mleka
Table 1: Composition of study infant formulas and human milk

trgovsko ime		Aptamil 1 z Milupanom ^a		Aptamil 1 ^a		humano mleko ^b
oznaka uporabljena pri randomizaciji		F-LCP		F		
sestavina	enota	v 100 ml pripravljene začetne formule	v 100 g suhega izdelka	v 100 ml pripravljene začetne formule	v 100 g suhega izdelka	v 100g humanega mleka
energijska vrednost	kcal	67	515	72	499	69
beljakovine	g	1,5	11,5	1,7	11,8	1,1
ogljikovi hidrati	g	7,2	55,4	8,3	56,9	7,0
maščobe	g	3,6	27,5	3,6	24,9	4,0
NMK						
C4:0	mg	/	1000–1200	/	/	/
C6:0	mg	/	600–700	<10	70	/
C8:0	mg	/	1200–1400	20	650	/
C10:0	mg	/	1400–1700	20	530	60
C12:0	mg	/	5500–6700	170	4700	290
C14:0	mg	/	5400–6500	90	2500	460
C16:0	mg	/	22800–27900	1060	29400	960
C17:0	mg	/	/	/	/	/
C18:0	mg	/	5500–6700	130	3500	210
C20:0	mg	/	200	10	300	50
C22:0	mg	/	100	10	170	/
C24:0	mg	/	100	<10	80	/
ENMK						
C16:1n-7	mg	/	1100–1400	10	150	140
C17:1	mg	/	/	/	/	/
C18:1n-9	mg	/	30500–37300	1380	38300	1.300
C20:1n-9	mg	/	400–500	10	300	/
C22:1n-9	mg	/	50–60	<10	<100	/
VNMK						
družina ω-6						
C18:2n-6	mg	/	10200–12500	590	16400	410
C18:3n-6	mg	/	300–400	10	180	/
C20:2n-6	mg	/	60–80	/	/	/
C20:3n-6	mg	/	80–100	/	/	/
C20:4n-6	mg	/	400–500	/	/	0
C22:4n-6	mg	/	40	/	/	/
družina ω-3						
C18:3n-3	mg	/	1200–1500	60	1640	20
C20:5n-3	mg	/	/	/	/	/
C22:5n-3	mg	/	40	/	/	/
C22:6n-3	mg	/	170–210	/	/	/
vsote in razmerja maščobnih kislin						
ω-3 LCP	mg	/	190–250	/	/	/
ω-6 LCP	mg	/	580–720	/	/	/
Σ(ω-3) + (ω-6) LCP	mg	/	770–970	/	/	/
ω-6 LCP/ω-3 LCP		/	2,9–3,1	/	/	/
C18:2 n-6/C18:3 n-3		/	8,3–8,5	9,8	10	/

^a – povzeto po proizvajalčevi specifikaciji; ^b – povzeto po Souci in sod. (2000)

/ – ni podatka v proizvajalčevi specifikaciji

3.2 ZBIRANJE VZORCEV

Vzorci humanega mleka mamic dojenčkov in krvi dojenčkov, vključenih v raziskavo, smo zbirali na Kliničnem oddelku za gastroenterologijo, hepatologijo in nutricionistiko Pediatrične klinike Univerzitetnega kliničnega centra v Ljubljani v obdobju od decembra 2000 do februarja 2004. Namesto načrtovanih 40 dojenčkov s FTT smo v raziskavo vključili 33 dojenčkov. Glavna vzroka sta bila vse manjša pojavnost dojenčkov s FTT in iztekel rok uporabnosti začetnih formul, vključenih v našo raziskavo. Proizvajalec nam ni mogel zagotoviti enakega sestava raziskovalnih začetnih formul. Analize vzorcev smo izvedli v obdobju od septembra 2004 do aprila 2005 po vpeljavi metod za določanje maščobno-kislinske sestave zrelega humanega mleka in posameznih frakcij plazemskih lipidov v laboratorij Centra za nutricionistiko, Služba za nutricionistiko, dietetiko in bolniško prehrano Pediatrične klinike Univerzitetnega kliničnega centra v Ljubljani.

3.2.1 Humano mleko

Vse vzorce humanega mleka (skupini AB in C) smo odvzeli ob vključitvi v raziskavo (dan 1, slika 3). Vzorce (5,4 ml) smo zbirali z električno prsno črpalko (model EXAVAC VA8, IEVT Ljubljana) iz iste dojke pred in po dojenju, vsakokrat enako količino. Še tople vzorce mleka, zbranega pred in po dojenju, smo združili, 10-krat premešali in jih razdelili v 4 eppendorf posodice. Preden smo jih tesno zaprli, smo jih prepihali z dušikom. Ustrezno označene vzorce smo v najkrajšem možnem času shranili v zamrzovalno skrinjo na -70° . Metoda je modificirana po Jensen (1989) in po Fidler (1999).

3.2.2 Krvna plazma dojenčkov

Vzorci venozne krvi dojenčkov smo zbirali prvi (skupini AB in C) in 31 dan raziskave (skupini A in B) kot del rednih medicinskih preiskav (slika 3). Venozna kri dojenčkov (1,5 ml) je bila odvzeta na tešče, t. j. vsaj 4 ure po končanem zadnjem obroku v 2-ml epruvice z EDTA (Becton Dickinson, Nemčija) (Koletzko in sod., 1986a). Vzorce krvi smo centrifugirali 5 min pri 3500 obratih. Bistri supernatant krvi (plazma ločena od eritrocitov) smo odpipetirali v dve eppendorf posodici, ju tesno zaprli ter ustrezno označeni shranili v zamrzovalno skrinjo na -70°C . Maščobno-kislinska sestava plazme ostane pri temperaturah nižjih od -60°C nespremenjena 12 mesecev, pri temperaturi -80°C pa skoraj 4 leta (Hodson in sod., 2002).

3.3 ANALITIKA

3.3.1 Aparature in reagenti

Aparature

V analitskem laboratoriju Centra za nutricionistiko smo pri analitiki maščobno-kislinske sestave uporabljali sledečo opremo:

- analitska tehtnica (Sartorius AG TE 124S, Goettingen)
- analitska tehtnica (Mettler B5, E. Mettler, Zürich)
- vodna kopel (Wasserbad Memmert WB7, Memmert GmbH + Co.KG, Schwabach)
- univerzalna centrifuga (Megafuge 1.0 R, Kendro Laboratory Products, Osterode)
- evaporator (VLM GmbH, Leopoldshöhe)
- eksikator
- termostat (Metal block thermostat VLM 1.0 HT, VLM GmbH, Leopoldshöhe)
- termoblok (Metal block thermostat VLM 2Q, VLM GmbH, Leopoldshöhe)
- razvijalna komora (Desaga 90.120.167, 176261, Heidelberg)
- fen
- UV svetilka (Hand Held UV Lamp UVL-56, UVP Inc., USA)
- termoplošča (Objektträger-Streichtisch OTS 40, Medite medizintechnik, Burgdorf)
- ultrazvočna kopel (Ultraschall, Elma GmbH & Co KG, Singen)
- stresalnik (Thermolyne 37600, Iowa, USA)
- globokozamrzovalna omara (8582 DUO, Thermo Forma, Marietta, Ohio)

Reagenti

Za pripravo raztopin in vzorcev smo uporabili reagente in standarde čistosti, primerne za delo na plinskotekočinski kromatografiji (GLC) (preglednica 2). Delovne raztopine standardov za identifikacijo s koncentracijami 2000 $\mu\text{g ml}^{-1}$ ali 5000 $\mu\text{g ml}^{-1}$ smo pripravljali tedensko, raztopine standardov, ki smo jih uporabili kot interni standard (IS) za kvantifikacijo maščobnih kislin, pa dnevno.

Preglednica 2: Reagenti in standardi, ki smo jih uporabili v raziskavi
Table 2: Reagents and standards used in the study

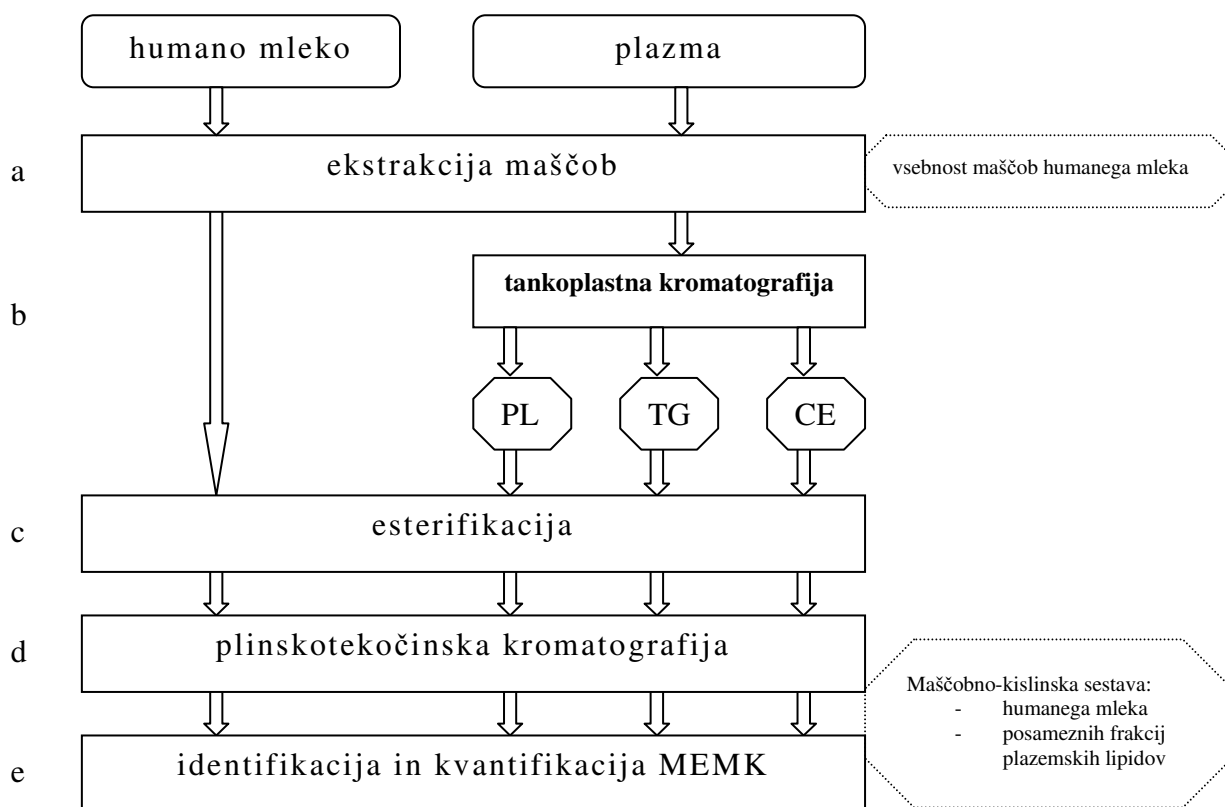
Ime reagenta		Proizvajalec in kataloška številka reagenta
slovensko	angleško	
2,7 diklorofluorescein	2,7 dichlorofluorescein	Fluka 35848
2,6-ditercialni butil p-krezol	2,6 di-tetr-butyl-p-kresol (BHT)	Fluka 34750, Buchs
isopropanol	2-propanol	RdH 33539
ocetna kislina	acetic acid	Merck 1.00063, Darmstadt
kloroform	chloroform	Merck 1.02431, Darmstadt
destilirana voda		
diizopropileter	diisopropylether	Merck 1.00867, Darmstadt
etanol	ethanol absolut	RdH 32221
heksan	hexan	Merck 1.04391, Darmstadt
metanol	methanol	Merck 1.06007, Darmstadt
metanolna HCl	methanolic-HCl-3N	Supelco 33050-U
n-heptan	n-heptan	Merck 1.04379, Darmstadt
petroleter	petroleum benzine	Merck 1.01775, Darmstadt
kalijev oksalat	potassium oxalate monohydrate	Sigma-Aldrich P3917
silikagelne plošče	Silica gel 60, 25 TLC plates, 20 x 20 cm	Merck 1.05721, Darmstadt
Silikagel – kapaciteta absorpcije vode v 24 urah pri 80 % relativni vlagi 31,6 %	Silica gel with moisture indicator (blue gel)	Merck 1.01925, Darmstadt
natrijev karbonat	sodium carbonate anhydrous	Merck 1.06392, Darmstadt
natrijev hidrogen karbonat	sodium hydrogen carbonate	Merck 1.06329, Darmstadt
natrijev sulfat	sodium sulfate anhydrous	Merck 1.06649, Darmstadt
tercialni-butyl-metileter	tetr.-butyl methyl ether	Fluka 20249
Ime internega standarda		Proizvajalec in kataloška številka reagenta
slovensko	angleško	
metil nonadekanoat	methyl nonadecanoate	Fluka 74208
nonadekanojska kislina	nonadecanoic acid	Fluka 72332
tripentadekanoin	tripentadecanoin	Sigma T4257
L-A-fosfatidilholin dipentadekanoil	L-A-phosphatidylcholine dipentadecanoyl	Sigma P7285
holesteril pentadekanoate	cholesteryl pentadecanoate	Nu Chek Prep., Inc. CH-814
Ime internega standarda		Proizvajalec in kataloška številka reagenta
slovensko	angleško	
metilni ester cis-5,8,11-eikosatrienojske kisline	cis-5,8,11-eicosatrienoic acid methyl ester	Sigma E6013
metilni ester cis-7,10,13,16-docosatetraenojske kisline	cis-7,10,13,16-docosatetraenoic acid methyl ester	Sigma D3534
metilni ester DHK	cis-4,7,10,13,16,19-Docosahexaenoic methyl ester	Supelco 47570-U
mešanica MEMK	Fatty Acid Metyl Ester Mix	Supelco 18919-1AMP
GLC referenčni standard	GLC reference standard	Nu Chek Prep., Inc. GLC-85
GLC referenčni standard	GLC rerefence standard	Nu Chek Prep., Inc. GLC-411
mešanica VNMK	PUFA No.1 Marine Source	Supelco 47033

3.3.2 Analitski postopki

Analitski postopki določanja vsebnosti maščob in maščobno-kislinske sestave humanega mleka potekajo v štirih, pri plazmi pa v petih stopnjah (prirejeno po Fidler Mis in Sedej, 2003). Te stopnje so:

- ekstrakcija maščob (humano mleko in plazma),
- tankoplastna kromatografija posameznih frakcij plazemskih lipidov (plazma),
- esterifikacija maščobnih kislin v MEMK (humano mleko in plazma),
- plinskotekočinska kromatografija MEMK (humano mleko in plazma)
- identifikacija in kvantifikacija MEMK (humano mleko in plazma).

Zaporeden potek posameznih stopenj analize prikazuje slika 5.



Slika 5: Shematski prikaz analitskih postopkov za določanje vsebnosti maščob v humanem mleku ter analiziranje maščobno-kislinske sestave humanega mleka in plazemskih lipidov (PL-fosfolipidov, TG-triacilglicerolov, CE-estrov holesterola) (Fidler Mis in Sedej, 2003)

Figure 5: Schematic of analytical methods for determining the fat content in human milk and for analysing the fatty acid composition of human milk and plasma lipids (PL-phospholipids, TG-triglycerides, CE-cholesterol esters) (Fidler Mis and Sedej, 2003)

Poglavja 3.3.2.1 do 3.3.2.3 so povzeta po objavi Fidler Mis in Sedej (2003). Analitski postopki določanja vsebnosti maščob in maščobno-kislinske sestave humanega mleka in plazme so opisani tudi v Fidler (1997) in Fidler (1999).

3.3.2.1 Ekstrakcija maščob mleka in plazme

Humano mleko

Neposredno pred analizo smo vzorce humanega mleka odmrznili na sobni temperaturi in jih v vodni kopeli segrevali na 38 °C (Jensen, 1989). 1 ml alikovitnega dela premešanega vzorca mleka smo odpipetirali v epruveto in z dvostopenjsko ekstrakcijo izolirali oz. ekstrahirali maščobo. V prvi stopnji ekstrakcije smo dodali 100 µl raztopine kalijevega-oksalata (3,5 g kalijevega-oksalata na 100 ml destilirane vode), 1 ml etanola, 1 ml tercialnega-butyl-metiletra in 1 ml petroletra (točka vrelišča 40–60 °C) ter poznano količino internega standarda v obliki metil nonadekanoata. Po vsakem dodatku kemikalij smo vzorce dobro premešali in nastalo zmes s centrifugiranjem (10 min pri 2000 obratih) ločili v dve fazi. Zgornjo organsko fazo, ki vsebuje lipidni ekstrakt, smo odpipetirali v 4-ml zatemnjeno vialo. V drugi stopnji ekstrakcije smo preostalo spodnjo fazo ponovno ekstrahirali z 1 ml tercialnega-butyl-metil etra in 1 ml petroletra in postopali enako kot v prvi stopnji ekstrakcije. Organska topila smo evaporirali iz lipidnega ekstrakta s preprihovanjem z dušikom pri 37 °C v evaporatorju. Dobljeni ekstrakt maščob smo sušili 24 ur v eksikatorju, nato pa določili vsebnost maščob gravimetrično (s tehtanjem). Uporabili smo ekstrakcijsko metodo po Roese-Goetlibu modificirano po Matissek in sod. (1989) in Brühl (1994).

Plazma

Neposredno pred analizo smo odmrznili vzorce plazme in mešanico internega standarda na sobni temperaturi. Za kvantitativno ovrednotenje maščobnih kislin v vzorcu smo dodali poleg 250 µl vzorca plazme še 100 µl standardne mešanice, sestavljene iz pentadekanojske kisline v obliki fosfolipida, triacilglicerola in holesterol estera (preglednica 2). V prvi stopnji ekstrakcije maščob smo dodali 2 ml mešanice heksana in izopropanola v volumskem razmerju 3 : 2. Vsebinsko epruvete smo dobro premešali in nastalo zmes s centrifugiranjem (7 min pri 2300 obratih) ločili v dve fazi. Zgornjo organsko fazo, ki vsebuje lipidni ekstrakt, smo odpipetirali v 4-ml zatemnjeno vialo in organsko topilo evaporirali v evaporatorju. V drugi in tretji stopnji ekstrakcije smo preostalo spodnjo fazo ponovno ekstrahirali z 2 ml heksana in naprej postopali enako kot v prvi stopnji ekstrakcije. Uporabili smo modificirano metodo ekstrakcije po Kolarovič in Fournier (1986).

3.3.2.2 Tankoplastna kromatografija

Plazma

Ekstrahirane plazemske lipide smo s tankoplastno kromatografijo ločili v frakcije fosfolipidov, prostih maščobnih kislin, triacilglicerolov in estrov holesterola. Preprihan lipidni ekstrakt smo raztopili v 400 µl mešanice kloroform/metanol v volumskem razmerju 1 : 1, dobro premešali in ga hitro nanесли na silikagelno ploščo za tankoplastno kromatografijo. Nanašali smo na ogrevani termoplošči pri temperaturi 37 °C in nanos sočasno sušili s fenom. Plošče z nanesenimi lipidnimi ekstrakti smo razvijali v razvijalni komori, nasičeni s hlapi topil mobilne mešanice n-heptana, diizopropiletera in očetne kisline (v volumskem razmerju 60 : 40 : 3), dokler topilo ni pripotovalo do zgornjega roba

plošče (okrog 50 min) (Carnielli in sod., 1996). Ločene lipidne frakcije smo pretvorili v vidno obliko tako, da smo jih napršili z 2,7 diklorofluoresceinom. Ko se je barvilo osušilo, smo z UV-svetilko označili meje med posameznimi frakcijami lipidov. Ustrezne frakcije smo iz silikagel plošč izpraskali s posebno lopatico in jih prenesli v 4-ml zatemnjene vialo s teflonskimi pokrovčki (Christie, 1993).

3.3.2.3 Esterifikacija maščob

Humano mleko

Lipidni ekstrakt smo raztopili v 3,0 ml 3 molarne metanolne HCl, 1 ml metanola in 0,5 ml heksana. Zmes smo segrevali eno uro pri 90 °C v termobloku ter jo nato pustili stati na sobni temperaturi, dokler se ni ohladila. Po dodatku 2 ml vode smo dobljene MEMK ekstrahirali v ustrezni količini heksana (1–4 ml, odvisno od vsebnosti maščob v vzorcu), ki je vseboval 0,2 % antioksidanta 2,6-ditercialni butil p-krezola (Koletzko in sod., 1988; Koletzko in sod., 1986b).

Plazma

Posamezne lipidne frakcije smo raztopili v 1,5 ml 3 molarne metanolne HCl, dobro premešali in zmes segrevali 45 minut pri 85 °C v termobloku. Nato smo jo pustili stati na sobni temperaturi, da se je ohladila, ter dodali pufrno mešanico natrijev sulfat, natrijev hidrogen karbonat in natrijev karbonat (v volumskem razmerju 2 : 2 : 1). MEMK smo ekstrahirali v dveh stopnjah, vsakokrat z 1 ml heksana. Vsebine vialo smo vsakokrat dobro premešali in s centrifugiranjem (3 min pri 2300 obratih) nastalo zmes ločili v dve fazi. Zgornjo organsko fazo, ki vsebuje MEMK, smo odpipetirali v manjšo 2-ml zatemnjeno vialo ter organsko topilo evaporirali v evaporatorju, ohlajenem na 5 °C. Prepihan ekstrakt MEMK smo raztopili v 50 µl heksana, ki je vseboval 0,2 % antioksidanta (2,6-ditercialni butil p-kresol) (Berghaus in sod., 2000).

3.3.2.4 Plinskotekočinska kromatografija

Maščobno-kislinsko sestavo nastalih MEMK (MEMK plazme in humanega mleka) smo analizirali z GLC, in sicer z uporabo Hewlett Packardovega plinskega kromatografa 5890, serije II, z avtomatskim vzorčevalnikom, s split injektorjem, opremljenega s plamensko ionizacijskim detektorjem („flame ionisation detector“ – FID) in kapilarno kolono Omegawax 320 (dolžina 30 m x 0,32 mm x 0,25 µm), Supelco.

Pri izbiri kolone smo bili omejeni z maksimalno temperaturo, do katere smemo pregrevali kolono. Sočasno z analitiko maščobnih kislin je na plinskem kromatografu v kombinaciji z masnim detektorjem potekala rutinska klinična analitika organskih kislin, pri kateri so za ločevanje organskih komponent uporabljali drugo kolono in temperature do 270 °C. Želeli smo tudi kolono, ki bo omogočala dobro in hitro ločbo LCP. Omenjenima pogojema je najbolj ustrezala kapilarna kolona Omegawax 320.

Testirali smo različne metode, primerne za ločevanje maščobnih kislin, zlasti LCP (DeVries in Kjos, 1999; Cantellops in sod., 1999; Frank in sod., 2002; Satchithanandam in sod., 2001; Satchithanandam in sod., 2002; Fidler, 1997; Lauritzen in sod., 2002). Glede na potrebe pričujoče raziskave, pregled literature, razpoložljivo opremo in različno osnovo

vzorcev smo za ločevanje maščobnih kislin humanega mleka in posameznih frakcij plazemskih lipidov uporabili različni kromatografski metodi:

Humano mleko

Metoda HMF – kromatografska metoda za določanje MEMK v humanem mleku.

Temperaturni program smo priredili po Fidler (1997).

Kromatografski pogoji pri analitiki humanega mleka:

Temperaturni program kolone:

konstantno 80 °C, 2min

segrevanje 80 °C do 170 °C, 30 °C/min

segrevanje 170 °C do 198 °C, 1 °C

segrevanje 198 °C do 230 °C, 30 °C/min in

konstantno 230 °C, 10 min.

Injiciranje: Split, 30 : 1, injicirani volumen 1 μ l

Pretoki plinov:

He - 2,6 ml/min,

N₂ - 25 ml/min,

sintetični zrak - 400 ml/min in

H₂ - 30 ml/min.

Temperatura injektorja: 250 °C

Temperatura detektorja: 300 °C

Plazma

Metoda PLL – kromatografska metoda za določanje MEMK v posameznih frakcijah plazemskih lipidov. Temperaturni program smo priredili po Lauritzen (2002).

Kromatografski pogoji pri analitiki plazemskih frakcij:

Temperaturni program:

konstantno 80 °C, 3 min

segrevanje 80 °C do 110 °C, 30 °C/min

segrevanje 110 °C do 208 °C, 3 °C/min

segrevanje 208 °C do 240 °C, 50 °C/min in

konstantno 240 °C, 10 min.

Injiciranje: Split, 10 : 1, injicirani volumen 2 μ l

Pretoki plinov:

He - 2,0 ml/min,

N₂ - 25 ml/min,

sintetični zrak - 400 ml/min in

H₂ - 30 ml/min.

Temperatura injektorja: 250 °C

Temperatura detektorja: 290 °C

3.3.2.5 Identifikacija in kvantifikacija MEMK

Okrajšave, simboli in kemijska imena maščobnih kislin, ki smo jih identificirali v naši raziskavi, so v slovenskem, angleškem in nemškem jeziku podrobneje opisana v prilogi A2.

Kromatografske podatke smo obdelali z uporabo programske opreme GC ChemStation (revizijska številka A.10.01 [1635], Agilent Technologies, 1990-2003). MEMK smo identificirali z uporabo retenzijskih časov ustreznih standardov (Nu Chek Prep., Inc., Sigma in Supelco, preglednica 2) ter ovrednotili utežne odstotke posameznih MEMK z uporabo ustreznih faktorjev odzivnosti (ang. response factors, Rf), ki smo jih določili na osnovi kvantitativne mešanice ustreznih standardov (Nu Chek Prep., Inc., Sigma). Odstotek identificiranih površin MEMK je znašal 95–98 % za humano mleko, 92–95 % za fosfolipidno frakcijo, 90–97 % za triacilgliceridno in 74–94 % za holesterolestrsko frakcijo plazemskih lipidov.

Različno dolgi MEMK imajo različen odziv na FID, zato nam enake koncentracije MEMK v standardni raztopini tekom analiziranja vzorcev ne dajo enakih površin (priloga B2). Da lahko pravilno ovrednotimo kromatograme zaestrenih maščobnih kislin, določimo Rf detektorja za posamezne MEMK.

Rf detektorja za posamezne MEMK je razmerje med določenim utežnim odstotkom (ki smo jih izračunali iz odstotkov površin kromatografskih pikov za posamezne MEMK) in deklariranim utežnim odstotkom. Rf za posamezne maščobne kisline smo določali na dveh različnih standardih z znanimi utežnimi odstotki MEMK. Za vsak standard smo naredili najmanj deset injiciranj v različnih dneh ter izračunali Rf po enačbah 1 in 2:

$$Rf_i = \frac{ut. \%_i}{\%A_i} \qquad \%A_i = \frac{A_i}{\sum_{i=1}^n A_i} \cdot 100 \qquad \dots (1) \text{ in } (2)$$

Rf_i – faktor odzivnosti za določen MEMK

ut. %_i – utežni odstotek določenega MEMK v standardni raztopini

A_i – površina določenega MEMK v kromatogramu standardne raztopine

Rf_i pri metodi za določanje MEMK v humanem mleku so v povprečju znašali od 0,971 za C12:0 do 1,110 za C24:1n-9, zadnjo maščobno kislino v kromatogramu. Zaradi ostrejšega temperaturnega programa pri metodi za določanje posameznih frakcij plazemskih lipidov je bil odziv detektorja v tej metodi slabši. Rf_i so znašali od 0,843 za C12:0 do največ 1,217 za DHA. Najbolj idealen odziv detektorja je bil v območju retenzijskih časov za C16:0 do LK (C18:2n-6).

Utežne odstotke MEMK v vzorcu smo izračunali po enačbi 3 in jih s faktorji za pretvorbo MEMK v maščobne kisline preračunali v utežne odstotke maščobnih kislin (enačba 4).

$$ut. \% MEMK_i [g/100g MEMK] = \frac{A_i \cdot Rf_i}{\left(\sum_{i=1}^n A_i \cdot Rf_i - A_{IS} \cdot Rf_{IS} \right)} \cdot 100 \quad \dots \quad (3)$$

A_i – površina določenega MEMK v kromatogramu vzorca

A_{IS} – površina MEMK internega standarda v kromatogramu vzorca

Rf_{IS} – faktor odzivnosti internega standarda

$$ut. \% MK_i [g/100g MK] = \frac{ut. \% MEMK_i \cdot f_i}{\sum_{i=1}^n ut. \% MEMK_i \cdot f_i} \cdot 100 \quad \dots \quad (4)$$

f_i – teoretični faktor za preračunavanje MEMK v maščobne kisline (MK) = razmerje molskih mas za maščobne kisline in MEMK (DeVries in Kjos, 1999; Cantellops in sod., 1999; Satchithanandam in sod., 2002)

Za določitev vsebnosti posameznih maščobnih kislin v lipidih humanega mleka in krvne plazme smo izbrali ustrezen IS. Humanemu mleku smo absolutne količine posameznih maščobnih kislin določili z dodanim metilnim estrom nonadekanojske kisline, katerega površina na kromatogramu je odgovaljala 1,5 mg maščobne kisline/ml zrelega humanega mleka. Kot IS za določitev absolutnih količin maščobnih kislin v posameznih frakcijah plazemskih lipidov smo izbrali pentadekanojsko kislino v obliki fosfolipida, triacilglicerola in estra holesterola. Površina IS na kromatogramu je odgovaljala 40 µg maščobne kisline/ml plazme.

Vsebnost posameznih maščobnih kislin (mg/100g vzorca ali µg/ml vzorca) smo izračunali po enačbah 5 ali 6:

$$ut. \%_i [mg/100 g humanega mleka] = \frac{(A_i \cdot Rf_i \cdot f_i) \cdot m_{IS} [mg]}{(A_{IS} \cdot Rf_{IS} \cdot f_{IS}) \cdot m_{vzorca} [g]} \cdot 100 \quad \dots \quad (5)$$

$$ut. \%_i [\mu g/ml vzorca] = \frac{(A_i \cdot Rf_i \cdot f_i) \cdot m_{IS} [\mu g]}{(A_{IS} \cdot Rf_{IS} \cdot f_{IS}) \cdot m_{vzorca} [ml]} \quad \dots \quad (6)$$

$ut. \%_i$ – masni odstotek oz. utežni odstotek maščobne kisline v vzorcu

3.3.3 Vrednotenje kromatografske metode

Metodo kapilarne GLC smo vrednotili glede na ločljivost, linearnost, ponovljivost injiciranja, ponovljivost postopka in mejo kvantifikacije.

Ločljivost

Tekom analiziranja maščobno-kislinske sestave na GLC smo pri obeh kromatografskih metodah zagotavljali ločevanje enakega števila MEMK.

Linearnost

Območje linearnosti smo določali z merjenjem standardne raztopine metilnega estra nonadekanojske kisline različnih koncentracij in izračunom regresijske premice po metodi najmanjših kvadratov. Kot topilo smo uporabili heksan.

Ponovljivost injiciranja

Ponovljivost injiciranja smo proučevali na dveh različnih laboratorijsko pripravljenih mešanicah standardov. Oba vzorca smo v treh zaporednih dneh injicirali desetkrat. Maščobne kisline so podane v vrstnem redu eluiranja na koloni.

Ponovljivost analitskih postopkov

Spremljali smo ponovljivost kromatografskih postopkov in ponovljivost celotnih analitskih postopkov.

GLC je predzadnja stopnja analitskih postopkov (poglavje 3.3.2.4, slika 5). Za obe kromatografski metodi (HMF in PLL) smo spremljali ponovljivost v obdobju 50–54 dni, kolikor so trajale analize raziskovalnih vzorcev. Ponovljivost kromatografskih metod smo proučevali na kvantitativnem standardu MEMK GLC 85 (Nu Chek Prep., Inc., Sigma). V vsako sekvenco z vzorci smo dodali standard z znanimi utežnimi odstotki MEMK, pripravljen vedno v isti koncentraciji, t. j. $5.000 \mu\text{g ml}^{-1}$ v sekvence za določanje maščobnih kislin v lipidih humanega mleka in $2.000 \mu\text{g ml}^{-1}$ v sekvence za določanje maščobnih kislin v frakcijah plazemskih lipidov.

Ponovljivost celotnega analitskega postopka (poglavje 3.3.2) smo ugotavljali med paralelkami istega dne in med štirimi zaporednimi dnevi. Ponovljivost med paralelkami istega dne smo določali na vzorcih olja, kravjega in humanega mleka s povprečno vsebnostjo maščob ter humanega mleka z višjo vsebnostjo maščob. Ponovljivost med paralelkami v štirih zaporednih dneh smo določali na dveh vzorcih humanega mleka z različno vsebnostjo maščob. Vsi vzorci so bili pripravljene po analitski in kromatografski metodi, uporabljeni za določanje MEMK v humanem mleku.

Maščobne kisline so podane v vrstnem redu eluiranja na koloni.

Meja kvantifikacije

Meja kvantifikacije je bila pogojena z mejo zaznavnosti MEMK pri GLC in smo jo določili na podlagi rezultatov, dobljenih pri ugotavljanju vsebnosti posameznih maščobnih kislin.

3.3.4 Zanesljivost rezultatov

Zanesljivost in točnost naših rezultatov smo preverjali s certificiranim referenčnim materialom, mešanico maščob govedine in svinjine. Vključili smo se v mednarodno interlaboratorijsko primerjavo nemškega združenja za znanost na področju maščob

(Deutsche Gesellschaft für Fettwissenschaft), kjer smo določali maščobno-kislinski profil mešanice dveh različnih olj, ter z istimi vzorci humanega mleka in krvne plazme v medlaboratorijsko primerjavo s Kemijskim laboratorijem Inštituta za prehrano, Oddelek za zootehniko, Biotehniška fakulteta, Rodica.

Certificirani referenčni material

Izbrali smo certificirani referenčni material, ki je bil v času vpeljave analitskega postopka na voljo, kajti certificirani referenčni material maščob mleka (BCR-164; Anhydrous Milk Fat) je bil v postopku recertifikacije predvidoma do sredine leta 2005. Izbrani certificirani referenčni material maščob govedine in svinjine (CRM 163; Certified reference material of a beef-pork fat blend), ki smo ga uporabili za oceno zanesljivosti naših analitskih postopkov, je bil certificiran aprila 1993.

Mednarodna interlaboratorijska primerjava

Vključili smo se v 10. mednarodno interlaboratorijsko primerjavo nemškega združenja za znanost na področju maščob (Deutsche Gesellschaft für Fettwissenschaft, DGF 2004) v kateri je sodelovalo tudi 77 drugih evropskih laboratorijev. Določali smo dva preiskovana parametra: maščobno-kislinska sestava mešanice dveh različnih olj ter odstotek NMK, ENMK in VNMK (g/100g) obeh mešanic. Rezultati so bili podani kot odstotek triacilglicerolov v 100 g vzorca. Pri izračunu smo namesto teoretičnega faktorja za preračunavanje MEMK (f_i ; enačba 4 poglavje 3.3.2.5) v maščobne kisline uporabili teoretični faktor za preračunavanje MEMK v triacilglicerole (DeVries JW in Kjos L, 1999).

Medlaboratorijska primerjava

S postopki za določanje maščobno-kislinske sestave mleka so se v času izvajanja raziskave v Sloveniji že 9 let ukvarjali v Kemijskem laboratoriju Inštituta za prehrano Biotehniške fakultete na Rodici, kjer so bili pogoji GLC analize zelo primerljivi s pogoji GLC analize v našem laboratoriju. Uporabljali so Hewlett Packardov plinski kromatograf 6890 z avtomatskim vzorčevalnikom s split injektorjem, s FID detektorjem in eno izmed dveh kapilarnih kolon: polarno kapilarno kolono CP-Select CB za ločevanje MEMK (Varian, dolžina 100 m x 0,25 mm x 0,25 μ m) ali kapilarno kolono Omegawax 320 (dolžina 30 m x 0,32 mm x 0,25 μ m).

Zanesljivost in točnost rezultatov smo preverili s primerjavo rezultatov istih vzorcev humanega mleka ter krvne plazme, ki smo jih z GLC analizo določili v našem in omenjenem laboratoriju.

Za pripravo MEMK humanega mleka smo uporabili analitski postopek, opisan v poglavju 3.3.2. V Kemijski laboratorij Inštituta za prehrano smo poslali svež vzorec humanega mleka in že pripravljene MEMK istega mleka po naši analitski metodi.

Pri primerjavi vzorcev krvne plazme smo primerjali maščobno-kislinsko sestavo skupnih lipidov, zato smo MEMK pripravili, kot je opisano v poglavju 3.3.2 s to razliko, da smo izpustili fazo tankoplastne kromatografije, ki ločuje plazemske lipide na posamezne frakcije, in na koncu ekstrakt MEMK raztopili v večji količini topila. Uporabili smo vzorec

krvne plazme pacienta s presnovno motnjo (deficitom encima lipoproteinske lipaze), ki zaradi specifične prehrane vsebuje večji odstotek ω -3 LCP maščobnih kislin.

Pri izračunu smo upoštevali le površine MEMK, ki jih določamo v obeh laboratorijih. Maščobne kisline so podane v vrstnem redu eluiranja na koloni primerjalnega laboratorija.

3.4 IZRAČUNI IN PRIKAZ PODATKOV

3.4.1 Antropometrične mere dojenčkov

Analizirali smo jih z računalniškim programom EuroGrowth (Version 2.0.0, University of Vienna, Avstrija; University Nijmegen, Nizozemska) (EuroGrowth, 2000) ter izračunali indeks telesne mase (ITM) (enačba 7). Antropometrične mere smo prikazali tudi glede na percentilne krivulje kot teža za starost, obseg glave za starost ter ITM za starost.

$$ITM = \frac{\text{telesna masa [kg]}}{(\text{telesna višina})^2 [m^2]} \quad \dots (7)$$

3.4.2 Prehrana dojenčkov

3.4.2.1 Prispevek dojenja k celotnemu vnosu mleka

Zanimal nas je tudi trend dojenja po uvedbi začetne formule dojenčkom s FTT. Za vsakega dojenčka smo izračunali prispevek dojenja k celotnemu vnosu mleka (PSD (%), enačba 8) v prvih treh in zadnjih treh dneh raziskave:

$$PSD [\%] = \frac{\text{povprečna količina zaužitega humanega mleka v 24 urah [g]}}{\text{povprečna količina zaužitega humanega mleka v 24 urah [g]} + \text{povprečna količina zaužite formule v 24 urah [g]}} \times 100 \quad \dots(8)$$

3.4.2.2 Dnevni energijski vnos

Povprečni dnevni energijski vnos smo izračunali za prve in zadnje tri dni raziskave, pri čemer smo upoštevali vso zaužito hrano, t. j. humano mleko, začetno formulo in v redkih primerih, ko je bilo to potrebno, dodatek riževih kosmičev. Uporabili smo podatke o energijski vrednosti humanega mleka iz literature (69 kcal/100g) (Souci in sod., 2000), podatke proizvajalca začetne formule Aptamil z in brez LCP (Milupa, Friedrichsdorf, Nemčija; 67 ali 72 kcal/100 ml pripravljene začetne formule) ter podatke proizvajalca riževih kosmičev „Rižolino, riževi kosmiči z vitamini” (Podravka, Hrvaška; 396kcal/100g). Dnevni energijski vnos v prvih in zadnjih treh zaporednih dneh raziskave smo primerjali s prehranskimi priporočili (Referenčne vrednosti za vnos hranil, 2004) ter z

oceno za načrtovanje energijskih potreb za doseg optimalne rasti pri dojenčkih s FTT po MacLeanovi (MacLean in sod., 1980).

3.4.2.3 Prehranski vnos LCP

Za izračun povprečnega dnevnega vnosa ω -3 in ω -6 maščobnih kislin (v mg) v prvih in zadnjih treh dneh raziskave dojenčkov s FTT smo upoštevali količine zaužite s humanim mlekom in količine zaužite z začetno formulo. Upoštevali smo količino zaužitega humanega mleka (poglavje 4.3.1) in začetne formule (poglavju 4.3.2). Pri tem smo uporabili podatke o maščobno-kislinski sestavi zrelega humanega mleka mater dojenčkov, vključenih v našo raziskavo, ki smo jih določili z novo vpeljanimi analitskimi postopki, (priloga C2) ter podatke proizvajalca o sestavi začetnih formul (preglednica 1). Proizvajalec v deklaraciji začetne formule navaja najvišjo in najnižjo vsebnost posamezne maščobne kisline oz. vsote maščobnih kislin. Za izračun prehranskega vnosa posameznih maščobnih kislin smo uporabili srednjo vrednost. Določitev vsebnosti maščobnih kislin (mg/100g formule) v začetnih formulah z novo vpeljanimi analitskimi metodami v laboratoriju Centra za nutricionistiko ni bila mogoča, saj je bil klinični del raziskave zaključen že pred vpeljavo novih analitskih postopkov, količine začetnih formul pa so bile omejene. Dnevni vnos ω -3 in ω -6 maščobnih kislin v prvih in zadnjih treh zaporednih dneh raziskave smo primerjali s prehranskimi priporočili (referenčne vrednosti, literaturni podatki). Izračunali smo tudi prehranski vnos ω -3 in ω -6 maščobnih kislin, ki so jih dojenčki tekom 31 dnevne raziskave dodatno zaužili s F-LCP ali s F.

3.4.3 Statistične metode

Podatke smo statistično obdelali z računalniškim programom SPSS for Windows (Version 12.0.1, SPSS Inc., 1989–2003). Razlike med povprečji smo testirali s Studentovim t-testom z Bonferronijevo korekcijo. P vrednosti, manjše ali enake 0,05 deljeno (/) s številom istovrstnih testiranj, smo šteli za statistično značilne. Za analizo podatkov po dodajanju F-LCP ali F dojenčkom s FTT smo uporabili mešani model dvosmerne analize variance (two-way mixed ANOVA). Skupina (A, B) je bila medskupinski dejavnik (ang. between subjects factor), čas (1. in 31. dan) pa znotrajskupinski dejavnik (ang. within subjects factor). Analizirali smo 4 antropometrične parametre, izražene glede na percentilno krivuljo za starost (teža, dolžina, obseg glave in ITM), in 5 parametrov LCP statusa (ARK, DHK ter dve vsoti $\sum\omega$ -3, $\sum\omega$ -6 in razmerje ω -6/ ω -3).

Za vrednotenje trendov dojenja smo uporabili deskriptivno statistiko. Prehranski vnos LCP smo izrazili kot srednjo vrednost razpona, izračunanega iz podatkov proizvajalca začetne formule, utežne odstotke maščobnih kislin humanega mleka in plazemskih lipidov ter vse ostale vrednosti smo izrazili kot \bar{X} (\pm SO).

Za oceno povezav med hranilnim vnosom in maščobno-kislinskim statusom plazemskih lipidov smo uporabili Pearsonov korelacijski koeficient (r).

4 REZULTATI

4.1 OCENA ANALITSKIH POSTOPKOV

4.1.1 Ločljivost

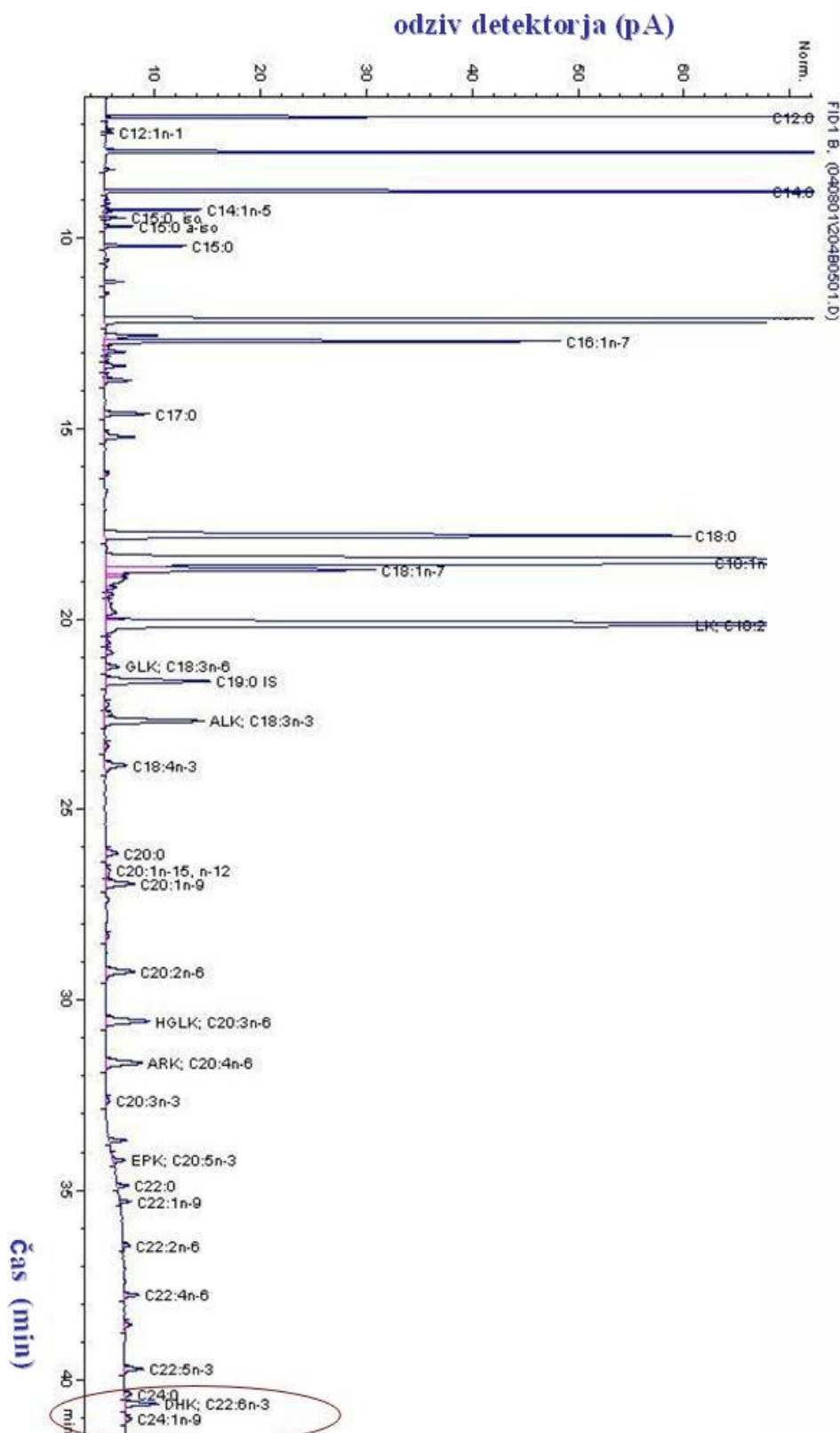
S kromatografskima metodama, omenjenima v poglavju 3.3.2.4, smo dosegali dobro ločljivost za 46 identificiranih maščobnih kislin. V humanem mleku smo določali vse identificirane maščobne kisline, od tega 20 NMK, 12 ENMK in 14 VNMK (slika 6). V posameznih frakcijah plazemskih lipidov smo določali 40 maščobnih kislin, od tega 17 NMK, 10 ENMK in 13 VNMK (slika 7). Uporabljena kolona ni primerna za ločbo *cis* in *trans* izomer (glej poglavje 4.1.7). Kromatografski metodi smo priredili tako, da smo dobili dobro ločljivost tudi za metilni estre DHK (slika 8). Slika 8 je bila predstavljena na postrski predstavitvi kongresa v Mariboru. Povzetek postra je objavljen (Sedej in sod., 2005a).

4.1.2 Linearnost metode

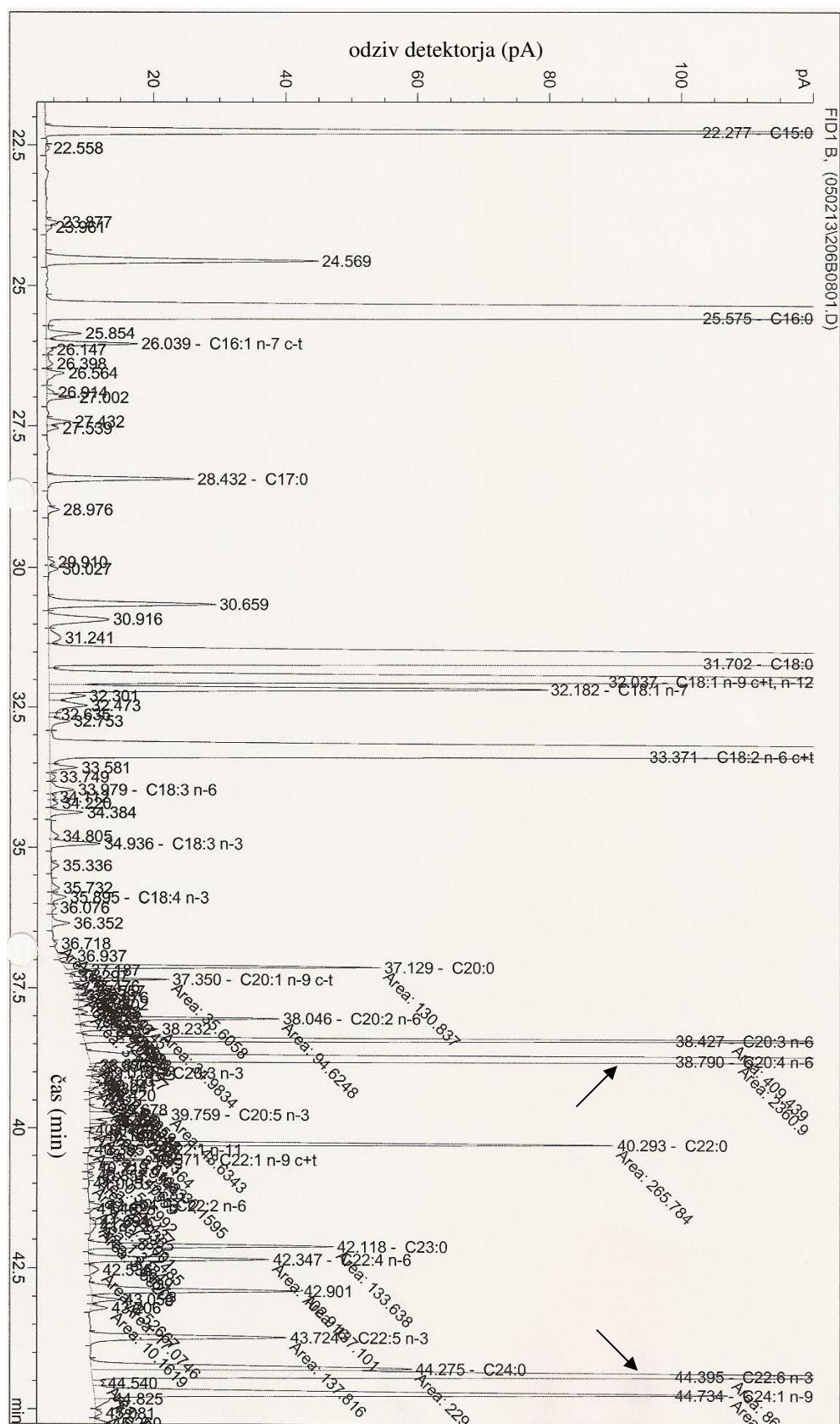
Metoda HMF je bila linearna v območju koncentracij 50–2.000 $\mu\text{g ml}^{-1}$, koeficient korelacije je znašal 0,9975. Zgornjo mejo, 2.000 $\mu\text{g ml}^{-1}$, smo med analiziranjem prekoračili le pri treh MEMK humanega mleka (ME C18:0, ME C18:1n-9 ter ME C18:2n-6). Le-ti so bili v vzorcih zastopani z najvišjim odstotkom. Humano mleko ima različno vsebnost maščob in zato smo ekstrahirane MEMK humanega mleka raztapljali v ustrezni količini heksana. Najbolj ugodna razredčitev MEMK je bila tista razredčitev, ki ustreza koncentraciji 12 mg lipidov humanega mleka ml^{-1} heksana. S to koncentracijo smo zagotavljali linearnost metode za 43 od 46 identificiranih MEMK. Pri posameznih frakcijah plazemskih lipidov nam območje linearnosti ni povzročalo težav, saj je vsebnost skupnih lipidov v posameznih frakcijah od 0,8 do 1,8 mg lipidov/g plazme, kar je 20- do 50-krat nižje kot v enaki količini zrelega humanega mleka, ki vsebuje v povprečju 39 mg lipidov/g humanega mleka (Jensen, 1996).

4.1.3 Ponovljivost injiciranja

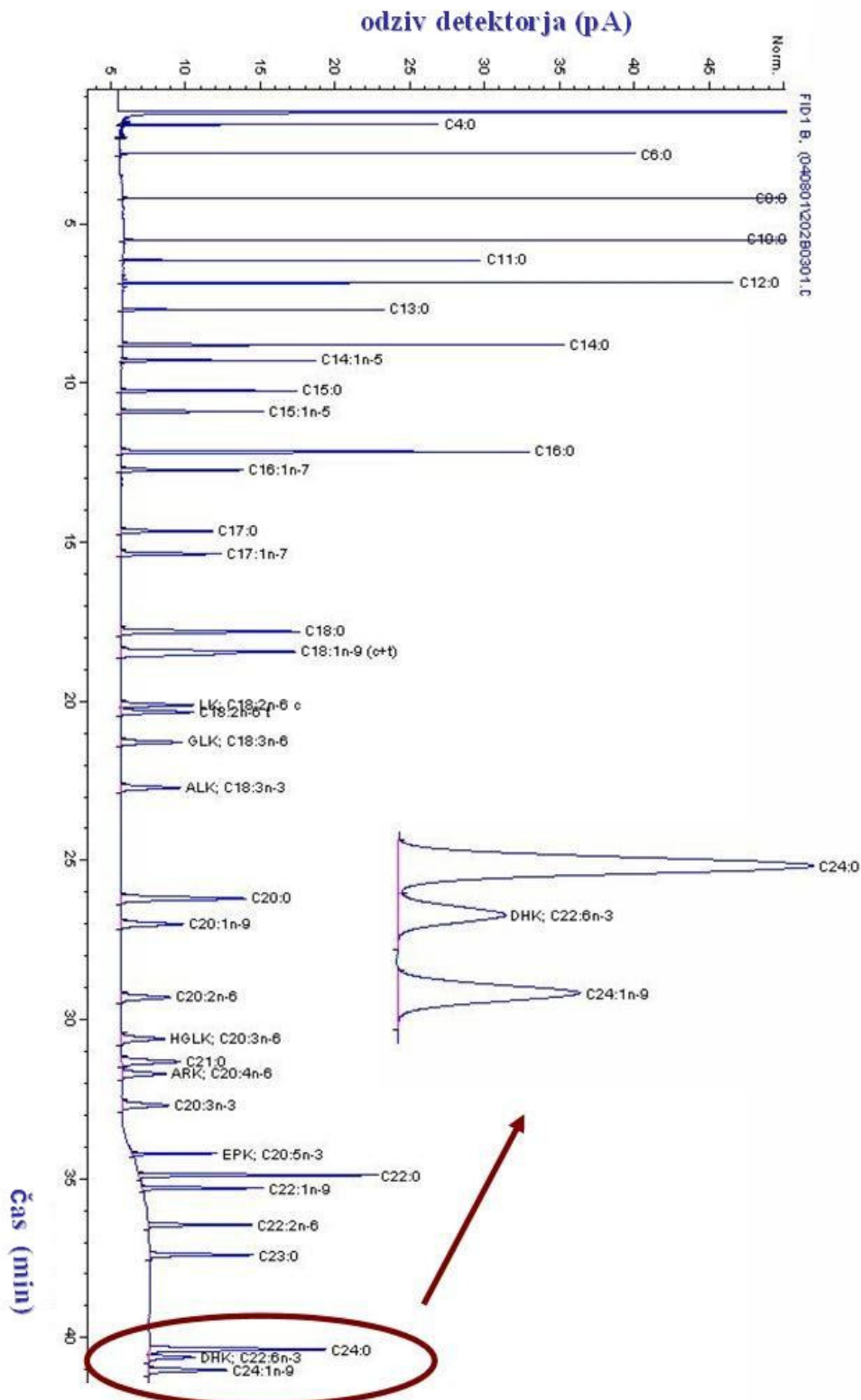
Avtomatski vzorčevalnik omogoča izredno visoko ponovljivost rezultatov pri zaporednih injiciranjih istega vzorca. Koeficient variabilnosti (KV) pri posameznih maščobnih kislinah je znašal < 1 % (priloga B1). Višjega od 1 % smo določili pri *cis* in *trans* izomeri C18:1n-9. Ločba teh dveh izomer je bila pod našimi pogoji možna le pri nižjih koncentracijah izomer C18:1n-9 c in C18:1n-9 t (< 100 $\mu\text{g/ml}$). Zato morebitno prisotne *trans* izomere v rezultatih podajamo skupaj s *cis* izomerami. KV je bil > 1 % tudi pri nižje hlapni C4:0. MEMK imajo nižjo točko hlapnosti in točko vrelišča kot maščobne kisline (Gunstone, 1996; Gunstone in sod., 1994; priloga A3), zato zaradi pogojev, uporabljenih tekom analitskih postopkov (poglavje 3.3.2), podajamo le rezultate za maščobne kisline z 12C atomi in več, ki imajo točko hlapnosti višjo od 5,1 °C (Gunstone, 1996; Gunstone in sod., 1994).



Slika 6: Plinski kromatogram metilnih estrov maščobnih kislin lipidov humanega mleka
Figure 6: Gas chromatogram of fatty acids methyl esters in human milk lipids



Slika 7: Plinski kromatogram metilnih estrov maščobnih kislin fosfolipidne frakcije plazemskih lipidov
Figure 7: Gas chromatogram of fatty acids methyl esters in phospholipid fraction of plasma lipids



Slika 8: Plinski kromatogram metilnih estrov maščobnih kislin standarda 18919-1AMP za identifikacijo maščobnih kislin

Figure 8: Gas chromatogram of fatty acids methyl esters in 18919-1AMP standard for identification of fatty acids

4.1.4 Ponovljivost analitskih postopkov

Priloga B2 prikazuje ponovljivost rezultatov vzorca kvantitativnega standarda GLC 85 z znanimi utežnimi odstotki za maščobne kisline z 12 ali več C-atomi za obe uporabljeni kromatografski metodi tekom analiziranja realnih vzorcev. Deklarirani utežni odstotek večine maščobnih kislin v standardni mešanici je znašal 3,57 ut. %, maščobnih kislin C16:0 in C18:1n-9 c+t pa 7,14 ut. %.

GLC je sistem, ki se spreminja. Analiziranje realnih vzorcev na GLC je potekalo skozi daljše časovno obdobje. Kot je razvidno iz priloge B2, tekom analiziranja vzorcev za enake koncentracije maščobnih kislin v standardni raztopini nismo dobili enakih površin (oz. utežnih odstotkov), zato smo za vsako serijo vzorcev sproti določali Rf detektorja za posamezne MEMK (enačba 1, poglavje 3.3.2.5).

Večji KV so se pojavljali za MEMK, ki so se eluirali v območju ostrejšega temperaturnega programa (pri metodi HMF od ME C22:0 dalje ter pri metodi PLL od ME C20:0 dalje). Pri metodi PLL smo v enakem obdobju opazili celo do 3-krat višje KV za iste MEMK kot po metodi HMF, kar lahko razložimo z ostrejšim temperaturnim programom te metode in drugačnim profilom MEMK, ki so se ločevali na koloni. Metodo PLL smo uporabili predvsem za ločevanje MEMK v posameznih frakcijah plazemskih lipidov, ki so bili v ekstraktu prisotni v 20 do 50-krat nižjih koncentracijah kot MEMK v ekstraktu humanega mleka. Zato smo na kolono injicirali bistveno večje količine ekstrakta MEMK (MEMK so bili vključeni v manjše količine topila, uporabili smo večji volumen injiciranja in manjše split razmerje) kot v primeru analiziranja MEMK humanega mleka po GLC metodi s temperaturnim programom, prirejenem po Fidler (Fidler, 1997). To pomeni, da smo na kolono vnašali tudi večje količine drugih v organskih topilih topnih snovi, ki povzročajo slabšo odzivnost detektorja in polnijo aktivna mesta na koloni. V tem oziru je plazma precej zahtevnejša osnova za določanje MEMK, zlasti frakcija estrov holesterola, ki s sabo prinaša tudi veliko drugih organskih komponent, ki so slabše hlapne in se zato pri danih pogojih težje eluirajo.

Priloga B3 prikazuje povprečje SO in KV več paralelk istega vzorca (mešanica olj, kravje mleko ter humano mleko s povprečno in višjo vsebnostjo maščob), pripravljenih in injiciranih zaporedno isti dan.

Pri vzorcu humanega mleka s povprečno vsebnostjo maščob ($3,17 \pm 0,01$ g/100 g vzorca) je KV znašal:

- < 0,30 za MEMK, katerih ut. % je znašal > 9,60 ut. %;
- 0,30–5 za MEMK, katerih ut. % je znašal med 0,10 in 5 ut. %;
- ter > 5 za MEMK, katerih ut. % je < 0,10 ut. %.

Pri vzorcu mleka z višjo vsebnostjo maščob ($6,66 \pm 0,05$ g/100 g vzorca) je KV znašal:

- < 0,78 za MEMK, katerih ut. % je znašal > 10 ut. %;
- ter 1–5 praktično za vse določljive MEMK, katerih ut. je znašal < 10 ut. %.

KV pri petih zaporedno pripravljenih vzorcih kravjega mleka je znašal:

1,12–1,53 za MEMK, katerih ut. % je znašal > 10,0 ut. %;
1,53–5 za večino MEMK, katerih ut. % je znašal med 0,5 in 10 ut. %.
> 5 za MEMK, katerih ut. % je znašal < 0,5 ut. %;

Posebno nizke KV smo določili pri vzorcu mešanice olj. Homogen vzorec olja je bil pripravljen za namene mednarodne interlaboratorijske primerjave (sestava v prilogi B6). KV je znašal:

KV < 1 za MEMK, katerih ut. % je znašal > 0,35 ut. %;
KV > 1 za MEMK, katerih ut. % je znašal < 0,35 ut. %.

Opazili smo dobro ponovljivost zlasti za vzorce z višjo vsebnostjo maščob, katerih ekstrakte smo v analitskem postopku bolj redčili s topili. Dobro ponovljivost med paralelkami humanega mleka istega dne je dokazala že Fidler (Fidler, 1997). V raziskavi so MEMK pripravljene po metodi in situ transesterifikacije (Park in Goins, 1994). V našem laboratoriju smo dobili še nižje KV za podobne ut. % MEMK, zato smo vzorce humanega mleka pripravljali le v eni paralelki.

Priloga B4 prikazuje povprečje SO in KV več paralelk istega vzorca humanega mleka z različno vsebnostjo maščob, pripravljenih in injiciranih v štirih zaporednih dneh. Pri vzorcu humanega mleka z nižjo vsebnostjo maščob ($3,11 \pm 0,16$ g/100 g vzorca) je KV znašal:

< 2,23 za MEMK, katerih ut. % je znašal > 9,81 ut. %;
1,52 do maks. 13,23 za MEMK, katerih ut. % je znašal od 0,04 do 4,26 ut. %;
ter > 13,81 za MEMK, katerih ut. % je < 0,03 ut. %.

Pri vzorcu mleka z višjo vsebnostjo maščob ($6,46 \pm 0,24$ g/100 g vzorca) je KV znašal:

< 2,46 za MEMK, katerih ut. % je znašal > 10 ut. %;
1,62 do maks. 10,99 za MEMK, katerih ut. % je znašal med 0,10 do 10 ut. %;
ter 4,23–14,71 za MEMK, katerih ut. % je znašal < 0,1 ut. %.

Pri vzorcih z večjo vsebnostjo maščob smo zlasti za MEMK, ki so zastopani v nizkih ut. %, dosegli nižje KV znotraj vzorca med dnevi kot pri vzorcu humanega mleka z nižjo vsebnostjo maščob, kar je posledica večjega razredčevanja s topili. Rezultati ponovljivosti med dnevi so primerljivi z rezultati že prej omenjene raziskave (Fidler, 1997).

Za določanje ponovljivosti znotraj vzorca med paralelkami istega dne in med paralelkami med štirimi zaporednimi dnevi smo uporabili ista vzorca humanega mleka, kar je dobro razvidno tudi iz maščobno-kislinskega profila obeh vzorcev humanega mleka (priloga B3 in priloga B4).

4.1.5 Meja kvantifikacije

Z optimalnimi kromatografskimi pogoji, opisanimi v poglavju 3.3.2.4, je bilo mogoče izmeriti vsebnosti maščobnih kislin nad $1,5 \mu\text{g}$ maščobne kisline/ml vzorca humanega mleka in $0,1 \mu\text{g}$ maščobne kisline/ml krvne plazme.

4.1.6 Certificirani referenčni material

Certificirani in določeni utežni odstotki so podani v prilogi B5. Le dve izmerjeni vrednosti odstopata od certificiranih vrednosti. C16:1* za < kot 5 % in C18:2* za 11,2 %. Iz dobljenih rezultatov lahko ocenimo, da se rezultati dobro ujemajo s certificiranimi vrednostmi.

* vključuje pozicijske in geometrijske izomere

4.1.7 Mednarodna interlaboratorijska primerjava

V prilogi B6 so podani izmerjeni utežni odstotki maščobnih kislin v Laboratoriju Centra za nutricionistiko in primerjani z rezultati mednarodne interlaboratorijske primerjave DGF 2004. Relativna napaka (%) med našimi vrednostmi in vrednostmi, določenimi v interlaboratorijski primerjavi, je bila nižja pri tistih maščobnih kislinah, ki niso imele svojih *trans* izomer. Ponovno se je potrdilo, da naši pogoji niso primerni za ločevanje *cis* in *trans* izomer, kar se kaže v višji relativni napaki določene *cis* izomere kot tudi v visoki relativni napaki njene *trans* izomere (npr. C18:2n-6 c in C18:2 n-6 t). Še višjo relativno napako (med 12,2 in 14,5 %) smo izračunali pri C18:3n-3 c, katere *trans* izomere nismo določali. Potrditev domneve, da relativno napako povzročajo identificirane ali neidentificirane *trans* izomere, se kaže v vsoti TMK, pri kateri smo izračunali zelo visoko relativno napako (R = 88 %).

4.1.8 Medlaboratorijska primerjava

Rezultati analiz humanega mleka obeh laboratorijev se zelo dobro ujemajo (priloga B7). Drugačna metoda ekstrakcije nima vpliva na utežne odstotke maščobnih kislin. V Laboratoriju Centra za nutricionistiko smo identificirali 46 maščobnih kislin humanega mleka, v Kemijskem laboratoriju Inštituta za prehrano so identificirali 67 različnih maščobnih kislin. Razlika je v pozicijskih in geometrijskih izomerah, ki jih pod pogoji v našem laboratoriju nismo ločevali. Pomembni razliki sta:

- a) Maščobna kislina z ut. % = 0,08, ki je bila pod našimi analitskimi pogoji identificirana kot C15:0 iso, je bila v Kemijskem laboratoriju Inštituta za prehrano s podobnim ut. % (0,10) identificirana kot C16:0 iso, za katero v našem laboratoriju nismo imeli ustreznega standarda. Zato ne moremo z gotovostjo trditi, kateri maščobni kislini ustreza ta utežni odstotek.
- b) Maščobna kislina z ut. % = 0,30, ki je bila pod našimi analitskimi pogoji identificirana kot C18:4 n-3, je bila v Kemijskem laboratoriju Inštituta za prehrano s podobnim ut. % (0,23 oz. 0,35) identificirana kot konjugirana linolna kislina (C18:2n-7 c9, t11), za katero v našem laboratoriju nismo imeli ustreznega standarda.

Zato v rezultatih o maščobno-kislinski sestavi humanega mleka navajamo obe maščobni kislini ³C16:0 iso/C15:0 iso ter ³C18:2n-7/C18:4n-3. Pri identifikaciji maščobnih kislin v posameznih frakcijah plazemskih lipidov se z omenjenim problemom identifikacije nismo srečali, saj smo uporabljali ostrejši temperaturni program in teh maščobnih kislin v plazmi nismo identificirali.

Rezultati analiz vzorcev krvne plazme obeh laboratorijev so podani v prilogi B8 in se zelo dobro ujemajo. Slabše ujemanje je pri maščobnih kislinah z manj kot 12 C-atomi, ki niso bile predmet naše raziskave, ter pri zadnjih treh ločenih maščobnih kislinah (C24:0, C22:6n-3 in C24:1n-9), kar lahko pripišemo ostrejšim kromatografskim pogojem, ki smo jih uporabljali za ločevanje MEMK posameznih frakcij krvne plazme.

4.2 ANTROPOMETRIČNE MERE DOJENČKOV

V raziskavo smo vključili skupno 74 donošenih, zdravih, izključno dojenih dojenčkov, starih 28–107 dni. Zaključilo jo je 31 izmed 33 rekturiranih dojenčkov s FTT (6,1 % "drop-out"), 19 deklic in 12 dečkov, starih 28–99 dni (skupina AB). Naknadno smo izključili dva dojenčka, prvega zaradi novo odkrite alergije za kravje mleko in drugega zaradi ugotovitve in določitve bolezni, ki je bila vzrok za slabše napredovanje na telesni teži (pilorostenoz). Kontrolno skupino je sestavljalo 41 dojenčkov z normalnim napredovanjem na telesni teži, 18 deklic in 23 dečkov, starih 28–107 dni (skupina C). Antropometrične lastnosti dojenčkov prvi in zadnji dan raziskave so predstavljene v preglednici 3.

Preglednica 3: Antropometrične mere dojenčkov prvi in 31-ti dan raziskave

Table 3: Anthropometric data of infants at baseline and after one month

skupina	dan 1		dan 31			
	AB	C	A	B	AB	
prehrana	F in F-LCP	dojenje	F-LCP	F	F in F-LCP	
n	31	41	16	15	31	
spol (m/ž)	12/19	23/18	7/8 [†]	5/8 [†]	12/16 [†]	
meritve						
	\bar{X} (SO)	\bar{X} (SO)	\bar{X} (SO)	\bar{X} (SO)	\bar{X} (SO)	v namene deskriptivne statistike
starost (meseci)	1,87 (1,70)	2,18 (0,80)	2,47 (0,59)	2,68 (0,85)	2,57 (0,72)	
teža (kg)	3,804 (0,609)	5,547 (0,871)	5,028 (0,525)	5,092 (0,707)	5,058 (0,606)	
dolžina (cm)	54,4 (2,6)	57,9 (3,4)	58,1 (2,4)	58,3 (2,9)	58,2 (2,6)	
obseg glave (cm)	37,4 (1,6)	39,3 (1,8)	39,7 (1,0)	39,8 (1,5)	39,7 (1,3)	
ITM (kg/m ²)	12,92 (1,45)	16,51 (1,79)	14,71 (1,03)	15,23 (1,17)	14,95 (1,11)	
SOP ^o						učinek (p vrednosti*) s FTT
						Pčas Pskupina Pinterakcija
teža za starost	-1,86 (1,06)	0,44 (0,84)	-0,89 (0,81)	-0,92 (1,10)	-0,90 (0,94)	< 0,001 0,718 0,460
dolžina za starost	-0,76 (1,04)	-0,04 (0,99)	-0,44 (0,81)	-0,55 (1,01)	-0,49 (0,89)	< 0,001 0,678 0,736
obseg glave za starost	-0,65 (1,35)	0,06 (0,92)	-0,04 (0,90)	0,00 (0,98)	0,02 (0,92)	< 0,001 0,365 0,015
ITM za starost	-2,02 (1,14)	0,62 (1,12)	-0,85 (0,87)	-0,60 (1,00)	-0,74 (0,92)	< 0,001 0,413 0,919

[†] – zaradi nepopolnih protokolov nekateri podatki manjkajo

^o – število standardnih odklonov od povprečja

* – t-xo-way mixed ANOVA

Telesna teža dojenčkov s FTT je v 31-ih dneh porasla za 1282 ± 355 g (480–1890 g), dolžina za $4,0 \pm 0,9$ cm (2,0 – 6,0 cm), obseg glave se je povečal za $2,2 \pm 0,9$ cm (1,0–5,0 cm) in ITM za $2,1 \pm 1,2$ kg/m². Števila standardnih odklonov od povprečja (SOP) kažejo na statistično zelo visoko značilno povečanje telesne teže, dolžine in ITM za starost glede na čas ter statistično visoko značilno razliko povečanja obsega glave za starost kot rezultat interakcije skupine in časa.

4.3 PREHRANA DOJENČKOV

Med randomiziranimi skupinama dojenčkov s FTT (A in B) ni bilo statistično značilnih razlik v prispevku dojenja k celotnemu vnosu mleka (PSD; %) kot tudi ne v energijskem vnosu (kJ/kg dan), zato smo pri proučevanju prehranskih parametrov obe skupini vrednotili kot eno skupino. Ob vključitvi v raziskavo s prehranskim ukrepanjem so bili vsi dojenčki izključno dojeni (vključitveni kriterij). Ob nujnem dodajanju začetne formule zaradi hipogalaktije mater dojenčkov s FTT se je spremenila celotna količina zaužitega mleka in posledično tudi energijski vnos. Izbrane metode spremljanja prehrane dojenčkov so nam omogočile vpogled v trend dojenja po uvedbi začetne formule, na novo vpeljani analitski postopek za določanje maščobnih kislin v humanem mleku ter znana sestava uvedenih začetnih formul pa natančen vpogled v prehranski vnos LPC tekom prvega meseca dohranjevanja. Zaradi pomanjkljivo izpolnjenih protokolov v zadnjih treh dneh pri dveh dojenjih dojenčkih so merjeni prehranski parametri izračunani za 29 dojenčkov. PSD se je pri dojenčkih s FTT v prvih ter zadnjih treh dneh raziskave zelo razlikoval (preglednica 9). Zato so količine zaužitega humanega mleka in začetne formule (g) prikazane tudi glede na PSD v prvih treh dneh (PSD₁₋₃) in v zadnjih treh dneh raziskave (PSD₂₉₋₃₁).

4.3.1 Količina zaužitega humanega mleka

Količina zaužitega humanega mleka dojenčkov s FTT se je od vključitve v raziskavo zmanjšala z 471 ± 181 na 349 ± 285 g/dan v zadnjih treh dneh raziskave ($p < 0,01$) (preglednici 4 in 11).

Pri dojenčkih, katerih PSD₁₋₃ > 75, je tendenca dojenja tekom 31 dni celo narasla; popili so 623 ± 84 v prvih in 674 ± 231 g/dan v zadnjih treh dneh raziskave. Pri 20-ih dojenčkih, katerih PSD₁₋₃ < 75 ($n = 22$), se je količina zaužitega humanega mleka (g/dan) zmanjšala. Polovica dojenčkov, katerih PSD₁₋₃ < 50 ($n = 10$), po mesecu dni ni bila več dojena.

Dojenčki, katerih PSD₂₉₋₃₁ = 100 ($n = 4$), so zaužili 601 ± 115 v prvih in 745 ± 228 g/dan humanega mleka v zadnjih treh dneh raziskave. Pri dojenčkih s PSD₂₉₋₃₁ > 50 ($n = 11$) smo opazili, da je količina zaužitega humanega mleka po mesecu dni ostala enaka ali večja. Leti so v prvih treh dneh popili vsaj 507 ± 5 g/dan humanega mleka (preglednica 4).

Preglednica 4: Celotna količina zaužitega humanega mleka v prehrani dojenčkov s FTT (g) glede na PBS v zadnjih treh dneh

Table 4: Total human milk intake in infants with FTT (g) sorted by CBF in the last three days

dan 1 - 3 (g/ dan)			dan 29 - 31 (g/ dan)	
PSD ₂₉₋₃₁	n	$\bar{X} \pm SO$	n ^Δ	$\bar{X} \pm SO$
0-100	31	476 ± 163	29	349 ± 285
100	4	601 ± 115	4	745 ± 228
75-99	3	616 ± 26	3	694 ± 198
50-74	2	507 ± 5	2	520 ± 5
1-49	14	474 ± 133	14	287 ± 130
0	6	258 ± 102	6	0

PSD₂₉₋₃₁ – prispevek dojenja k celotnemu vnosu mleka v zadnjih treh dneh raziskave

^Δ – zaradi pomanjkljivo izpolnjenih protokolov pri tehtanju dojenčkov pred in po vsakem dojenju manjkajo natančni podatki za dva dojenčka, ki sta bila dojena

4.3.1.1 Vsebnost maščob v humanem mleku

Zrelo humano mleko mamic dojenčkov s FTT (n = 31) je vsebovalo **4,11 ± 1,82 %** maščob, zrelo humano mleko mamic dojenčkov z normalnim napredovanjem na telesni teži (n = 41) pa **3,62 ± 1,16 %** maščob (preglednica 5). Med omenjenima skupinama nismo našli statistično značilne razlike v vsebnosti maščob.

Preglednica 5: Vsebnost maščob v humanem mleku

Table 5: Mature human milk fat content

zrelo humano mleko AB : C		g/100g	
skupina	n	\bar{X}	SO
AB	31	4,11	1,82
C	41	3,62	1,16
skupna vsebnost maščob			

4.3.1.2 Maščobno-kislinska sestava zrelega humanega mleka

Določili smo 40 maščobnih kislin zrelega materinega mleka, in sicer: 14 NMK, 12 ENMK, 7 ω-3 maščobnih kislin in 6 ω-6 maščobnih kislin. Pri eni maščobni kislini natančna identifikacija ni bila možna, zato jo obravnavamo kot nerazvrščeno. Devet maščobnih kislin je bilo prisotnih v ut. % > 1 %, skupaj od 94,9 ut. % (skupina AB) do 95,4 ut. % (skupina C) vseh maščobnih kislin. Vsebnost *trans* maščobnih kislin so na že pripravljenih MEMK istih vzorcev humanega mleka pod drugimi kromatografskimi pogoji določili leta 2008 v Kemijskem laboratoriju Inštituta za prehrano na Rodici, Biotehniška fakulteta, Oddelek za zootehniko (Štrekelj, 2009).

Maščobno-kislinska sestava zrelega humanega mleka mater randomiziranih skupin dojenčkov s FTT (matere s hipogalaktijo; skupini A in B) (ut. %) ter vsebnost posameznih maščobnih kislin (mg/100g humanega mleka) so podani v prilogi C1. Zrelo humano mleko mater dojenčkov skupine B je vsebovalo višji odstotek \sum ω-3 LCP kot mleko mater skupine A (0,66 ut. % proti 0,56ut. %) in višji odstotek \sum (ω-3) + (ω-6) LCP (2,57 ut. % proti 2,23 ut. %), vendar z upoštevanjem Bonferronijeve korekcije te razlike niso bile statistično značilne.

Maščobno-kislinska sestava zrelega humanega mleka mater s hipogaktijo (skupina AB) in mater z dovolj mleka (skupina C) (ut. %) ter vsebnost posameznih maščobnih kislin (mg/100g humanega mleka) za iste vzorce mleka so podani v prilogi C2.

Mleko mater obeh skupin (skupina AB in C) se ni razlikovalo v vsoti NMK (povprečje, ut. %: 40,97 in 40,94), ENMK (38,60 in 39,25) in VNMK (20,42 in 19,80). Prav tako ni bilo razlike v odstotku ω -3 LCP (0,61 ut. % in 0,60 ut. %) in v razmerjih ω -6 LCP/ ω -3 LCP (3,00 in 2,66) ter linolna/ α -linolenska kislina (15,45 in 15,21). Mleko mater skupine AB je vsebovalo višji odstotek ω -6 LCP (1,79 ut. %) kot mleko mater skupine C (1,44 ut. %) ($p < 0,001$), zlasti na račun višjih ut. % dihomogama-linolenske (C20:3n-6; 0,51 proti 0,39, $p < 0,001$) in arahidonske kisline (C 20:4n-6; 0,60 proti 0,50, $p < 0,001$). Med NMK je prevladovala palmitinska kislina (C16:0) z 21,5 in 21,4 ut. %. Lavrinska (C12:0), miristinska (C14:0) in stearinska (C18:0) so bile zastopane s podobnim povprečnim odstotkom, in sicer: C12:0 z 5,7 in 5,7 ut. %, C14:0 z 6,3 in 6,2 ut. % in C18:0 z 6,3 in 6,6 ut. %. Omenjene maščobne kisline so v povprečju predstavljale kar 96,9 do 97,1 % vseh NMK v lipidih zrelega humanega mleka.

Med ENMK je prevladovala oleinska kislina (C18:1n-9) z 32,5 in 33,1 ut. % (skupina AB in skupina C, ns). S podobnim povprečnim odstotkom sta bili v obeh proučevanih skupinah zastopani palmitoleinska (C16:1n-7) ter cis-vacenska (C18:1n-7) z 2,7 in 2,5 ut. % ter slednja z 2,6 in 2,7 ut. %. Sledita C20:1n-9, ki je bila zastopana z 0,4 oz. 0,5 ut. %, in miristooleinska (C14:1n-5) z enakim, t. j. 0,2 ut. % za obe proučevani skupini. Našli smo sledove še petih ENMK z ut. % $< 0,1$: C12:1n-1, C20:1 (n-12, n-15), C22:1n-11, eruka kislina (C22:1n-9) in nevronske kisline (C24:1n-9). C15:1n-5 in C17:1n-7 v zrelem humanem mleku nista bili prisotni.

Med ω -6 maščobnimi kislinami je prevladovala LK (C18:2n-6) z 16,5 in 16,2 ut. %. Nepričakovano smo našli zelo statistično značilne razlike ($p < 0,001$) v vsebnosti dveh ω -6 LCP: ARK z 0,6 in 0,5 ut. % in DHGLK z 0,5 in 0,4 ut. %. Padajoče so jim sledile C20:2n-6, γ -linolenska (C18:3n-6; GLK), adrenska kislina (C22:4n-6) in C22:2n-6. Tudi vsebnost teh ω -6 maščobnih kislin je bila višja v skupini AB kot v skupini C, vendar te razlike niso bile statistično značilne.

V ω -3 družini je prevladovala esencialna maščobna kislina ALK z 1,1 in 1,2 ut. %. Med ω -3 LCP je prevladovala DHK, ki je bila v obeh proučevanih skupinah zastopana z 0,3 ut. %. Ostale ω -3 LCP so bile prisotne z odstotkom nižjim od 0,2 ut. %: C20:3n-3, EPK ter ω -3 DPK. V zrelem humanem mleku nismo našli C22:3n-3 in C18:4n-3. Slednjo smo prvotno napačno identificirali, vendar smo z medlaboratorijsko primerjavo ugotovili, da se na istem mestu ločuje konjugirana linolna kislina (C18:2n-7). Neidentificirana VNMK je bila v obeh proučevanih skupinah zastopana z 0,3 ut. %.

4.3.2 Količina zaužite začetne formule

Količina zaužite začetne formule dojenčkov s FTT se je tekom raziskave skoraj podvojila, z 279 ± 143 g/dan v prvih treh dneh na 504 ± 323 g/dan v zadnjih treh dneh raziskave ($p < 0,001$), kar je vodilo v izrazit porast celotne količine zaužitega mleka ($p < 0,01$)

(preglednici 6 in 9). Dojenčki so po uvedbi začetne formule v 31-ih dneh zaužili od nič do 24119 g pripravljene začetne formule.

Pri dojenčkih, katerih $PSD_{1-3} > 75$ ($n = 9$), je količina začetne formule tekom 31 dni ostala podobna; popili so 95 ± 45 v prvih oziroma 102 ± 181 g/dan v zadnjih treh dneh raziskave. Štirje izmed njih so bili po mesecu dni izključno dojeni.

Pri dojenčkih, katerih $PSD_{29-31} = 0$ ($n = 6$), se je količina začetne formule v mesecu dni povečala za 244 %. Popili so 360 ± 74 v prvih in 878 ± 203 g/dan v zadnjih treh dneh raziskave.

Preglednica 6: Dnevna in mesečna celotna količina zaužite začetne formule v prehrani dojenčkov s FTT tekom 31-ih dni študije (g) glede na PBS v zadnjih treh dneh

Table 6: Daily and monthly total formula milk intake in infants with FTT during 31 days of the study (g) sorted by contribution of breastfeeding to total milk intake in the last three days

količina	dan 1–3		dan 29–31		dan 1–31	
	g zaužite pripravljene začetne formule/dan				(g zaužite pripravljene začetne formule/31 dni)	
PSD_{29-31}	n	$\bar{X} \pm SO$	n ^Δ	$\bar{X} \pm SO$	n	$\bar{X} \pm SO$
0 - 100	31	279 ± 143	29	504 ± 323	31	12622 ± 7238
100	4	67 ± 36	4	0	4	481 ± 556
75 - 99	3	122 ± 54	3	67 ± 34	3	3680 ± 2280
50 - 74	2	299 ± 14	2	462 ± 90	2	11997 ± 2719
1 - 49	14	331 ± 117	14	593 ± 113	14	14567 ± 2849
0	6	360 ± 74	6	878 ± 203	6	21025 ± 2251

PSD_{29-31} – prispevek dojenja k celotnemu vnosu mleka v zadnjih treh dneh raziskave

^Δ – zaradi pomanjkljivo izpolnjenih protokolov pri tehtanju dojenčkov pred in po vsakem dojenju manjkajo natančni podatki za dva dojenčka, ki sta bila dojena, zato podatkov o njuni količini zaužite začetne formule nismo upoštevali

4.3.2.1 Maščobno-kislinska sestava začetnih formul

Sestava (mg/100g izdelka) po proizvodnih specifikacijah proizvajalca začetnih formul, vključenih v raziskavo, je razvidna iz preglednice 1. Utežni odstotki maščobnih kislin začetnih formul, izmerjenih v Laboratoriju Centra za nutricionistiko, so podani v prilogi C3. Določitev vsebnosti maščobnih kislin (mg/100g formule) v začetnih formulah v laboratoriju Centra za nutricionistiko ni bila mogoča, saj smo s kliničnim delom raziskave zaključili pred vpeljavo novih analitskih postopkov, količine začetnih formul pa so bile omejene.

Začetni formul (F-LCP in F) sta se razlikovali po vsebnosti LCP. V maščobno-kislinski sestavi obeh formul so prevladovali NMK (povprečje, ut. %: 50,0 in 43,1), sledile so ENMK (35,5 in 39,4) in v manjšem odstotku VNMK (14,4 in 17,5).

Med NMK je prevladovala palmitinska kislina (C16:0) z 27,3 in 29,0 ut. %, v obeh začetnih formulah je sledila lavrinska kislina (C12:0) z 8,0 in 6,1 ut. %. Omenjene NMK skupaj z miristinsko (C14:0) in stearinsko kislino (C18:0) so v povprečju predstavljale kar 96,3 oz. 97,9 % vseh NMK v lipidih začetnih formul.

Med ENMK je prevladovala oleinska kislina (C18:1n-9c+t), ki je bila skupaj s cisvacensko kislino (C18:1n-7) in C18:1n-12t zastopana z 33,0 in 38,6 ut. %. V povprečju so predstavljale kar 93,1 oz. 98,0 % vseh ENMK v lipidih začetnih formul.

Med ω -6 maščobnimi kislinami je prevladovala LK (C18:2n-6) z 11,4 in 15,8 ut. %.

V F-LCP so bile prisotne prav vse maščobne kisline iz družine ω -6 LCP: ARK (C20:4n-6) z 0,43 ut. %, DHGLK (C20:3n-6) z 0,06 ut. %, C20:2n-6 z 0,06 ut. %, adrenska kislina (C22:4n-6) z 0,03 ut. % in C22:2n-6 z 0,02 ut. %. Omenjene ω -6 LCP v F niso bile prisotne. V ut. % < 0,01 je bila zastopana le C20:2n-6.

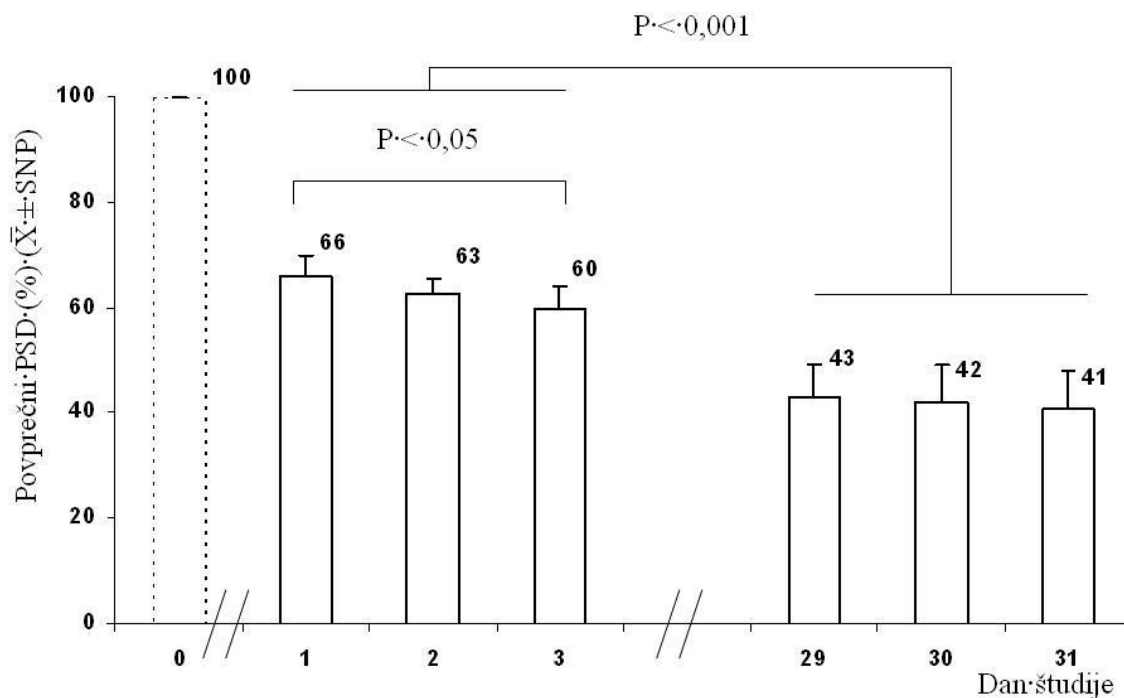
V ω -3 družini je prevladovala esencialna maščobna kislina α -linolenska (C18:3n-3), ki je bila v obeh začetnih formulah zastopana z 1,7 ut. %. V F-LCP je med ω -3 LCP prevladovala DHK (C22:6n-3) z 0,33 ut. %, sledile so ji ω -3 DPK (C22:5n-3) z 0,06 ut. % ter EPK (C20:5n-3) in C20:3n-3 z 0,02 ut. %. V F-LCP nismo našli C22:3n-3 in C18:4n-3. Omenjene ω -3 LCP v F niso bile prisotne.

Omenjena sestava začetnih formul se je odražala v vsoti ω -6 LCP + ω -3 LCP (1,0 in 0,0) ter razmerju linolna/ α -linolenska kislina (6,8 in 9,4).

4.3.3 Skupna prehrana

4.3.3.1 Prispevek dojenja k celotnemu vnosu mleka

PSD je od začetka raziskave (PSD = 100 %) padel na 63 ± 19 % ($\bar{x} \pm SO$) v prvih treh dneh raziskave (n = 31) in na 42 ± 35 % v zadnjih treh dneh raziskave (n = 29) (p < 0,001, dnevi 1–3 proti dnevi 29–31) (slika 8, preglednica 7). Slika je bila predstavljena na postrskih predstavitvah več kongresov, katerih povzetki so objavljeni (Fidler Mis in sod., 2004a, Fidler Mis in sod., 2004b; Fidler Mis in sod., 2004c, Sedej in sod., 2006).



Slika 8: Prispevek dojenja k celotnemu vnosu mleka (PSD, %) ($\bar{X} \pm \text{SNP}$) pri dojenčkih s FTT ($n = 29$) v prvih treh in zadnjih treh dneh dodajanja začetne formule

Figure 8: Contribution of breastfeeding to total milk intake (CBF, %) during the first and last three days of additional formula milk feeding ($\bar{X} \pm \text{SEM}$) in infants with FTT ($n = 29$)

Preglednica 7: Razredi PSD pri dojenčkih s FTT ob vključitvi v raziskavo (dan 0) in v prvih ter zadnjih treh dneh dodajanja začetne formule (Sedej in sod., 2009)

Table 7: CBF classes in infants with FTT at baseline (day 0) and during the first and last three days of additional formula milk feeding (Sedej et al., 2009)

povprečni PSD (%)	število dojenčkov		
	dan 0 (PSD ₀)	dnevi 1–3 (PSD _{1–3})	dnevi 29–31 (PSD _{29–31})
100	33	0	4
75–99	0	9	3
50–75	0	12	2
1–49	0	10	14
0	0	0	6
skupno število dojenčkov (n)	33	31 ^a	29 ^Δ

PSD – prispevek dojenja k celotnemu vnosu mleka

PSD₀ – prispevek dojenja k celotnemu vnosu mleka ob vključitvi v raziskavo

PSD_{1–3} – prispevek dojenja k celotnemu vnosu mleka v prvih treh dneh raziskave

PSD_{29–31} – prispevek dojenja k celotnemu vnosu mleka v zadnjih treh dneh raziskave

^a – dva dojenčka sta bila izključena (obrazložitev v poglavju 4.2)

^Δ – zaradi pomanjkljivo izpolnjenih protokolov pri tehtanju dojenčkov pred in po vsakem dojenju manjkajo natančni podatki za dva dojenčka, ki sta bila dojena

Po enomesečnem dodajanju začetne formule je 25 izmed 31 mamic (81 % mamic) nadaljevalo z dojenjem, štirje dojenčki so bili ponovno polno dojeni. Povprečni PSD_{29–31} je pri dojenčkih, ki so bili dojeni ob koncu raziskave ($n = 25$), znašal 53 ± 31 %.

Posebno zanimiva je skupina devetih dojenčkov, ki so imeli $PSD_{1-3} > 75\%$. Pri teh je tendenca dojenja celo narasla in PSD_{29-31} je tudi po enomesečnem dodajanju začetne formule ostal zelo visok ($89 \pm 21\%$). PSD_{29-31} (%) za to skupino dojenčkov je bil izračunan iz podatkov za osem dojenčkov zaradi pomanjkljivo izpolnjenega protokola pri enem dojenčku v zadnjih treh dneh raziskave.

4.3.3.2 Celotna količina zaužitega mleka

Celotna količina zaužitega mleka (humano mleko + začetna formula) dojenčkov s FTT, izmerjena v prvih treh dneh raziskave, je statistično zelo visoko značilno porasla z 755 ± 144 na 856 ± 181 ml/dan ($\bar{X} \pm SO$), izmerjenih v zadnjih treh dneh raziskave ($p < 0,001$). Celotna količina zaužitega mleka glede na PSD_{29-31} , izražena v g, je prikazana v preglednici 8.

V prvih treh dneh raziskave so zaužili od 520–1181 g/dan in v zadnjih treh dneh 503–1251 g/dan celotne količine zaužitega mleka. Dojenčki, ki so bili po enomesečnem dodajanju začetne formule v zadnjih treh dneh raziskave delno ali izključno dojeni ($n = 25$; $PSD_{29-31} = 1-100$), so zaužili 788 ± 132 v prvih in 811 ± 170 g/dan v zadnjih treh dneh raziskave. Med dojenčki, katerih $PSD_{29-31} = 100$, ($n = 4$) in dojenčki, katerih $PSD_{29-31} = 0$ ($n = 6$), v celotni količini zaužitega mleka v zadnjih treh dneh ni bilo statistične razlike. Dojenčki, katerih $PSD_{1-3} > 75$ ($n = 9$) in pri katerih je tendenca dojenja tekom 31 dni celo narasla, so popili 718 ± 96 v prvih in 770 ± 201 g/dan v zadnjih treh dneh raziskave. Tudi te količine se niso statistično razlikovale od celotne zaužite količine mleka vseh dojenčkov v prvih in zadnjih treh dneh raziskave.

Preglednica 8: Celotna količina zaužitega mleka v prehrani dojenčkov s FTT (g) glede na PSD
Table 8: Total milk intake in infants with FTT (g) sorted by CBF

PSD_{29-31}	dan 1 - 3 (g/ dan)		dan 29 - 31 (g/ dan)	
	n	$\bar{X} \pm SO$	n ^Δ	$\bar{X} \pm SO$
0–100	31	755 ± 144	29	856 ± 181
100	4	668 ± 113	4	745 ± 228
75–99	3	738 ± 80	3	762 ± 232
50–74	2	806 ± 9	2	982 ± 95
1–49	14	806 ± 118	14	881 ± 156
0	6	619 ± 69	6	878 ± 203

PSD_{29-31} – prispevek dojenja k celotnemu vnosu mleka v zadnjih treh dneh raziskave

^Δ – zaradi pomanjkljivo izpolnjenih protokolov pri tehtanju dojenčkov pred in po vsakem dojenju manjkajo natančni podatki za dva dojenčka, ki sta bila dojena

4.3.3.3 Celotni energijski vnos

Dojenčki s FTT so se v času raziskave poleg dojenja dohranjevali z začetno formulo in v redkih primerih z dodatkom riževih kosmičev. Riževi kosmiči so prispevali le manjši odstotek k celotnemu energijskemu vnosu. Celotni dnevni energijski vnos je prikazan v preglednici 9.

Dnevni energijski vnos dojenčkov se je od vključitve v raziskavo povečal z 1363 ± 523 na 2521 ± 557 kJ ob zaključku raziskave ($p < 0,001$), pri čemer je povprečni energijski vnos, izražen na kg telesne teže dojenčkov, porasel z 352 ± 111 kJ/kg ob vključitvi v raziskavo na 587 ± 115 kJ/kg v prvih treh dneh in na 501 ± 99 kJ/kg v zadnjih treh dneh raziskave.

Pri tem se je odstotek energijskega vnosa z materinim mlekom tekom raziskave znižal za 2 % (62,3 % v prvih in 40,1 % v zadnjih treh dneh raziskave) pretežno na račun povečanega deleža energijskega vnosa iz mlečne formule.

Preglednica 9: Prehranski vnos dojenčkov s FTT ob vključitvi v raziskavo ter prve in zadnje tri dni dodajanja začetne formule (povprečje \pm SO) (Sedej in sod., 2009)

Table 9: Dietary intake of infants with FTT at study entry, during the first three days and the last three days of additional formula milk feeding (mean \pm SD) (Sedej et al., 2009)

	dan 0 n = 31	dnevi 1–3 n = 31	dnevi 29–31 n = 29 ^Δ	p*
Humano mleko				
g/dan	471 \pm 181	476 \pm 163	349 \pm 285	0,004
kJ/dan	1363 \pm 523	1376 \pm 470	1010 \pm 825	0,003
kJ/kg/dan	352 \pm 111	357 \pm 102	200 \pm 167	<0,001
% od celotnega energijskega vnosa	100	60,7	41,7	
Začetna formula				
g/dan	/	279 \pm 143	504 \pm 323	<0,001
kJ/dan	/	813 \pm 422	1473 \pm 960	<0,001
kJ/kg/dan	/	224 \pm 129	291 \pm 200	0,006
% od celotnega energijskega vnosa		38,6	58,3	
Humano mleko + začetna formula				
g/dan	471 \pm 181	755 \pm 144	856 \pm 181	<0,01
Riževi kosmiči				
kJ/dan	/	19 \pm 42	42 \pm 79	0,016
kJ/kg/dan	/	5 \pm 11	8 \pm 15	0,054
% od celotnega energijskega vnosa		0,7	1,7	
Celoten dnevni energijski vnos				
MJ	1,36 \pm 0,52	2,21 \pm 0,45	2,52 \pm 0,56	<0,001
kJ/kg	352 \pm 111	587 \pm 115	501 \pm 99	<0,001

^Δ – zaradi pomanjkljivo izpoljenih protokolov pri tehtanju dojenčkov pred in po vsakem dojenju manjkajo natančni podatki za dva dojenčka, ki sta bila dojena

* – p-vrednost za primerjavo prvih in zadnjih treh dni raziskave

4.3.3.4 Prehranski vnos LCP

Celoten prehranski vnos LCP je bil odvisen od količine zaužite začetne formule in količine zaužitega humanega mleka ter njune maščobno-kislinske sestave. Povprečna sestava lipidov zrelega humanega mleka mater dojenčkov s FTT je podana v prilogi C2 in podrobneje predstavljena v poglavju 4.3.1.2.1.

Glede na individualno izmerjeno količino popitega mleka smo izračunali prehranski vnos LK, GLK, ALK, ω -3 LCP in ω -6 LCP (v mg) dojenčkov s FTT v prvih treh dneh in zadnjih treh dneh raziskave ter mesečni vnos istih parametrov z začetno formulo (preglednica 10). Za izračun smo uporabili analitsko pridobljene podatke o maščobno-kislinski sestavi zrelega humanega mleka mater, vključenih v našo raziskavo (priloga C2), ter podatke proizvajalca o sestavi začetnih formul (preglednica 1). Postopek izračuna je podrobneje opisan v poglavju 3.4.2.3.

Preglednica 10: Povprečni skupni dnevni vnos ω -3 in ω -6 maščobnih kislin (mg) v prvih in zadnjih treh dneh raziskave ter povprečni mesečni vnos teh maščobnih kislin z začetno formulo v prehrani dojenčkov s FTT
Table 10: An average total daily intake of ω -3 and ω -6 fatty acids (mg) in the first and the last three study days, and the average monthly intake of these fatty acids from additional formula milk feeding in infants with FTT

	Skupna količina maščobnih kislin zaužitih s humanim mlekom in začetno formulo (povprečje)				Skupna količina maščobnih kislin zaužitih z začetno formulo tekom raziskave (povprečje)		
	dan 1–3		dan 29–31		dan 1–31		
enota	(mg/dan)				(mg/31 dni)		
skupina	A	B	A	B	A	B	A - B
začetna formula	F-LCP	F	F-LCP	F	F-LCP	F	
maščobna kislina n	16	15	16	13 ^Δ	16	15	
VNМК							
	družina ω -6						
C18:2n-6	6629	9369	8590	14464	175320	275745	-100425
C18:3n-6	156	96	238	154	6001	3027	2974
C20:2n-6	99	91	103	57	1200	/	1200
C20:3n-6	109	103	115	68	1543	/	1543
C20:4n-6	265	110	356	66	7716	/	7716
C22:4n-6	39	29	44	17	686	/	686
VNМК							
	družina ω -3						
C18:3n-3	699	825	996	1378	23147	27575	-4428
C20:5n-3	12	18	10	12	/	/	/
C22:5n-3	47	42	50	25	686	/	686
C22:6n-3	115	53	153	37	3258	/	3258
Vsote LCP							
ω -3 LCP	178	122	214	81	3944	/	3944
ω -6 LCP	521	346	626	215	11145	/	11145

/ – proizvajalec v deklaraciji podatka o vsebnosti maščobne kisline ne navaja, saj je bila pod mejo detekcije

^Δ – zaradi pomanjkljivo izpolnjenih protokolov pri tehtanju dojenčkov pred in po vsakem dojenju manjkajo natančni podatki za dva dojenčka

Med zaužitimi VNMK sta v obeh skupinah dojenčkov (A in B) prevladovali esencialni maščobni kislini: LK (C18:2n-6) z 6.629 in 9.369 mg/dan v prvih treh dneh ter z 8.590 in 14.464 mg/dan v zadnjih treh dneh raziskave in α -linolenska (C18:3n-3) z 699 in 825 mg/dan v prvih ter 996 in 1378 mg/dan v zadnjih treh dneh raziskave.

Dojenčki skupine A so imeli že v prvih treh dneh dohranjevanja povprečno višji prehranski vnos GLK (C18:3n-6), ARK (C20:4n-6) in adrenske kisline (C22:4n-6) ter DHK (C22:6n-3). Imeli so povprečno nižji prehranski vnos LK (C18:2n-6) in ALK (C18:3n-3), ostale VNMK so bile zastopane v podobni količini.

Enak trend se je ohranil tudi po 31-ih dneh dohranjevanja z začetno formulo, le da je bil prehranski vnos v skupini A višji tudi za tiste VNMK, ki so bile v začetni formuli z LCP zastopane z manj kot 100mg/100g suhega izdelka: C20:2n-6, dihomo- γ -linolenska (C20:3n-6) in ω -3 DPK (C22:5n-3).

Višina povprečnega prehranskega vnosa EPK (C20:5n-3; <20 mg/ dan) je bila odvisna le od prehranskega vnosa preko humanega mleka. Ta maščobna kislina namreč po podatkih proizvajalca začetni formuli bodisi ni bila dodana bodisi ni bila navedena, ker je bila njena vsebnost pod mejo detekcije. Povprečni prehranski vnos EPK je ostal pri obeh proučevanih skupinah tekom raziskave nespremenjen, kar pripisujemo enakemu odstotku EPK (0,1 ut. %) v humanem mleku obeh proučevanih skupin (priloga C1).

V 31-ih dneh dohranjevanja so dojenčki skupine A, v primerjavi z dojenčki skupine B, z začetno formulo zaužili 15,1g dodatnih LCP ter 100,4g manj LK (C18:2n-6) in 4,4g manj ALK (C18:3n-3). Edini vir LCP za dojenčke skupine B je bilo humano mleko.

Celotni prehranski vnos LCP je v veliki meri odvisen tudi od PSD (preglednica 11). Manjši kot je bil PSD v zadnjih treh dneh raziskave, bolj izrazita je bila razlika v celotnem vnosu LCP. Izrazito nižji celotni prehranski vnos LCP je bil v skupini dojenčkov, katerih PSD₂₉₋₃₁ > 75. Dojenčki skupine A s PSD₂₉₋₃₁ = 0 so imeli v zadnjih treh dneh raziskave 1,4-krat višji celotni vnos LCP kot dojenčki iz iste skupine, ki so bili polno dojeni (PSD₂₉₋₃₁ = 100) (950 proti 676 mg/dan). Tekom 31-ih dni raziskave pa so zaužili kar 53-krat več LCP iz začetne formule (24,61 proti 0,46 g/dan).

Preglednica 11: Povprečna skupna količina zaužitih ARK, DHK, ω -3 LCP in ω -6 LCP (mg/dan) v prehrani dojenčkov s FTT glede na PSD (%) v zadnjih treh dneh

Table 11: An average total intake of arachidonic acid, docosahexaenoioc acid, ω -3 LCP and ω -6 LCP (mg/day) in infants with FTT sorted by CBF in the last three days

		Skupna količina maščobnih kislin zaužitih s humanim mlekom in začetno formulo (povprečje)				Skupna količina maščobnih kislin zaužitih z začetno formulo tekom raziskave (povprečje)	
		dan 1–3 (mg/dan)		dan 29–31 (mg/dan)		dan 1–31 (mg/31 dni)	
PSD _{29–31}	skupina maščobna kislina	A	B	A	B	A	B
100	n	2	2	2	2	2	2
	ARK	173	90	154	132	238	/
	DHK	92	94	85	120	101	/
	ω -3 LCP	181	173	183	220	117	/
	ω -6 LCP	494	381	493	500	344	/
75–99	n	2	1	2	1	2	1
	ARK	227	155	184	155	1973	/
	DHK	96	38	80	38	833	/
	ω -3 LCP	165	124	149	124	964	/
	ω -6 LCP	501	444	452	444	2849	/
50–74	n	1	1	1	1	1	1
	ARK	367	55	428	57	6290	/
	DHK	162	28	188	29	2656	/
	ω -3 LCP	263	68	295	70	3076	/
	ω -6 LCP	784	152	879	156	9086	/
1–49	n	8	6	8	6	8	6
	ARK	286	111	390	63	9320	/
	DHK	121	49	165	30	3935	/
	ω -3 LCP	184	120	218	71	4556	/
	ω -6 LCP	535	365	640	199	13462	/
0	n	3	3	3	3	3	3
	ARK	263	85	492	0	12728	/
	DHK	111	29	208	0	5374	/
	ω -3 LCP	143	82	240	0	6223	/
	ω -6 LCP	429	234	710	0	18385	/

PSD_{29–31} – prispevek dojenja k celotnemu vnosu mleka v zadnjih treh dneh raziskave

/ – proizvajalec podatka o vsebnosti maščobne kisline v deklaraciji ne navaja, saj je bila pod mejo detekcije

4.4 MAŠČOBNO-KISLINSKA SESTAVA PLAZME DOJENČKOV

Maščobno-kislinska sestava (ut. %) in povprečna vsebnost vseh identificiranih maščobnih kislin (mg/100g plazme) v posameznih frakcijah plazemskih lipidov je prikazana v prilogah C4 do C7.

4.4.1 Maščobno-kislinska sestava plazme dojenčkov ob vključitvi v raziskavo

Priloga C4 prikazuje maščobno-kislinsko sestavo (ut. %) in priloga C5 povprečno vsebnost vseh identificiranih maščobnih kislin (mg/100g plazme) v plazemskih PL, TG in CE dojenčkov s FTT (skupina AB) in dojenčkov z normalnim napredovanjem na telesni teži (skupina C) ob vključitvi v raziskavo.

Rezultati statistične analize so pokazali, da so ob vključitvi v raziskavo obstajale številne razlike med proučevanima skupinama dojenčkov (skupina AB proti C) v vseh treh frakcijah plazemskih lipidov. Najbolj se je med proučevanima skupinama razlikovala maščobno-kislinska sestava (ut. %) PL, in sicer pri 13-ih izmed 30 identificiranih maščobnih kislin. TG so se razlikovali v ut. % petih izmed 29 identificiranih maščobnih kislin in CE v ut. % dveh izmed 27 identificiranih maščobnih kislin. PL so se razlikovali tudi v vseh sedmih izračunanih vsotah maščobnih kislin ter v dveh izmed štirih računanih razmerjih maščobnih kislin. TG so se razlikovali v eni izmed sedmih vsot in CE v dveh izmed sedmih vsot ter v enem izmed štirih računanih razmerij.

Pri tem velja poudariti, da med dojenčki s FTT (skupina AB), ki so po shemi dvojno slepe randomizacije prejeli F-LCP (skupina A) ali F (skupina B) ni bilo statistično značilnih razlik v maščobno-kislinski sestavi nobene izmed frakcij. Torej so imeli vsi dojenčki skupine AB glede maščobno-kislinske sestave plazme enako izhodišče.

Med PL, TG in CE frakcijo obeh proučevanih skupin smo opazili nekatere podobnosti:

- med ENMK je prevladovala oleinska kislina (C18:1n-9),
- med prevladujočimi maščobnimi kislinami sta bili v vseh treh frakcijah prisotni palmitinska (C16:0) in LK (C18:2n-6), v pomembnem odstotku zlasti v TG in CE pa tudi OK (C18:1n-9),
- C15:1n-5, C17:1n-7 in C22:1n-11 so bile zaznane le izjemoma v sledovih.

4.4.1.1 Vsebnost maščobnih kislin plazemskih frakcij (mg/100g plazme) ob vključitvi v raziskavo

Najvišji odstotek maščobnih kislin v skupini AB so med določenimi frakcijami plazemskih lipidov vsebovali PL (51 %), sledili so TG z 28 % in CE z 21 %. V skupini C je bila razporeditev maščobnih kislin med frakcijami plazemskih lipidov podobna, in sicer 46 % v PL, 28 % v TG in 26 % v CE.

Povprečna skupna vsebnost vseh identificiranih maščobnih kislin v PL skupine AB je znašala 145,8 mg/100g plazme in 122,8 mg/100g plazme v skupini C. Povprečna skupna vsebnost maščobnih kislin za proučevani skupini (skupina AB oz. skupina C) je bila v območju 69,9–197,7 oz. 81,8–157,3 mg/100g plazme v PL, 45,8–133,0 oz. 30,4–145,2 mg/100g plazme v TG ter 17,6–91,6 oz. 44,6–104,0 mg/100g plazme v CE. Tako široko območje vsebnosti maščobnih kislin v PL kaže na individualne razlike, zaradi česar je bolj smiselno primerjanje utežnih odstotkov maščobnih kislin.

Razmerje povprečne skupne vsebnosti LCP v PL : TG : CE je bilo 8,5 : 1 : 1,5 v skupini AB oz. 8,5 : 1 : 2,3 v skupini C, pri čemer je bilo razmerje povprečne skupne vsebnosti ω -3 LCP 17,5 : 2,5 : 1 v skupini AB in 10 : 1,3 : 1 v skupini C ter razmerje povprečne skupne vsebnosti ω -6 LCP 12,8 : 1 : 2 v skupini AB in 9,7 : 1 : 3,2 v skupini C. Med LCP je v vseh treh frakcijah po vsebnosti prevladovala ARK (C20:4n-6), sledila ji je DHK (C22:6n-3). Z vsebnostjo > 5mg/100g plazme so bile med LCP zastopane le ARK (C20:4n-6) v PL in CE in DHK (C22:6n-3) v PL.

4.4.1.2 Maščobno-kislinska sestava (ut. %) plazemskih fosfolipidov

Največji odstotek vseh maščobnih kislin (mg/100g plazme) plazemskih lipidov je bil za obe proučevani skupini prisoten v fosfolipidni frakciji, kjer smo pri primerjanju ut. % maščobnih kislin med proučevanima skupinama našli tudi največ statistično značilnih razlik.

PL skupine AB so vsebovali višji odstotek esencialne ALK (C18:3n-3) ter ω -6 LCP in ω -3 LCP ($p < 0,001$), zlasti ARK (C20:4n-6) in DHK (C22:6n-3), ter nižji odstotek NMK ($p < 0,001$) kot PL skupine C. Med maščobnimi kislinami sta prevladovali NMK palmitinska (C16:0) in stearinska (C18:0), sledili sta jim ω -6 maščobni kislini LK (C18:2n-6) in ARK (C20:4n-6). Skupaj so predstavljale 71 % maščobnih kislin PL skupine AB in 73,5 % skupine C.

PL skupine AB so vsebovali višji odstotek ENMK (13,9 proti 12,6 ut. %), VNMK (41,4 proti 38,7 ut. %), ω -3 (6,2 proti 5,3 ut. %), ω -6 (35,2 proti 33,4 ut. %), \sum ω -3 LCP (6,1 proti 5,2 ut. %), \sum ω -6 LCP (17,7 proti 15,6 ut. %) in nižji odstotek NMK (44,8 proti 48,7 ut. %) kot PL skupine C ($p < 0,001$). Skupina AB je imela v primerjavi s skupino C širše razmerje VNMK/NMK (0,93 proti 0,79) in ožje razmerje esencialnih kislin LK/ALK (1 proti 1,3) ($p < 0,001$). PL frakcija obeh skupin (skupina AB in C) se ni razlikovala v razmerjih ω -6/ ω -3 (5,9 in 6,5) in ω -6 LCP/ ω -3 LCP (3,0 in 3,0).

V PL frakciji se je med proučevanima skupinama (skupina AB in C) zelo statistično značilno razlikovalo sedem izmed desetih identificiranih NMK. Med njimi je prevladovala palmitinska kislina (C16:0; 22,9 in 24,3 ut. %), sledile so ji stearinska (C18:0; 16,9 in 19,6 ut. %) in lignocerinska (C24:0; 1,5 in 1,2 ut. %) ($p < 0,001$) ter s podobnim odstotkom behenska kislina (C22:0; 1,5 in 1,4 ut. %) (ns.). Omenjene maščobne kisline so v povprečju predstavljale kar 95,5 vseh NMK v PL frakciji plazme. Ostale NMK so bile zastopane z < 1 ut. %. Med temi je skupina AB vsebovala tudi nižji odstotek arahinske (C20:0; 0,7 proti 0,8 ut. %), C17:0 (0,4 proti 0,5 ut. %), miristinske kisline (C14:0; 0,3 proti 0,4 ut. %) in C21:0 v sledovih (0,03 proti 0,05 ut. %) kot skupina C ($p < 0,001$).

Med ENMK v PL je za obe proučevani skupini (skupina AB in C) prevladovala OK (C18:1n-9) z 7,8 in 7,3 ut. % (ns.). Sledile so ji nevronska (C24:1n-9; 3,3 in 2,8 ut. %, $p < 0,001$) in cis-vacenska (C18:1n-7; 2,0 in 1,9 ut. %, ns.). S podobnim povprečnim odstotkom so bile v obeh proučevanih skupinah prisotne palmitoleinska (C16:1n-7; 0,3 in 0,3 ut. %, ns.), C20:1n-9 (0,2 in 0,2 ut. %, ns.) ter eruka kislina (C22:1n-9; 0,21 proti 0,16 ut. %, $p < 0,001$). Miristooleinska (C14:1n-5) in C17:1n-7 sta bili prisotni v sledovih. C22:1n-11 in C15:1n-5 v PL frakciji nista bili prisotni.

Med ω -6 maščobnimi kislinami je prevladovala LK (C18:2n-6) z 17,5 in 17,7 ut. % (ns.). Sledile so ji ARK (C20:4n-6; 13,7 in 11,9 ut. %, $p < 0,001$), DHGLK (C20:3n-6; 2,8 in 2,8 ut. %, ns.) in s podobnim povprečnim odstotkom C20:2n-6 (0,6 in 0,4 ut. %, $p < 0,001$) ter C22:4n-6 (0,5 in 0,5 ut. %, ns.). GLK (C18:3n-6) in C22:2n-6 sta bili prisotni v sledovih.

V ω -3 družini je prevladovala ω -3 LCP DHK (C22:6n-3) z 4,9 in 4,1 ut. % ($p < 0,001$). Sledile so ji ω -3 DPK (C22:5n-3; 0,8 in 0,7 ut. %, ns.) in EPK (C20:5n-3) z 0,3 ut. % v

obeh skupinah. C20:3n-3 je bila prisotna v sledovih. Z majhnim odstotkom je bila zastopana esencialna ALK (C18:3n-3; 0,10 in 0,07 ut. %, $p < 0,001$). C18:4n-3 v PL pri danih pogojih nismo identificirali.

4.4.1.3 Maščobno-kislinska sestava (ut. %) plazemskih trigliceridov

TG skupine AB so vsebovali višji delež ω -6 LCP (3,4 proti 2,7 ut. %), zlasti DHGLK (C20:3n-6; 0,6 proti 0,4 ut. %) in ARK (C20:4n-6; 2,1 proti 1,7 ut. %), ter nižji delež eikozatrienojske kisline (C20:3n-3; 0,04 proti 0,06 ut. %) kot TG skupine C ($p < 0,001$). V ω -3 družini se je v prid skupine AB značilno razlikovala tudi GLK (C18:3n-6) z 0,3 proti 0,2 ut. % ($p < 0,001$).

Med maščobnimi kislinami je z 35,1 ut. % v skupini AB in 34,5 ut. % v skupini C prevladovala ENMK OK (C18:1n-9), sledili sta ji NMK palmitinska (C16:0) in ω -6 maščobna kislina LK (C18:2n-6). Skupaj so predstavljale 78 % maščobnih kislin TG za obe proučevani skupini.

4.4.1.4 Maščobno-kislinska sestava (ut. %) plazemskih estrov holesterola

CE skupine AB so vsebovali več NMK (23,3 proti 19,8 ut. %) na račun palmitinske (C16:0; 1,7 proti 1,3 ut. %) in manj ω -3 (1,1 proti 1,5 ut. %) predvsem na račun EPK (C20:5n-3; 0,2 proti 0,4 ut. %) kot CE skupine C ($p < 0,001$). Skupini sta se razlikovali tudi v razmerju VNMK/NMK z 2,2 v skupini AB in z 2,7 v skupini C ($p < 0,001$).

Med maščobnimi kislinami je z 39,5 ut. % v skupini AB in 42,7 ut. % v skupini C prevladovala ω -6 maščobna kislina LK (C18:2n-6) (ns.). Sledile so ji OK (C18:1n-9), palmitinska (C16:0) in ARK (C20:4n-6). Skupaj so predstavljale 88 % maščobnih kislin skupine AB in 89 % skupine C.

4.4.2 Maščobno-kislinska sestava plazme dojenčkov s FTT po 31-ih dneh dodajanja formule z ali brez LCP

Priloga C6 prikazuje maščobno-kislinsko sestavo (ut. %) in priloga C7 povprečno vsebnost vseh identificiranih maščobnih kislin (mg/100g plazme) v plazemskih PL, TG in CE dojenčkov s FTT (skupina AB), ki so bili hranjeni z začetno formulo z LCP (skupina A) ali brez LCP (skupina B), po 31-dnevem prehranskem ukrepanju. Desci in Koletzko (1994) sta določila maščobno-kislinski profil posameznih frakcij plazemskih lipidov za več starostnih skupin od rojstva do odrasle dobe. Vsi dojenčki, vključeni v raziskavo, se po starosti pred, med in ob zaključku raziskave po njuni delitvi uvrstijo v starostno skupino en mesec do enega leta. Zato smo lahko tudi maščobno-kislinski status dojenčkov s FTT ob koncu raziskave primerjali z maščobno-kislinskim statusom skupine C, pri kateri ponovnih merjenj po 31-ih dneh nismo izvajali.

4.4.2.1 Vsebnost maščobnih kislin plazemskih frakcij (mg/100g plazme) po 31-ih dneh dodajanja formule z ali brez LCP

Najvišji odstotek maščobnih kislin v skupini A so med določenimi frakcijami plazemskih lipidov vsebovali PL (47 %), sledili so TG z 31 % in CE z 22 %. V skupini B so bile maščobne kisline enakomerneje razporejene med PL (44 %) in TG (38 %), CE so vsebovali 18 % maščobnih kislin. V skupini A je ostala omenjena razporeditev maščobnih kislin bolj podobna izhodiščni (ob vključitvi v raziskavo) kot v skupini B. Razmerje povprečne skupne vsebnosti LCP v PL : TG : CE je bilo 9,4 : 1 : 2,2 v skupini A oz. 7,9 : 1 : 1,5 v skupini B. Po razporeditvi LCP med frakcijami lipidov se je skupina A po enomesečnem dohranjevanju s F-LCP izenačila z razmerjem med frakcijami kontrolne skupine C. Med LCP je v vseh treh frakcijah obeh proučevanih skupin po vsebnosti prevladovala ARK (C20:4n-6), sledila ji je DHK (C22:6n-3). Vsebnosti obeh so opazno nižje pri skupini B.

Povprečna skupna vsebnost vseh identificiranih maščobnih kislin po enomesečnem dodajanju začetne formule v PL se je v primerjavi z vsebnostjo ob vključitvi v raziskavo znižala za obe proučevani skupini ter se tako približala vrednostim kontrolne skupine. V skupini A je znašala 132,4 mg/100g plazme in v skupini B 128,6 mg/100g plazme. Zanimivo opažanje je, da se je skupna vsebnost maščob v TG ob koncu raziskave v primerjavi z vključitvijo v raziskavo zvišala za 8,5 % v skupini A in celo za 38,5 % v skupini B.

Povprečna skupna vsebnost ω -3 LCP in ω -6 LCP v PL je bila višja v skupini A (7,6 in 21,5 mg/100g plazme) kot v skupini B (6,3 in 17,8 mg/100g plazme). Obema skupinama so se skupne vsebnosti ω -3 LCP in ω -6 LCP v PL po enomesečnem dodajanju začetne formule v primerjavi z vrednostmi ob vključitvi v raziskavo znižale. V skupini A se je vsebnost ω -3 LCP znižala za 13,5 % in vsebnost ω -6 LCP za 16 %. Vsebnosti sta se tako približali vrednostim kontrolne skupine. V skupini B se je vsebnost ω -3 LCP znižala celo za 28 % in vsebnost ω -6 LCP za 31 %. S tem sta vsebnosti padli pod vrednosti, ki so bile za ti dve vsoti izmerjeni pri kontrolni skupini.

4.4.2.2 Maščobno-kislinska sestava (ut. %) plazemskih frakcij

Med dojenčki s FTT, ki so bili dohranjevani s F-LCP (skupina A) ali F (skupina B), ob vključitvi v raziskavo ni bilo statistično značilnih razlik pri nobeni izmed 34-ih določenih maščobnih kislin v nobeni izmed frakcij plazemskih lipidov. Po 31-ih dneh dohranjevanja z začetno formulo sta se skupini statistično razlikovali v C14:5n-1 (skupina A proti skupina B; 0,06 proti 0,04 ut. %) in razmerju vsot ω -6/ ω -3 v TG (7,8 proti 9,9) ($p < 0,001$). Slednjo razliko bi lahko pripisali bistveno višji vsebnosti maščobnih kislin (mg/100g plazme) v TG skupine B. Vpliva časa ali skupine, kot je prikazano v poglavju 4.4.3, s statističnimi metodami nismo dokazali.

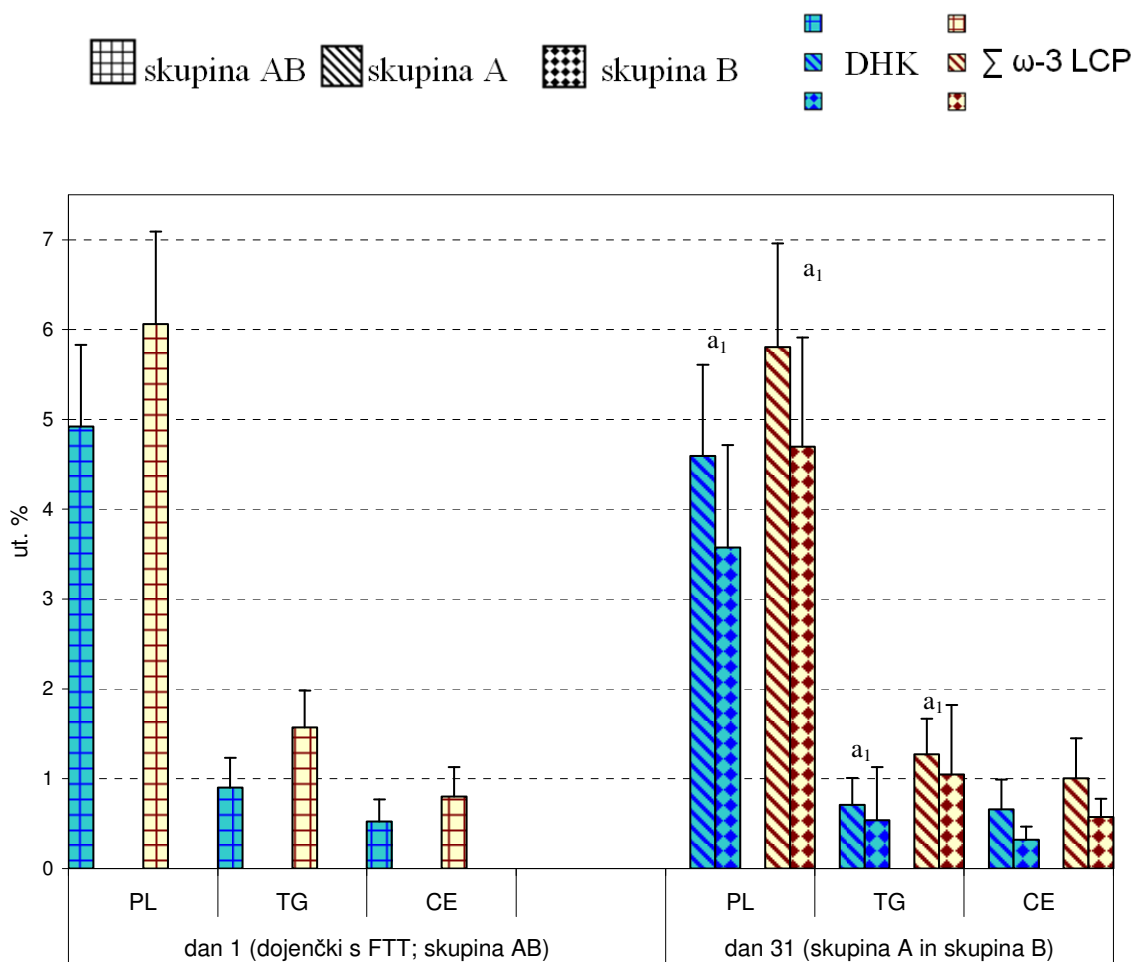
Med maščobnimi kislinami PL so prevladovale palmitinska (C16:0), LK (C18:2n-6) in stearinska (C18:0), sledili sta jim ARK (C20:4n-6) in OK (C18:1n-9). Skupaj so predstavljale 80 % maščobnih kislin za obe proučevani skupini. Med maščobnimi kislinami v TG je s 36,5 ut. % v skupini A in 39,2 ut. % v skupini B prevladovala OK (C18:1n-9), sledili sta ji palmitinska (C16:0) in LK (C18:2n-6). Skupaj so predstavljale 79 % maščobnih kislin skupine A in 82 % skupine B. Med maščobnimi kislinami v CE je z 43,9 ut. % v skupini A in 43,0 ut. % v skupini B prevladovala LK (C18:2n-6). Sledili so ji OK (C18:1n-9), palmitinska (C16:0) in ARK (C20:4n-6). Skupaj so predstavljale 90 % maščobnih kislin CE za obe proučevani skupini.

V vseh treh frakcijah skupine B so bile vrednosti ut. % ω -3 LCP in ω -6 LCP nižje kot v skupini A, vendar razlike niso bile statistično značilne. Med ω -3 LCP obeh skupin je prevladovala DHK (C22:6n-3) in med ω -6 LCP ARK (C20:4n-6).

4.4.3 Vpliv časa in prehrane na maščobno-kislinsko sestavo plazme dojenčkov

Sprememba v odstotku ARK, DHK, ω -3 LCP in ω -6 LCP v vseh treh frakcijah med prvim in zadnjim dnevom raziskave z dodajanjem F-LCP ali F dojenčkom s FTT je nazorno prikazana na slikah 9 in 10. Sliki sta bili predstavljeni na postrski predstavitvi kongresa v Dresden-u, katerega povzetek je objavljen (Sedej in sod., 2006).

V preglednici 12 so prikazane razlike v LCP statusu dojenčkov s FTT po 31-dnevem dodajanju F-LCP ali F. LCP status kaže na statistično zelo visoko značilno znižanje ut. % ARK, DHK, ω -3 LCP in ω -6 LCP tekom raziskave v PL in TG kot tudi ožje razmerje ω -3 LCP/ ω -6 LCP v TG ($p < 0,01$). Pri tem je bilo statistično zelo visoko značilno znižanje ARK in statistično značilno znižanje ω -6 LCP v PL manjše v skupini A kot v skupini B. Tako učinek časa kot učinek skupine v CE nista vidna. Razlik kot rezultat interakcije skupine in časa ni bilo v nobeni izmed LCP maščobnih kislin.

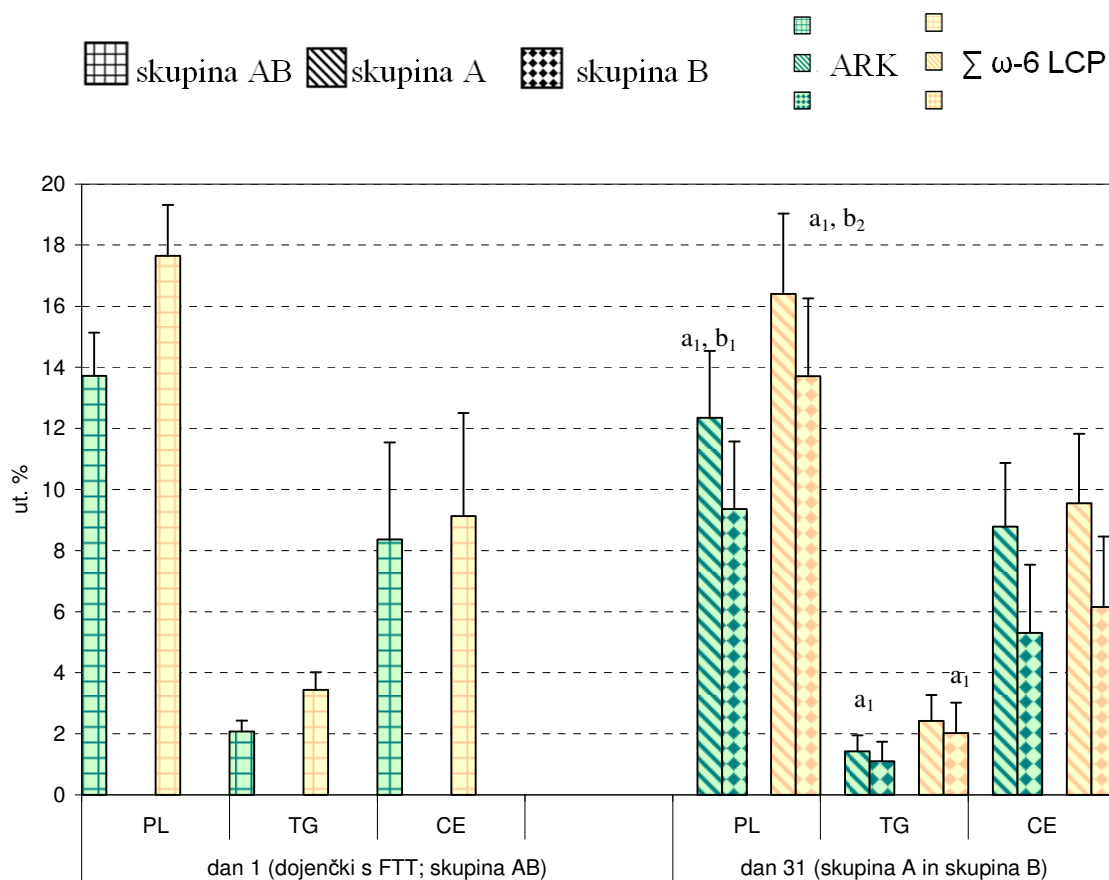


a_1 : $p < 0,001$ glede na čas

Za statistično analizo je bil uporabljen mešani model dvosmerne analize variance (two-way mixed ANOVA); čas je bil (1. in 31. dan) znotrajskupinski dejavnik (a), skupina (A, B) pa medskupinski dejavnik (b).

Slika 9: Odstotek DHK in $\omega\text{-3 LCP}$ (ut. %) v plazemskih PL, TG in CE pri dojenčkih s FTT (povprečje \pm SO)

Figure 9: Docosahexaenoic acid and $\omega\text{-3 LCP}$ levels (g/100g of total fatty acids; % wt/wt) of plasma PL, TG and CE in infants with FTT (mean \pm standard deviation)



a_1 : $p < 0,001$ glede na čas; b_1 : $p < 0,001$ glede na skupino; b_2 : $p < 0,05$ glede na skupino
 Za statistično analizo je bil uporabljen mešani model dvosmerne analize variance (two-way mixed ANOVA); čas je bil (1. in 31. dan) znotrajskupinski dejavnik (a), skupina (A, B) pa medskupinski dejavnik (b).

Slika 10: Odstotek ARK in $\omega-6$ LCP (ut. %) v plazemskih PL, TG in CE pri dojenčkih s FTT (povprečje \pm SO)

Figure 10: Arachidonic acid and $\omega-6$ LCP levels (g/100g of total fatty acids; % wt/wt) of plasma PL, TG and CE in infants with FTT (mean \pm standard deviation)

Preglednica 12: Razlike v LCP statusu dojenčkov s FTT po 31-ih dneh dodajanja začetne formule z ali brez LCP (P vrednosti)

Table 12: Differences in LCP status of malnourished infants after 31 days of additional formula milk feeding with or without LCP (P values)

LCP status	razlika (p vrednosti ^a)								
	PL			TG			CE		
	Pčas	Pskupina	Pinterakcija	Pčas	Pskupina	Pinterakcija	Pčas	Pskupina	Pinterakcija
ARK	<0,001	<0,001	0,025	<0,001	0,053	0,465	0,221	0,142	0,068
DHK	<0,001	0,037	0,078	<0,001	0,266	0,733	0,717	0,111	0,058
$\sum \omega-3$ LCP	<0,001	0,071	0,036	<0,001	0,311	0,538	0,929	0,102	0,085
$\sum \omega-6$ LCP	<0,001	0,016	0,024	<0,001	0,242	0,426	0,256	0,206	0,074
$\sum \omega-3$ LCP/ $\sum \omega-6$ LCP	0,469	0,615	0,415	0,006	0,246	0,800	0,449	0,316	0,378

^a – t-xo-way mixed ANOVA; $p < 0,0167$ ($p < 0,05/3$) smo šteli za statistično značilne, saj smo upoštevali Bonferronijevo korekcijo za 3 istovrstna testiranja, ker smo analizo ponovili za vsako frakcijo posebej

4.5 POVEZAVE

4.5.1 Povezava med prehrano in antropometričnimi merami dojenčkov

Telesna teža sedmih dojenčkov s $PSD_{29-31} > 90$ se je v povprečju povečala za 900 ± 255 g/mesec, kar je manj kot povprečni porast telesne teže cele skupine dojenčkov s FTT ($p < 0,05$). Najmanjše povečanje telesne teže smo opazili pri tistih štirih dojenčkih, ki so bili ob koncu raziskave izključno dojeni ($PSD_{29-31} = 100$, slika 11). PSD_{29-31} je bil v obratnem sorazmerju s pridobivanjem telesne teže, izraženim kot razlika v številu standardnih odklonov od povprečja (Δ SOP) teže za starost ($r = 0,693$, $p < 0,001$, slika 11). Večji PSD je prispeval k počasnejšemu pridobivanju telesne teže, medtem ko je večji odstotek zaužite začetne formule (nižji PSD) vodil k boljšemu pridobivanju telesne teže.

Pri dvajsetih od 29 dojenčkov s FTT (71 %) smo v mesecu dni opazili zadovoljivo povečanje telesne teže v višini najmanj 0,5 SOP teže za starost, med njimi jih je 15 ohranilo dojenje s $PSD_{29-31} = 11-90$, pet pa jih je bilo hranjenih izključno z začetno formulo ($PSD_{29-31} = 0$).

V prispevku Sedej in sod. (2009) smo določili dve merili uspešnosti enomesečnega prehranskega ukrepanja:

1. ohranjanje dojenja ($PSD_{29-31} > 0$):
25 od 31 dojenčkov (81 %) se je ob koncu raziskave še vedno dojilo in
2. Δ SOP teže za starost $> 0,5$ /mesec:
21 od 29 dojenčkov s FTT je zadovoljivo povečalo telesno težo (72 %).

Popoln uspeh prehranskega ukrepanja ($PSD_{29-31} > 0$ in Δ SOP teže za starost $> 0,5$ /mesec) je bil dosežen pri 15 od 29 dojenčkov (52 %). Le-ti so ustrezno nadoknadili merjeni parameter rasti in hkrati ohranili dojenje. Najslabši uspeh prehranskega ukrepanja so imeli dojenčki s $PSD_{29-31} > 90$, saj jih 6 od 7 ni uspelo zadostiti obema kriterijema uspešnosti prehranskega ukrepanja.

Odstotek dojenčkov, ki so uspešno napredovali na telesni teži, se med skupinama dojenčkov, tistih, pri katerih smo ohranili dojenje ($PSD_{29-31} > 0$) in tistih, pri katerih se je dojenje opustilo ($PSD_{29-31} = 0$), statistično ne razlikuje (Fisher's exact test; $p = 0,281$, preglednica 13).

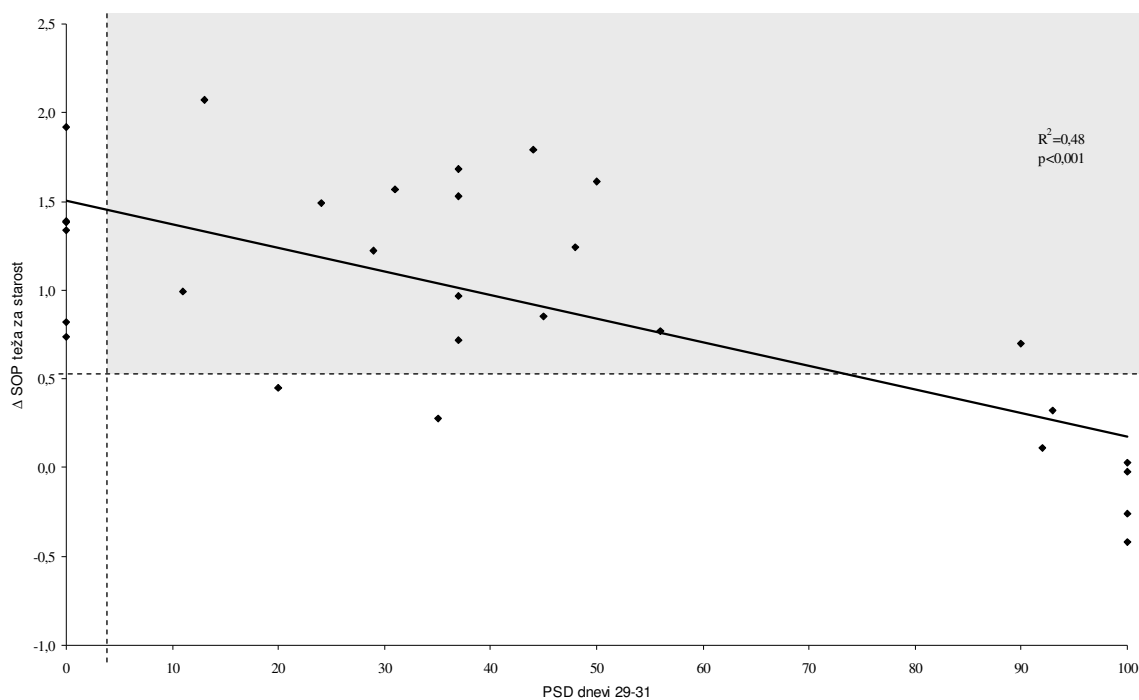
Preglednica 13: Uspeh prehranskega ukrepanja z vidika napredovanja na telesni teži in ohranjanja dojenja pri dojenčkih s FTT

Table 13: Success of nutritional intervention with regard to the defined criteria of catch up growth and continued breastfeeding in infants with FTT

	število dojenčkov		uspeh (%)
	Δ SOP $> 0,5$	Δ SOP $\leq 0,5$	
$PSD_{29-31} = 0$	5	0	100
$PSD_{29-31} > 0$	15	8	65
skupno število dojenčkov (n^a)	20	8	

PSD_{29-31} – prispevek dojenja k celotnemu vnosu mleka v zadnjih treh dneh raziskave; ^a zaradi prepozno izvedenih meritev teže in prehranskega vnosa v zadnjih treh dneh (ob starosti 42 dni) pridobljenih podatkov v izračunih nismo mogli upoštevati, čeprav je bila dojenčica dojena in je ustrezno napredovala na telesni teži

Povečanje telesne teže (g/31 dni) je bilo v povezavi s celotnim dnevnim energijskim vnosom (kJ/kg) ($r = 0,45$, $p < 0,01$) in z dnevnim energijskim vnosom (kJ/kg) iz začetne formule ($r = 0,55$, $p < 0,01$). Energijske potrebe dojenčkov s FTT za doseg optimalne rasti smo s sodelavci na projektu podrobneje predstavili v prispevku Sedej in sod. (2004).



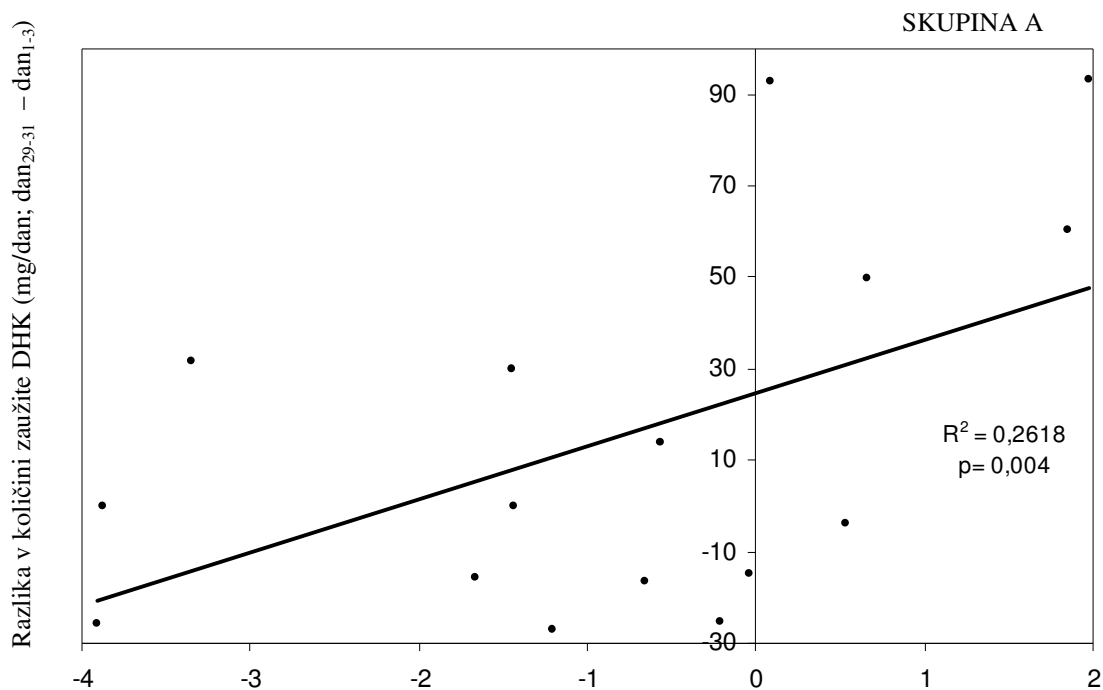
Slika 11: Povezava med razliko v številu standardnih odklonov od povprečja (SOP) teže za starost (dan 31 – dan 1) in PSD (%) v zadnjih treh dneh raziskave pri 29 dojenčkih s FTT (Sedej in sod., 2009)

Figure 11: Correlation between difference in weight-for-age standards deviation scores (study day 31 – study day 1) and CBF (%) during the last three days of the study in 29 infants with FTT (Sedej et al., 2009)

4.5.2 Povezava med prehrano in maščobno-kislinsko sestavo plazme dojenčkov

Z izračunom Pearsonovega korelacijskega koeficienta smo iskali značilne povezave med razliko v količini zaužite ARK (C20:4n-6), DHK (C22:3n-6), ω -3 LCP in ω -6 LCP (mg/dan) tekom zadnjih in prvih treh dni raziskave (dan₂₉₋₃₁ – dan₁₋₃) ter razliko v koncentraciji istih parametrov v posameznih frakcijah plazemskih lipidov (mg/100 g plazme; dan 31 – dan 1). Razlika v količini zaužite DHK (mg/dan) dojenčkov skupine A je bila v pozitivni povezavi z razliko v vsebnosti DHK (mg/100 g plazme) v PL ($r = 0,51$; $p < 0,01$, slika 12).

Pozitiven trend smo našli tudi med razliko v količini zaužite DHK in razliko v vsebnosti DHK v CE ter med razliko v količini zaužite ARK in razliko v vsebnosti ARK v CE v skupini B, vendar povezavi nista bili statistično značilni.



Razlika v vsebnosti DHK v fosfolipidni frakciji plazemskih lipidov (mg/100g plazme, dan 31 – dan 1)

Slika 12: Povezava med razliko v količini zaužite DHK (mg/dan) in razliko v vsebnosti DHK v PL frakciji plazemskih lipidov (mg/100g plazme) dojenčkov skupine A tekom raziskave

Figure 12: Correlation between difference in daily docosahexaenoic acid intake within 31 days (mg) and difference in wt. % of docosahexaenoic acid in PL (study day 31 – study day 1) in with LCP supplemented group of infants with FTT

5 RAZPRAVA IN SKLEPI

Predstavljena raziskava je prva, ki obravnava donošene, dojene dojenčke s FTT po uvedbi dvovrstnega hranjenja. Izhaja iz primerov, ki jih še vedno srečujemo v klinični praksi. Del nadaljnje vsebine o dnevnem energijskem vnosu, porastu telesne teže in uspehu prehranskega ukrepanja je prirejen in dopolnjen po predhodnih objavah (Sedej in sod., 2004; Sedej in sod., 2009).

5.1 USPEH PREHRANSKEGA UKREPANJA

Količina zaužitega mleka

Izmerjen vnos zaužitega humanega mleka dojenčkov s FTT 471 ± 181 g/dan ob vključitvi v raziskavo je bil bistveno nižji kot je pričakovan vnos za starost (vsaj 650 g/dan ali več) (Jensen, 1996; Referenčne vrednosti za vnos hranil, 2004). Celotna količina zaužitega mleka je že v prvih treh dneh raziskave značilno porasla na 755 ± 144 ml/dan. Sklepamo lahko, da je bilo neustrezno napredovanje na telesni teži pogojeno s premajhno količino humanega mleka zaradi hipogalaktije mater.

Količina zaužitega humanega mleka dojenčkov s FTT se je tekom raziskave zmanjšala za približno 20 %, medtem ko se je količina zaužite začetne formule skoraj podvojila. Butte in sod. (2000) so proučevali vpliv kvalitativnih in kvantitativnih razlik med vnosom hranil na parametre rasti in sestavo telesa zdravih donošenih dojenčkov v prvih dveh letih življenja, ki so bili dojeni ali hranjeni s formulo. Med svojimi izsledki so poročali tudi o količinah zaužitega humanega mleka polno dojenih dojenčkov (dečki: 814 ± 177 g/dan in deklice 715 ± 111 g/dan) kot tudi o količinah zaužite formule pri dojenčkih, hranjenih izključno s formulo (dečki: 867 ± 159 g/dan in deklice 809 ± 123 g/dan), v starosti treh mesecev. V drugi raziskavi so Butte in sod. (1992) ugotavljali, ali lahko slabše napredovanje v parametri rasti dojenčkov s podeželja Mehike pripišejo nezadostnemu vnosu humanega mleka. Ugotovili so, da so dojenčki v starosti 4 mesece v povprečju zaužili 885 ± 145 g/dan, kar je primerljivo s količinami, ki jih v enaki starosti zaužijejo dojenčki razvitejših okoljih (711–856 g/dan). Količina zaužitega mleka je bila v pozitivni povezavi s težo, dnevni energijski vnos ni bil prepoznan kot omejevalni dejavnik merjenega parametra rasti. O manjši količini zaužitega humanega mleka (479–619 g/dan) poročajo iz manj razvitih okolij Kenije, Indije in Mehike (WHO, 1985b). Naši dojenčki so v starosti $1,87 \pm 1,70$ mesecev skupno (humano mleko + začetna formula) zaužili 755 ± 144 g mleka/dan in v starosti $2,47 \pm 0,59$ mesecev 856 ± 181 g mleka/dan. Omenjen vnos je primerljiv s povprečnimi količinami za zdravega donošenega dojenčka enake starosti iz razvitejših okolij (Koletzko in sod., 1992; Butte in sod., 2000; Referenčne vrednosti za vnos hranil, 2004).

Prehranski vnos LCP

Prehranski vnos LCP dojenčkov v naši raziskavi je bil odvisen od količine LCP, zaužitih s humanim mlekom, ter od količine LCP, zaužitih z dodano začetno formulo. Referenčne vrednosti za dojenčke priporočajo vnos skupnih in esencialnih maščob (t. j. 4 % energije za LK in 0,5 % energije za ALK) ter razmerje med esencialnima maščobnima kislinama (LK :

ALK = 5 : 1) (Referenčne vrednosti za vnos hranil, 2004). Priporočila za količinski vnos LCP v priporočilih za prehrano dojenčkov nismo našli. Koletzko in sod. (1992) so izračunali, da polno dojen dojenček ob dnevni količini 750 ml popitega materinega mleka s povprečno vsebnostjo 40 g maščob/l zaužije približno 3,0–4,5 g LK/dan (Koletzko in sod., 1992). Za oceno povprečne dnevno zaužite količine LK, ALK, ARK in DHK v svetu smo podobno kot Koletzko in sod., (1992) uporabili podatke:

- o povprečni vsebnosti maščob v humanem mleku (3,8–3,9 g/100ml; Koletzko in sod., 2001a),
- o povprečni dnevno popiti količini humanega mleka ob predpostavki, da je dojenček polno dojen (750 ml; Jensen, 1996; Referenčne vrednosti za vnos hranil, 2004) ter
- o povprečnih utežnih odstotkih posameznih maščobnih kislin v humanem mleku mater, ki uživajo t. i. "zahodni tip prehrane" (10–17 ut. % LK, 0,8–1,4 ut. % ALK, 0,3–0,7 ut. % ARK, in 0,1–0,5 ut. % DHK; Innis, 2003).

Ob upoštevanju zgornjih kriterijev smo izračunali, da polno dojen dojenček dnevno zaužije približno 2,9–4,9 g LK, 230–404 mg ALK; 87–202 mg ARK ter 29–134 mg DHK (v nadaljevanju jih imenujemo ocenjene vrednosti).

Dojenčki, vključeni v našo raziskavo, so tako prve kot tudi zadnje tri dni raziskave v povprečju zaužili 1,7- do 3,7-krat več LK kot jih po naši in Koletzko-vi oceni v povprečju zaužije polno dojen dojenček. To lahko pripišemo visokemu utežnemu odstotku LK v humanem mleku kot tudi v zaužitih začetnih formulah. Tudi prehranski vnos ALK je tekom raziskave, zlasti v zadnjih treh dneh, v obeh skupinah tudi za 4,5-krat (skupina B) presegel ocenjene vrednosti povprečno dnevno zaužite količine ALK v zahodnih državah. Najverjetnejši razlog za visok vnos ALK v skupini B, ki smo ji dodajali F, je višji odstotek ALK, prisotne v F.

Prehranski vnos ARK je bil v prvih in v zadnjih treh dneh v skupini A višji od ocenjene vrednosti, vendar nižji od povprečne ocenjene vrednosti v prvih treh dneh raziskave v skupini B. V zadnjih treh dneh raziskave je v skupini B padel celo pod spodnjo mejo ocenjene vrednosti dnevno povprečno zaužite ARK, kar je odraz dodajanja formule brez LCP (F). Prehranski vnos DHK je bil v območju ocenjenih vrednosti povprečno dnevno zaužite DHK. V skupini A je bil v zadnjih treh dneh višji od zgornje meje ocenjenih vrednosti, kar je odraz dodajanja formule, obogatene z LCP. Omenjena primerjava je pokazala, da ima dohranjevanje z začetno formulo z LCP pri dojenčkih na dvovrstnem hranjenju pomembno vlogo pri doseganju območij prehranskega vnosa LCP, kot ga imajo polno dojeni dojenčki.

Dnevni energijski vnos

Povprečni dnevni energijski vnos v naši raziskavi je bil 587 ± 115 kJ/kg (140 ± 27 kcal/kg) tekom prvih treh dni in 501 ± 99 kJ/kg (120 ± 24 kcal/kg) tekom zadnjih treh dni, kar predstavlja 134 % (dnevi 1–3) in 115 % (dnevi 29–31) priporočenega energijskega vnosa za zdrave dojenčke za njihovo normalno, ne dejansko, telesno težo (starost 1–4 mesece; upoštevajoč spol) (Referenčne vrednosti za vnos hranil, 2004). Naši rezultati so v skladu z oceno energijskega vnosa za podhranjene otroke po MacLeanovi in sod. (1980), ki jo priporočajo za »dohitevalno rast«. V zadnjih letih je bilo predlagano, da je bolj ustrezen izraz »pospeševalna rast« (Singhal in Lucas, 2004). V primerjavi s formulo MacLeanove in sod. (1980), ki so obravnavali otroke z beljakovinsko in energijsko podhranjenostjo marasmus in

kvašiorkor v deželah v razvoju, so naši dojenčki v prvih treh dneh zaužili v povprečju 102 %, v zadnjih treh dneh pa 88 % ocenjenih energijskih potreb za doseg pospeševalne rasti. V primerjavi s formulo Claybour in Hampsey (2008), ki upošteva referenčne vrednosti za zdrave otroke, so naši dojenčki tekom celega meseca v povprečju zaužili 97 % ocenjenih energijskih potreb. Krugman in Dubowitz (2003) sta priporočila, naj bi dojenčki s FTT zaužili okoli 150 % priporočenega dnevnega energijskega vnosa za njihovo pričakovano, ne dejansko, težo za starost. S tem priporočilom se ne strinjamo in menimo, da je previsoko. Iz naših rezultatov lahko domnevamo, da je dodajanje začetne formule zadostno pokrilo dnevne energijske potrebe za začetno pospeševalno rast kot tudi kasnejše višje energijske potrebe. To se odraža v zadovoljivem povečanju telesne teže (Δ SOP teže za starost $> 0,5$ /mesec) pri 21 od 29 dojenčkov s FTT (72 %). Prehitro pridobivanje na telesni teži ni zaželeno, saj vodi pretežno v nalaganje maščobnega tkiva in ne puste mišične mase. Naslednja pomembna skrb je povečano tveganje za srčno-žilne bolezni v odrasli dobi kot posledica prehitre rasti v prvih mesecih življenja (Singhal in Lucas, 2004; Singhal in sod., 2004). Pospeševanje rasti pri otrocih je povezano s kasnejšo rezistenco na inzulin, debelostjo in srčno-žilnimi obolenji. Najbolj kritično obdobje za pospeševanje rasti so prav prvi meseci življenja, kar je povezano s povišano koncentracijo inzulina pri dojenčkih, majhnih za gestacijsko starost, debelostjo v kasnejšem obdobju in dislipidemijo (Singhal in sod., 2004a). Najvišji v literaturi prikazan energijski vnos pri hudo podhranjenih otrocih, ki so v času okrevanja uživali hrano po volji, je za kratek čas dosegel celo 219 kcal/kg/dan (Prentice in Paul, 2000). Pri dojenčkih v naši raziskavi tudi v prvih treh dneh podobnega energijskega vnosa ni bilo, kar kaže, da v našem okolju ne gre za hujše oblike podhranjenosti.

Porast telesne teže

Edina konkretna ocena hitrosti pridobivanja telesne teže po uvedbi začetnih mlek pri dojenih dojenčkih s premajhno telesno težo, ki smo jo našli v literaturi, je bila ocena Neifertove (2001), nikjer pa nismo zasledili raziskave o trendu dojenja po uvedbi začetnih formul dojenčkom s FTT ali podhranjenim dojenčkom. Dojeni dojenčki s FTT so po 31-ih dneh dodajanja začetne mlečne formule v povprečju pridobili 1282 ± 355 g (480–1890 g). Po zgoraj omenjeni oceni naj bi le-ti v 31-ih dneh pridobili 952–1064 g (pričakovana začetna pospeševalna rast (3×56 g/dan ali 7×56 g/dan) + vzdrževalna rast (28×28 g/dan ali 24×28 g/dan), če predpostavimo, da pospeševalna rast traja 3 do 7 dni). Dvaindvajset izmed 30 dojenčkov s FTT je telesno težo povečalo skladno ali celo nad priporočenim porastom telesne teže po Neifert (2001). Sedem izmed 30 jih je pridobilo več, kot je pričakovano pri zdravih dojenčkih z normalnim napredovanjem na telesni teži, t. j. 600g/mesec (Kliegman in sod., 2011), in enako ali malo pod spodnjo mejo po Neifertovi (2001) priporočenih 952 g/mesec (pridobili so 840–950 g). Le en dojenček po mesecu dni prehranskega ukrepanja ni dosegel pospeševalne rasti (pridobil je le 480g v 31-ih dneh), saj je mati že osem dni po uvedbi začetne formule kljub zdravniškemu nasvetu prenehala z dodajanjem.

Popoln uspeh prehranskega ukrepanja

Popoln uspeh prehranskega ukrepanja je bil dosežen pri dojenčkih, ki so ustrezno nadoknadili rast (Δ SOP teže za starost $> 0,5$ /mesec) in hkrati ohranili dojenje ($PSD_{29-31} > 0$). Popoln

uspeh prehranskega ukrepanja, kot smo si ga zadali s soavtorji, je bil dosežen pri 15 od 29 dojenčkov (52 %). Po naših kriterijih uspešnosti prehranskega ukrepanja so imeli najslabši uspeh dojenčki s $PSD_{29-31} > 90$, saj jih 6 od 7 ni uspelo zadostiti obema kriterijema. Kljub temu bi izpostavili skupino 9 mater, ki so v prvih treh dneh raziskave pretežno dojile ($PSD_{1-3} > 75$). Kar pri 7 od 9 mater je PSD_{29-31} v primerjavi s PSD_{1-3} celo porasel za skoraj 10 %, kljub dodajanju začetne formule. Dojenčki teh mater so v povprečju pridobili 900 ± 255 g/mesec, kar je malo pod priporočilom Neifertove (2001). Ti spodbudni rezultati bi lahko omilili strahove, razširjene med starši in zdravstvenimi delavci, da uvedba formule za dojenčke ogrozi uspešnost dojenja. Ohranjanje dojenja, kljub potrebnemu dodajanju začetne formule, smo dosegli pri 81 % dojenčkov, med njimi je dobra polovica dojenčkov dosegla popoln uspeh prehranskega ukrepanja. Po naših izsledkih je ohranjanje dojenja ob sočasnem dodajanju začetne formule možno in uspešno. Polno dojenje dojenčkov s FTT za vsako ceno je potem, ko so bile izčrpane že vse strategije za podporo dojenju, lahko tudi nevarno.

Vpliv prehranskega ukrepanja na parametre rasti

Pričakovano so se po enomesečnem dodajanju začetne formule povečali vsi merjeni parametri rasti: telesna teža, dolžina in obseg glave. Vrsta zaužite začetne formule (F ali F-LCP) ni vplivala na parametre rasti dojenčkov s FTT. Zgolj ena izmed mnogih raziskav je ugotovila slabše pridobivanje na telesni teži po hranjenju s formulo z visoko vsebnostjo ALK (ω -3), vendar le ob meritvi v četrtem mesecu starosti in ne kasneje (Fleith in Clandinin, 2005). Mnoge raziskave so podobno kot naša primerjale parametre rasti donošenih dojenčkov, hranjenih s F-LCP (v kateri so bile prisotne tako ω -3 kot tudi ω -6 maščobne kisline) ali s F (Makrides in sod., 1995; Auestad in sod., 1997; Jørgensen in sod., 1998; Birch in sod., 1998; Lucas in sod., 1999; Makrides in sod., 1999; Auestad in sod., 2001). Ne glede na različna razmerja ω -3 LCP in ω -6 LCP ter različne vire LCP, ki so bile v F-LCP, niso v prav nobeni izmed raziskav našli vpliva prehrane na parametre rasti. Parametri rast so bili podobni v različnih časovnih točkah meritev do največ drugega leta starosti. Večina raziskav ni bila načrtovana posebej za spremljanje vpliva prehrane na parametre rasti. Običajno so le-ti, tako kot v naši raziskavi, predstavljeni kot antropometrični del niza ostalih proučevanih podatkov.

Nepričakovano smo ugotovili visoko značilno razliko v povečanju obsega glave za starost kot rezultat interakcije skupine in časa ($p < 0,015$), česar v okviru te raziskave ni mogoče razložiti, saj raziskava ni bila načrtovana v tej smeri. Dojenčkom skupine B se je obseg glave tekom raziskave povečal bolj kot dojenčkom skupine A; za 0,04 SOP obsega glave za starost oz. 0,54 cm). Omenjena razlika bi lahko bila tudi posledica napak pri meritvah, saj je bilo izmerjeno povečanje v obsegu glave v širokem območju 1 do 5 cm, tudi SD je bil nižji v skupini A kot v skupini B (0,7 proti 1,0). Obseg glave dojenčkov s FTT (skupina A in skupina B skupaj) se je v povprečju tekom enomesečne raziskave povečal za $2,2 \pm 0,9$ cm, kar je več kot je priporočeno za zdrave dojenčke. Obseg glave odraža rast možgan in naj bi se v prvih treh mesecih povečal za 2 cm/mesec (Kliegman in sod., 2011). Povečanje obsega glave pri dojenčkih s FTT lahko odraža hitrejšo rast glave po prehranskem ukrepanju, vendar zgolj to opažanje ni dovolj, da bi lahko prehrano dojenčkov povezovali z razvojem možgan. Donma in Donma (1999) sta proučevala vpliv različnih vrst prehrane na obseg glave zdravih

novorojenčkov. Ob starosti mesec dni sta ugotovila večji obseg glave pri polno dojenih dojenčkih kot pri dojenčkih, ki so bili hranjeni dvovrstno ali pa hranjeni le z začetno formulo. V drugi raziskavi so Lucas in sod. (1997) proučevali donošene dojenčke, rojene majhne za gestacijsko starost. Ugotovili so, da so polno dojeni dojenčki hitreje napredovali na telesni teži ter imeli večji obseg glave v 3. mesecu starosti kot dojenčki, ki so bili hranjeni s standardno začetno formulo. SDS obsega glave za starost je bil po treh mesecih dojenja za 0,53 višji kot ob rojstvu. V naši raziskavi pa se je SDS obsega glave za starost po enomesečnem dodajanju začetne formule povečal za 0,67. Ti raziskavi namigujeta, da bi dojenje pri dojenčkih v zgodnjem obdobju po rojstvu lahko spodbujalo hitrejšo rast obsega glave. Podatkov o tem, kakšna naj bi bila pospeševalna rast obsega glave pri dojenčkih s FTT ali podhranjenih dojenčkih nismo našli. Dobljene rezultate bi bilo zanimivo nadgraditi s sledenjem in nevrološkimi meritvami vseh dojenčkov, ki so zaključili raziskavo (skupine A, B in C). Omejitev te raziskave je, da ni bila načrtovana v smeri kontinuiranega spremljanja nevroloških parametrov in da so sedaj dojenčki stari že od 7 do 11 let.

5.2 VSEBNOST MAŠČOB IN MAŠČOBNO-KISLINSKA SESTAVA ZRELEGA HUMANEGA MLEKA

5.2.1 Vsebnost maščob

Povprečna vsebnost maščob v zrelem humanem mleku znaša v povprečju okrog 3,8–3,9 g/100 ml. Večji del maščob humanega mleka izhaja iz prehrane matere in njenih maščobnih rezerv. Del maščob nastane v mlečni žlezi z endogeno sintezo iz glukoze (Koletzko in sod., 2001b). Vsebnost maščob v zrelem humanem mleku slovenskih doječih mamic je primerljiva z vsebnostjo maščob, ki jo navajajo v literaturi. V naši raziskavi nismo našli neposredne povezave med vnosom maščob doječih mater v krajšem časovnem obdobju (sedem dni) in deležem maščob v materinem mleku (Širca Čampa in sod., 2005).

5.2.2 Večkrat nenasičene maščobne kisline v zrelem humanem mleku

Zaradi specifičnosti izbora mater v skupino AB smo za primerjavo maščobno-kislinske sestave lipidov zrelega humanega mleka z rezultati evropskih držav uporabili kontrolno skupino naše raziskave (skupino C). V primerjavi (preglednica 14) smo uporabili pregledno raziskavo Koletzkoga in sod. (1992), v kateri je podana ocena maščobno-kislinske sestave zrelega materinega mleka 14-ih raziskav devetih evropskih držav, in 14-ih raziskav novejšega datuma prav tako opravljenih v devetih evropskih državah (de la Presa-Owens in sod., 1996; Genzel-Boroviczeny in sod., 1997; Pugo-Gunsam in sod., 1999; Fidler in sod., 2000b; Marangoni in sod., 2000; Xiang in sod., 2000; Jørgensen in sod., 2001; Marangoni in sod., 2002; Smit in sod., 2002; Minda in sod., 2004; Kovács in sod., 2005; Sala-Vila in sod., 2005; Yuhas in sod., 2005; Moltó-Puigmartí in sod., 2011). V vseh citiranih člankih so analizirali maščobno-kislinsko sestavo skupnih lipidov humanega mleka, izjema sta bili raziskavi Sala-Vila in sod. (2005) in Yuhas in sod. (2006), kjer so rezultate prikazali kot maščobno-kislinsko sestavo trigliceridov. Trigliceridi predstavljajo več kot 98 % skupnih lipidov humanega mleka,

zato se maščobno-kislinska sestava trigliceridov le malo razlikuje od maščobno-kislinske sestave lipidov humanega mleka (Jensen, 1996; Koletzko in sod., 2001b; Fidler Mis, 2004). V lipidih humanega mleka so našli 199 različnih maščobnih kislin, od tega 7 maščobnih kislin v količini > 1 ut. %, C12:0, C14:0, C16:0, C18:0, C18:1 (n-9c+t, ter n-7) in C18:2n-6 (c+t) (Jensen, 1996). V naši raziskavi sta bili v ut. % > 1 poleg navedenih prisotni še C16:1n-7 in C18:3n-3. Slednji višji odstotek maščobne kisline bi lahko bil odraz spremenjene prehrane (večjega vnosa hrane rastlinskega izvora) v zadnjih dvajsetih letih.

Primerjani rezultati so bili pridobljeni v različnih analitskih pogojih. Rezultati zadnje raziskave humanega mleka (Moltó-Puigmartí in sod., 2011) podajajo rezultate tudi za cis in *trans* izomere LK kot tudi za konjugirano LK v obeh izomerah ločeno, v vseh preteklih raziskavah so rezultati za te maščobne kisline podani skupaj. V Evropi obširne raziskave sestave humanega mleka, kjer bi bila primerjava neodvisna od metodoloških sprememb, po podatkih iz literature ni zaslediti. Obširno raziskavo, kjer so bili vsi rezultati pridobljeni pod enakimi analitskimi pogoji, je objavil Yuhas in sod. (2004). Proučevali so 440 vzorcev humanega mleka iz devetih različnih svetovnih regij: Azije, Avstralije, Evrope, Severne in Južne Amerike.

Pretekle raziskave so pokazale regionalne razlike v maščobno-kislinski sestavi zrelega humanega mleka v Španiji (de la Presa-Owens in sod., 1996), Franciji (Yuhas in sod., 2006) in Kitajski (Ruan in sod., 1995). Nanje je opozorila tudi prva raziskava o sestavi kolostruma v Sloveniji (Fidler Mis in sod., 2001; Fidler Mis, 1997). Sestava je odvisna tudi od pretekle in sedanje prehrane matere (Sauerwald in sod., 2001; Koletzko in Rodriguez-Palmero, 1999). Zadnja epidemiološka raziskava o prehrani v Sloveniji poroča o razlikah v prehranjevalnih navadah med različnimi regijami (Gabrijelčič Blenkuš in sod., 2009). Naš raziskovalni vzorec je zajemal le pare dojenček – mati iz osrednje slovenske regije, saj določitev regionalnih razlik v sestavi zrelega humanega mleka ni bila predmet naše raziskave.

Preglednica 14: Odstotek večkrat nenasičenih maščobnih kislin v vzorcih zrelega humanega mleka iz Slovenije in drugih evropskih držav

Table 14: Polyunsaturated fatty acids in samples of mature human milk from Slovenia and different European countries (wt. %)

	naša raziskava	Koletzko in sod. (1992)	de la Presa-Owens in sod. (1996)	Genzel-Boroviczeny in sod. (1997)	Pugo-Gunsam in sod. (1999)	Fidler in sod. (2000b)	Marangoni in sod. (2000)	Xiang in sod. (2000)	
država	Slovenija	9 evropskih držav ^{II}	Španija	Nemčija	Francija	Nemčija	Italija	Švedska	
posebnosti	dojenčki z normalnim napredovanjem na telesni teži	14 raziskav	matere iz dveh regij	vsejede matere		Δ			
starost (dni)	28 – 107	12 - 240	20 - 30	30	42	120	90	30	
n	41 mater	329 mater	40 mater	57 mater	15 mater	5 mater	10 mater	19 mater	
maščobne kisline	\bar{X} SO	mediana	mediana	mediana	\bar{X} SNP	mediana	\bar{X} SO	\bar{X} SNP	
	družina ω-6								
C18:2n-6 (c+t)	16,15 3,38	11,00	12,02	11,33	11,81 0,86	8,69	12,08 2,07	10,29 0,51	
C18:3n-6	0,14 0,05	-	-	0,18	0,06 0,01	0,18	0,12 0,03	0,16 0,03	
C20:2n-6	0,38 0,08	0,30	0,41	0,30	0,21 0,02	0,21	0,30 0,19	0,28 0,01	
C20:3n-6	0,39 0,08	0,30	0,50	0,38	0,25 0,01	0,33	0,40 0,07	0,37 0,02	
C20:4n-6	0,50 0,10	0,50	0,50	0,45	0,24 0,02	0,47	0,54 0,09	0,42 0,02	
C22:2n-6	0,04 0,02	-	-	-	-	0,05	-	-	
C22:4n-6	0,13 0,03	0,10	0,17	0,08	0,07 0,02	0,10	0,09 0,03	-	
	družina ω-3								
C18:3n-3	1,15 0,33	0,90	0,78	0,90	0,55 0,06	0,57	0,73 0,38	1,25 0,08	
C20:3n-3	0,05 0,01	-	-	0,05	0,02 0,00	0,05	-	0,05 0,01	
C20:5n-3	0,09 0,05	0,20	0,14	0,05	0,03 0,01	0,07	0,06 0,02	0,06 0,01	
C22:5n-3	0,20 0,06	0,20	0,12	0,15	0,07 0,00	0,17	0,12 0,06	-	
C22:6n-3	0,26 0,21	0,30	0,34	0,23	0,14 0,01	0,28	0,25 0,07	0,28 0,02	
	vsote in razmerja maščobnih kislin								
NMK	40,94 4,92	45,20	41,09	44,30	48,23 1,32	45,60	38,89 4,17	42,94 0,53	
ENMK	39,25 3,91	38,80	41,97	31,50	36,78 0,77	41,00	46,38 3,90	43,74 0,62	
VNMK	19,80 3,48	13,60	15,23	14,10 ^a	13,69 ^a	11,20	14,73 2,20	13,31 0,60	
∑ ω-3 LCP	0,60 0,30	0,60	0,64	0,48	0,28 0,02	0,52	0,43 ^a	0,39 ^a	
∑ ω-6 LCP	1,44 0,22	1,20	1,60	1,28	0,70 0,28	1,15	1,30 ^a	1,32 ^a	
∑ ω-6 LCP / ∑ ω-3 LCP	2,66 0,68	2,70	2,51	2,58	2,62 0,15	2,21 ^a	3,20 ^a	3,52 0,31	
C18:2n-6 / C18:3n-3	15,21 5,61	12,10	13,73	12,59 ^a	23,77 1,99	15,24 ^a	16,54 ^a	8,62 0,47	

^a – vrednost je izračunana iz podatkov izvirnega članka

Δ – placebo skupina ob vključitvi v raziskavo o dodajanju enoceličnih olj v prehrano mater

II – Slovaška, Španija, Madžarska, Nemčija, Anglija, Finska, Poljska, Švedska, Danska

»se nadaljuje«

Nadaljevanje preglednice 14: Odstotek večkrat nenasičenih maščobnih kislin v vzorcih zrelega humanega mleka iz Slovenije in drugih evropskih držav

Continuation of the table 14: Polyunsaturated fatty acids in samples of mature human milk from Slovenia and different European countries (wt. %)

	Jørgensen in sod. (2001)	Marangoni in sod. (2002)	Smit in sod. (2002)	Minda in sod. (2004)	Kovács in sod. (2005)	Sala-Vila in sod. (2005)	Yuhas in sod. (2006)	Moltó-Puigmartí in sod. (2011)
država	Danska	Italija	Nizozemska	Madžarska	Madžarska	Španija	Velika Britanija	Španija
posebnosti			vzorci zbrani v 25 letih			maščobno-kislinska sestava trigliceridov.	sestava trigliceridov	
starost (dni)	122	90	15 - 90	28	21	15 - 30	30 - 360	28 - 32
N	39 mater	22 mater	222 mater	18 mater	10 mater	19 mater	44 mater	23 mater
maščobne kisline	\bar{X} SO	\bar{X} SNP	mediana	mediana	mediana	\bar{X} SO	\bar{X} SNP	\bar{X} SO
družina ω -6								
C18:2n-6 (c+t)	10,86 2,74	12,71 0,60	12,84	17,24	16,27	15,93 1,40	10,45 0,41	15,48 ^a
C18:3n-6	-	0,17 0,05	0,09	-	0,09		0,17 0,00	0,12 0,03
C20:2n-6	-	-	0,31	0,41	0,18	0,50 0,04	0,22 0,01	0,38 0,10
C20:3n-6	-	0,30 0,04	0,33	0,47	0,22	0,37 0,03	0,33 0,01	0,43 0,08
C20:4n-6	0,30 0,07	0,40 0,02	0,37	0,59	0,33	0,41 0,05	0,36 0,01	0,49 0,08
C22:2n-6	-	-	-	0,06	-	0,11 0,01	0,04 0,00	0,05 0,02
C22:4n-6	-	0,09 0,01	0,07	0,15	0,06	0,02 0,00	0,08 0,00	0,11 0,03
družina ω -3								
C18:3n-3	1,08 0,41	0,71 0,04	1,02	0,67	0,39	0,49 0,04	1,22 0,06	0,60 0,25
C20:3n-3	-	-	-	0,04	0,03		0,05 0,00	-
C20:5n-3	0,39 0,07	0,06 0,01	0,05	-	-	0,06 0,01	0,11 0,01	0,08 0,02
C22:5n-3	-	0,15 0,02	0,12	0,11	0,03	0,10 0,01	0,18 0,01	0,15 0,07
C22:6n-3	0,35 0,20	0,35 0,06	0,19	0,19	0,11	0,18 0,02	0,24 0,01	0,35 0,27
vsote in razmerja maščobnih kislin								
NMK	42,50 3,63	39,41 1,16	50,55	42,72	42,61	44,15 2,78	42,78 ^a	38,52 5,44
ENMK	38,22 2,86	45,11 1,07	33,04	35,75	36,97	37,14 2,67	40,78 ^a	42,92 5,34
VNMK	-	15,48 0,66	15,53	20,00 ^a	17,89 ^a	18,17 ^a	14,36 ^a	18,53 5,49
$\sum \omega$ -3 LCP	-	0,56 ^a	0,36	0,34	0,71 ^a	0,33 0,03	0,49 0,03	0,58 0,46
$\sum \omega$ -6 LCP	-	1,34 ^a	1,11	1,87	0,81 ^a	1,41 0,13	1,07 0,03	1,48 0,22
$\frac{\sum \omega$ -6 LCP}{ $\sum \omega$ -3 LCP}	-	2,39 ^a	3,19	5,50 ^a	1,14 ^a	4,27 ^a	2,18 ^a	2,55 ^a
C18:2n-6/ C18:3n-3	-	18,97 ^a	11,81	25,73 ^a	41,72 ^a	32,51 ^a	15,44 0,67	27,00 8,71

^a – vrednost je izračunana iz podatkov izvirnega članka

Raziskave, objavljene v letih med 1997 in 2002 kažejo, da je mleko mater, ki uživajo zahodni tip prehrane na splošno sestavljeno iz 10 % do 17 ut. % LK, 0,8 % do 1,4 % ALK, 0,3 % do 0,7 % ARK in 0,1 % do 0,5 %. DHK (Innis, 2003). Tudi sestava humanega mleka iz obeh skupin slovenskih mater se sklada z omenjeno sestavo VNМК.

V humanem mleku je med VNМК z najvišjim odstotkom zastopana LK (Sauerwald in sod., 2001; Koletzko in sod., 2001b). Zrelo humano mleko mater donošenih dojenčkov z normalnim napredovanjem na telesni teži v naši raziskavi je imelo tretji najvišji ut. % LK izmed 16-ih primerjanih evropskih raziskav, objavljenih med leti 1992 in 2011. Z vrednostjo 16,15 ut. % se razvršča med mleko madžarskih (17,24 in 16,27 ut. %) in španskih mater (15,93 in 15,48 ut. %). O visoki vsebnosti LK > 15 ut. % v zrelem humanem mleku poročajo v večini evropskih raziskav zadnjih desetih let (Minda in sod., 2004; Kovács in sod., 2005; Sala-Vila in sod., 2005; Moltó-Puigmartí in sod., 2011). Visoke vsebnosti LK so opažene tudi v kolostromu, prehodnem in zrelem mleku mater tako donošenih kot nedonošenih dojenčkov (Moltó-Puigmartí in sod., 2011) kot tudi v mleku mater s podeželskega področja Kitajske (Xiang in sod., 2005). Že Sauerwald in sod. (2001) ugotavljajo, da se je vsebnost LK v humanem mleku v zadnjih desetletjih podvojila, kar je lahko odraz sprememb v prehrani zahodnih držav v smeri višjega vnosa ω -6 maščobnih kislin. S to ugotovitvijo se skladajo tudi rezultati naše primerjave, ki kažejo, da je odstotek LK v zadnjih dvajsetih letih porasel tudi za 1,6-krat (z 11,00 ut. %, (mediana 14-ih evropskih raziskav (Koletzko in sod., 1992) na 17,24 ut. % na Madžarskem (Minda in sod., 2004)). Delež LK in ALK v materinem mleku je dokaj variabilen in odvisen od prehrane mater. Pri strogih vegetarijankah in vegetarijankah so ut. % LK in ALK višji kot pri nevegetarijankah (Sanders in Reddy, 1992). Naše opažanje lahko podpremo tudi z visokim prehranskim vnosom LK (12,8 g/dan), saj so matere za pripravo jedi uporabljale poleg olivnega olja pretežno sončnično olje (Širca Čampa in sod., 2005), ki je bogat vir LK (Covington, 2004). Prehranski vnos ω -6 je s 5,1 % energije za dvakrat presegel priporočene vrednosti, medtem ko je bil vnos ω -3 v skladu s priporočili (Širca Čampa in sod., 2005).

Zanimivo je, da so ut. % LK in ALK v humanem mleku mater naše raziskave bolj skladni z ut. % pri lakto-ovo vegetarijankah (16,15 proti 19,7 ut. % LK in 1,15 proti 1,25 ut. % ALK) kot pri nevegetarijankah ali strogih vegetarijankah (Sanders in Reddy, 1992).

Porušeno razmerje prekurzorskih maščobnih kislin LK in ALK v prehrani mater lahko privede do neravnovesja pri pretvorbi ω -3 in ω -6 maščobnih kislin. Neuravnoteženo razmerje med n-6 in n-3 maščobnimi kislinami lahko zaradi tekmovanja maščobnih kislin za skupni encimski sistem neugodno vpliva na maščobno-kislinsko sestavo rastočih tkiv in na ravnotežje antagonistično učinkujočih eikozanoidov (Referenčne vrednosti za vnos hranil, 2004). Raziskave s stabilnimi izotopi so pokazale, da približno 30 % LK v humanem mleku izvira neposredno iz prehrane (Demmelmaier in sod., 1998). Pugo-Gunsum s sod. (1999) je ugotovil, da je okoli 60 % LK v zrelem humanem mleku izviralo iz maščobnega tkiva mater. Martin s sod. (1993) je do podobne ugotovitve prišel s primerjavo maščobnega tkiva in kolostruma. Sklepamo lahko, da je visoka vsebnost LK v humanem mleku slovenskih mater odraz prehrane med nosečnostjo.

Razmerje med LK in ALK je pri slovenskih materah na zgornji meji glede na slovenska in evropska priporočila (med 5 : 1 in 15 : 1) (Koletzko in sod., 2005b; Pravilnik o

začetnih..., 2007; Sedmak in sod., 2010). Porušeno razmerje LK/ALK lahko posega v normalno delovanje imunskega sistema (Sauerwald in sod., 2001). Razmerje LK/ALK je bilo med primerjanimi državami najožje (8,6 : 1) na Švedskem in najširše (41,7 : 1) na Madžarskem. O razmerju, širšem kot 15 : 1, sicer poročajo vse zgoraj primerjane raziskave, objavljene v zadnjem desetletju, z izjemo Nizozemske (Smit in sod., 2002).

V raziskavah maščobno-kislinske sestave zrelega humanega mleka najpogosteje poročajo o vsebnosti tistih ω -6 LCP in ω -3 LCP, ki so v mleku zastopane z najvišjim odstotkom. To so C20:2n-6, DHGLK (C20:3n-6), ARK (C20:4n-6) in C22:4n-6 ter EPK (C20:5n-3), ω -3 DKP (C22:5n-3) in DHK (C22:6n-3). To smo potrdili tudi z našo primerjavo. Prevladujoča ω -6 LCP je ARK, ω -3 LCP pa DHK. Odstotek ω -6 LCP v humanem mleku je v večini vsaj 10-krat nižji od odstotka LK (Sauerwald in sod., 2001).

Za razliko od LK, je bil odstotek ARK med državami razmeroma stalen, okoli 0,5 ut. % pri 2/3 primerjanih držav, in skladen s podatki zadnje svetovne metaanalize, ki navaja, da je vsebnost ARK v humanem mleku $0,47 \pm 0,13$ ut. % (Brenna in sod., 2007). O nižjem odstotku poročajo predvsem iz držav, ki so imele tudi nižji odstotek LK (Nizozemska, Velika Britanija, Francija in Danska). Vendar višji odstotek LK ni napovednik višjega odstotka ARK (npr. raziskava Kovács in sod., 2005). Pretvorba prehranske LK v ARK je zelo neučinkovita. Po podatkih iz literature le 1,1 (Del Prado in sod., 2001) do 1,2 % ARK v mleku (Demmelmaier in sod., 1998) izvira iz endogene sinteze s stabilnimi izotopi označene zaužite LK. Avtorji so sklepali, da izločanje ARK s humanim mlekom ni odvisno od prehranskega vnosa LK, temveč bi ARK lahko izvirala predvsem iz maščobnih zalog matere. Tudi Smit in sod. (2000a) ugotavljajo, da dodajanje ARK same v prehrano mater nima učinka na vsebnost ARK, temveč celo zmanjšuje vsebnost EPK in DHK v humanem mleku.

DHK z 0,26 ut. % v naši raziskavi predstavlja srednjo vrednost glede na vrednosti DHK ostalih primerjanih evropskih držav. Najvišje vrednosti (0,35 ut. %) so bile izmerjene v na Danskem (2001), v Italiji (2002) in Španiji (2011). O najnižji vrednosti, t. j. 0,11 ut. % poročajo v raziskavi iz Madžarske (2005). Yuhás in sod. (2006) so izmerili vrednosti DHK nad 0,4 ut. % v regijah z večjim uživanjem rib (Japonska, Filipini, Čile). Nasprotno pa so v regijah, kjer je uživanje rib manjše (Kanada, ZDA), izmerili vrednosti DHK pod 0,2 ut. %. Podobno so tudi Brenna in sod. (2007) poročali, da imajo obalna področja ali otočja z visokim prehranskim vnosom morske hrane tudi največjo izmerjeno vsebnost DHK (0,6–1,4 ut. %) v humanem mleku. Podeželska področja, kjer običajno uživajo manj morske hrane, pa imajo tudi najnižjo izmerjeno vsebnost DHK (0,06–0,14 ut. %) v humanem mleku. Po podatkih omenjene svetovne metaanalize je povprečna vsebnost DHK v humanem mleku $0,32 \pm 0,22$ ut. % (Brenna in sod., 2007), kar se sklada s predhodno oceno Koletzkega in sod. (1992), ki navajajo, da je odstotek DHK v večini raziskav v območju 0,2 do 0,4 ut. %. To lahko potrdimo tudi v naši primerjavi. Sklepamo lahko, da bi slovenske doječe matere lahko uživale več DHK. Vpliv prehrane na vsebnost DHK v humanem mleku je jasen. Fidler in sod. (2000b) so ugotovili, da po dveh tednih dodajanja DHK v hrano približno 20 % zaužite DHK preide v humano mleko. Obogatitev prehrane doječe matere z ribjim oljem (Henderson in sod., 1992) ali enoceličnimi olji (Makrides in sod., 1996) značilno poveča DHK v materinem mleku oz. v fosfolipidni

frakciji krvi iz popkovine (Helland in sod., 2001), pri čemer je povečanje odvisno od odmerka dodane DHK v prehrani. Povečan odmerek DHK v prehrani pa ni vplival na vsebnost ARK v humanem mleku (Makrides in sod., 1996).

Nekatere raziskave o vplivu dodatka LCP začetni formuli ugotavljajo ugoden vpliv na razvoj vida in psihomotorični razvoj pri nedonošenih in morda tudi pri donošenih dojenčkih (Uauy in sod., 2003; Yuhás in sod., 2005). Razmerje ω -6 LCP/ ω -3 LCP v mleku slovenskih mater je enako razmerju predhodne pregledne evropske raziskave o sestavi materinega mleka (Koletzko in sod., 1992). V isti raziskavi avtorji ugotavljajo, da imajo razlike v prehranjevalnih navadah severno- in južноеvropskih držav neznamenit vpliv na LCP v zrelem humanem mleku in da je bilo omenjeno razmerje v vseh raziskavah med leti 1980 do 1992 med 1,6 in 4. Sklepamo lahko, da uživajo slovenske doječe matere hrano s podobno sestavo LCP kot jo uživajo matere v večini srednjeevropskih držav. Široko razmerje med ω -6 LCP in ω -3 LCP doječih mater iz Madžarske, Švedske ter mesta Granade v Španiji kaže na dejstvo, da ima njihovo mleko malo ω -3 LCP, katerih naravni vir so predvsem morske ribe, ki vsebujejo veliko maščobe (slanik, skuša, losos in tuna) (Referenčne vrednosti za vnos hranil D-A-CH, 2004), in ribja olja (Covington, 2004). Ostala olja za običajno gospodinjstvo imajo relativno nizko vsebnost ω -3 LCP z izjemo sojinega, lanenega in nekaterih vrst repičnega olja (Uauy in Castillo, 2003).

Povezav med uživanjem maščob in maščobno-kislinsko sestavo mleka mater nismo iskali, saj raziskava ni bila oblikovana v smislu iskanja teh povezav (Širca Čampa in sod., 2003). Čeprav so dojenčki naše kontrolne skupine lepo napredovali na telesni teži in je sestava materinega mleka med ugodnejšimi v primerjavi s sestavo materinega mleka ostalih evropskih držav, še ne moremo sklepati, da je tudi prehrana doječih mater ustrezna. Le malo maščobnih kislin v humanem mleku izvira neposredno iz prehrane matere, zato maščobno tkivo mater pomembno prispeva k sestavi humanega mleka. Nihanja v prehranskem vnosu maščobnih kislin so do neke mere tudi presnovno regulirana in vsebnost VNМК, predvsem vsebnost LCP v humanem mleku, ostaja relativno stabilna (Demmelmaier in sod., 1998; Koletzko in Rodrigues Palmero, 1999; Koletzko in sod., 2001b; Larque in sod., 2002). Sklepamo lahko, da z zagotavljanjem ustreznega hranilnega sestava humanega mleka doječe matere praznijo svoje maščobne zaloge in v primeru slabega prehranskega statusa morebiti ogrožajo svoje zdravje.

Z uporabo internega standarda smo pridobili tudi podatke o koncentraciji (mg/100g humanega mleka) posameznih maščobnih kislin v zrelem humanem mleku in jih primerjali z ocenjenimi vrednostmi povprečne dnevne količine maščobnih kislin v humanem mleku mater, ki uživajo zahodni tip prehrane (glej odstavek »prehranski vnos LCP« v poglavju 5.1). Za pretvorbo enot iz mg maščobne kisline/100g mleka v mg maščobne kisline/100kcal mleka smo uporabili podatek o povprečni energijski vrednosti humanega mleka v srednjeevropskem prostoru (Souci in sod., 2000), kar znaša 69,04 kcal/100g humanega mleka. Ob upoštevanju vseh kriterijev (Koletzko in sod., 2001a; Innis, 2003, Souci in sod., 2000) smo izračunali oceno, da vsebuje humano mleko v povprečju 573–968 mg/100kcal LK, 45–80 mg/100 kcal ALK, 17–40 mg/100 kcal ARK in 6–26 mg/100 kcal DHK. Zrelo humano mleko naše raziskave je imelo $5,24 \pm 1,68$ g/100kcal maščob, 778 ± 195 mg/100kcal LK, 55 ± 22 mg/100kcal ALK, 24 ± 8

mg/100kcal ARK in 12 ± 6 mg/100kcal DHK. Koncentracija LK v humanem mleku je bila na zgornji meji po naših izračunih ocenjenih vrednosti za povprečno vsebnost LK v humanem mleku. Koncentracija ALK, ARK in DHK je bila nižja kot izračunana povprečna ocenjena vrednost, vendar v območjih, kot smo jih izračunali iz podatkov iz literature. Koncentracija 16,3 mg/100g ARK in 8,1 mg/100g DHK v humanem mleku naših mater je primerljiva z vrednostmi, ki jih ob treh mesecih laktacije navajajo v italijanski raziskavi (15 mg/dcl humanega mleka ARK in 7,3mg/dcl humanega mleka DHK) (Agostoni in sod., 1999). Marangoni in sod. (2000) v novejši italijanski raziskavi poročajo o podobnih koncentracijah ARK (15,9 mg/dcl) in DHK (7,3 mg/dcl) ter ugotavljajo, da so koncentracije LCP (predvsem DHK) ostale skoraj stalne skozi celotno trimesečno obdobje dojenja, kljub temu da se je skupna vsebnost maščob od kolostruma do zrelega mleka povečala za več kot dvakrat.

Splošno lahko ocenimo, da je maščobno-kislinska sestava zrelega humanega mleka mater dojenčkov z normalnim napredovanjem na telesni teži naše raziskave med ugodnejšimi v primerjavi s sestavo materinega mleka ostalih evropskih držav.

5.2.3 Večkrat nenasičene maščobne kisline v mleku mater dojenčkov s FTT

V literaturi nismo zasledili raziskav, ki bi obravnavale pare mati – dojen dojenček s FTT, zato rezultate naše raziskave lahko primerjamo s kontrolno skupino parov mati – dojen dojenček z normalnim napredovanjem na telesni teži ter izsledki starejših objav, ki so obravnavale podhranjene dojenčke in njihove matere (Smit in sod., 2000a; Marin in sod., 2000; preglednica 15). Raziskava izhaja iz primerov, ki jih še vedno srečujemo v klinični praksi. Poudariti pa je potrebno, da je na Pediatrični kliniki Univerzitetnega kliničnega centra v Ljubljani po objavi prvih rezultatov naše raziskave v javnosti, z osveščanjem patronažne službe in celotne zdravstvene javnosti, prišlo do drastičnega upada dojenčkov, sprejetih zaradi podhranjenosti (Sedmak in sod., 2008).

LCP imajo pomembno vlogo v razvoju vida in intelektualnih sposobnosti dojenčka (Koletzko in Rodriguez-Palmero, 1999), pripisujejo jim tudi vse večjo vlogo v kasnejšem razvoju intelektualnih procesov otrok (Ryan in sod., 2010). Gil in sod. (2003) so z raziskavo na beljakovinsko-energijsko podhranjenih pujskih dokazali, da LCP pomembno vplivajo tudi na obnovo črevesnih lezij med okrevanjem po podhranjenosti. LCP so nujno potrebne v zadnji tretjini nosečnosti in vse do drugega leta starosti, ko poteka hitra rast in razvoj človeških možganov. Pred rojstvom se zarodek z DHK in ARK, potrebnima za razvoj zarodka, oskrbuje skozi posteljico. Po rojstvu pa preko humanega mleka ali z LCP obogateno začetno formulo (Ryan in sod., 2010). Maščobno-kislinska sestava humanega mleka je v tesni povezavi z njenimi maščobnimi zalogami med dojenjem (Martin in sod., 1993; Demmelair in sod., 2001; Del Prado in sod., 2001). Pričakovati gre, da slaba oskrba z LCP s humanim mlekom dodatno prispeva k številnim kliničnim težavam, povezanim z beljakovinsko-energijsko podhranjenostjo, pri dojenčkih..

Smit in sod. (2000a) so v zrelem mleku pakistanskih mater podhranjenih dojenčkov ugotovili nižji odstotek vseh ω -3 LCP in večine ω -6 LCP (LK, C20:2n-6, DHGLK in ARK) v primerjavi s kontrolno skupino mleka nizozemskih mater, kar so avtorji

pripisovali izrazitim razlikam v prehrani doječih mater. Nepričakovano so rezultati naše raziskave pokazali ravno nasprotno. Mleko mater s hipogalaktijo (skupina AB) je vsebovalo statistično zelo visoko značilno višji odstotek ω -6 LCP, zlasti na račun DHGLK in ARK, in neznatno višje vrednosti LK in C20:2n-6 kot mleko mater kontrolne skupine (skupina C). Skupina AB je imela tudi neznatno višji odstotek ω -3 LCP. Omenjeni ugotovitvi veljata tudi za absolutne vsebnosti (koncentracije v mg/100g humanega mleka) maščobnih kislin. V okviru te raziskave omenjenih razlik v maščobno-kislinski sestavi mleka ni mogoče razložiti. Obstaja možnost, da so se pri materah s hipogalaktijo zaradi majhnega izločanja humanega mleka (v povprečju le 470 ml/dan) zaloge ω -6 LCP praznile počasneje kot pri materah, ki so proizvajale večjo količino mleka (povprečno 750 ml/dan; Jensen, 1996). Do podobnih zaključkov so prišli tudi Kovács in sod. (2005) v raziskavi, kjer so primerjali humano mleko mater donošenih in nedonošenih dojenčkov. Ugotovili so boljši LCP status pri nedonošenih dojenčkih tako v kolostrumu kot tudi v prehodnem in zrelem mleku. Mleko mater nedonošenih dojenčkov je imelo višji odstotek prav vseh posamičnih LCP. Avtorji omenjene razlike v LCP statusu pripisujejo večjim zalogam LCP pri materah nedonošenih dojenčkov. Zaradi krajše nosečnosti je bil prenos LCP preko posteljice na zarodek manjši in poraba materinih maščobnih zalog manjša. Avtorji so razmišljali tudi o prilagoditvenem mehanizmu, ki bi se lahko razvil med evolucijo, da oskrbi prezgodaj rojenega dojenčka z zadostno količino LCP. Vendar so velike možnosti preživetja nedonošenčkov z nizko porodno težo novost v človeški zgodovini, zato evolucijske spremembe ne morejo pojasniti razlik, ugotovljenih v njihovi raziskavi. Omenjena raziskava je zaenkrat edina tovrstna raziskava, ki izpostavlja in poudarja pomen hranjenja z mlekom lastnih mater pri nedonošenčkih (Kovács in sod., 2005; Bokor in sod. 2007).

Podobne ut. % ω -6 LCP, DHGLK in ARK kot v naši skupini AB (preglednica 14) so določili na Madžarskem (Minda in sod., 2004). Proučevali so sestavo humanega mleka v prvem mesecu dojenja. Z analizo materine prehrane so ugotovili, da so imele preiskovane matere izrazito nizek vnos rib ali ribjih izdelkov, večina le 1–3x mesečno. Višje ut. % ω -6 LCP in DHGLK ugotavljajo tudi v raziskavi de la Presa-Owens in sod. (1996), kar avtorji pripisujejo predvsem večjemu uživanju jajc mater iz proučevane regije Navarre. Prehrana mater v naši raziskavi je bila bogata z linolno kislino (olivno in sončnično olje) in NMK (polnomastno mleko, skuta, sir, meso, obarjene salame) in premalo VNMK, ki se nahajajo pretežno v morskih ribah, mikroalgah in nekaterih rastlinskih oljih (Širca Čampa in sod., 2003, Širca Čampa in sod., 2005).

Po naknadnih ugotovitvah Štreklja (2009), ki je ponovno analiziral MEMK humanega mleka mater vključenih v našo raziskavo, je humano mleko mater dojenčkov s FTT (skupina AB) vsebovalo manj skupnih *trans* maščobnih kislin kot mleko kontrolne skupine C. V obeh skupinah so odstotki *trans* maščobnih kislin presežali meje priporočil, kar kaže na neustrezno prehranjevanje doječih mater in morebitno grožnjo za razvoj in zdravje dojenčka. Med VNMK je v obeh skupinah prevladovala konjugirana LK (C18:2 c9, t11), vsebnost pa se med skupinama ni statistično razlikovala. Razlikovala se je le *trans* izomera C18:2 tc, katere je bilo 7-krat več v mleku skupine C, vendar je bila v obeh skupinah zastopana v zanemarljivo majhnih količinah. Izmed vseh *trans* izomerov sta bili

količinsko (ut. %) največ prisotni vakuenska in elaidična kislina. Slovenija se glede odstotkov *trans* maščobnih kislin v primerjavi z drugimi državami uvršča nekje v sredino.

Razlik v maščobno-kislinski sestavi mleka skupine AB v primerjavi s kontrolno skupino ne gre povezovati s slabšim napredovanjem na telesni teži, saj za to nismo našli znanstvene podlage. Nasprotno, tudi ARK je pomembna za rast in razvoj donošenih dojenčkov (Ryan in sod., 2010). Carlson in sod. (1993) so v svoji raziskavi celo postavili tezo, da prehranska ARK lahko izboljša parametre rasti nedonošenih dojenčkov v prvem letu starosti. Tudi sicer vse več raziskav poroča o ugodnih učinkih dodajanja LCP začetnim formulam na razvoj vida in intelektualnih sposobnosti donošenih dojenčkov (Birch in sod., 1998; Willatts in sod., 1998; Birch in sod., 2005) kot tudi na parametre rasti nedonošenih dojenčkov (Innis in sod., 2002; Fewtrell in sod., 2004; Clandinin in sod., 2005). Vendar je še več raziskav, ki teh pozitivnih vplivov bogatenja začetnih formul z LCP niso podprle (Simmer in sod., 2008; Schulzke in sod., 2011).

Preglednica 15: Odstotek večkrat nenasičenih maščobnih kislin v vzorcih zrelega humanega mleka mater dojenčkov s FTT

Table 15: Polyunsaturated fatty acids in samples of mature human milk mothers of infants with FTT

	naša raziskava		Smit in sod. (2000a)	Marin in sod. (2000)	
država	Slovenija		Pakistan	Argentina	
posebnosti parov mati – dojenček	matere s hipogalaktijo, dojenčki s FTT (skupina AB)		podhranjeni dojenčki	zmerno beljakovinsko-energijsko podhranjeni	
starost (dni)	28–99		135–630	45–90	
SOP teža za starost dojenčkov	-1,86		-2	-2,3	
n	31 mater		8 mater	3 matere	
maščobne kisline	SO		mediana	SO	
	družina ω -6				
C18:2n-6 (c+t)	16,45	3,83	8,73	14,90	2,30
C18:3n-6	0,15	0,06	0,05	0,10	0,03
C20:2n-6	0,46	0,16	0,15	0,20	0,10
C20:3n-6*	0,51	0,14	0,21	0,20	0,10
C20:4n-6*	0,60	0,13	0,26	0,40	0,10
C22:2n-6	0,06	0,03	-	-	
C22:4n-6	0,15	0,04	0,06	0,10	0,04
	družina ω -3				
C18:3n-3	1,11	0,28	0,34	0,70	0,20
C20:3n-3	0,05	0,02	-	-	
C20:5n-3	0,08	0,03	0,02	0,10	0,02
C22:5n-3	0,20	0,05	0,05	0,10	0,01
C22:6n-3	0,27	0,08	0,06	0,40	0,10
vsote in razmerja maščobnih kislin					
NMK	40,97	5,06		-	
ENMK	38,60	4,03		-	
VNMK	20,42	4,10		-	
$\sum \omega$ -3 LCP	0,61	0,14	0,13	0,60 ^a	
$\sum \omega$ -6 LCP*	1,79	0,40	0,69	0,90 ^a	
$\frac{\sum \omega$ -6 LCP/ $\sum \omega$ -3 LCP	3,00	0,71	5,31 ^a	1,50 ^a	
C18:2n-6/ C18:3n-3	15,45	4,44	25,68 ^a	21,29 ^a	

^a – vrednost je izračunana iz podatkov izvirnega članka

* – vrednosti primerjanih skupin AB in C se med sabo statistično značilno razlikujejo (t-test z Bonferronijevo korekcijo, $P < (0,05/\text{številom istovrstnih testiranj})$ oz. $P < 0,001$)

5.2.4 Usklajenost maščob v raziskovalnih začetnih formulah z zdajšnjimi priporočili

Obe začetni formulii sta bili oz. sta morali biti usklajeni tako s tedanjim (Pravilnik o formulah ..., 2002) kot tudi z zdajšnjim (Pravilnik o začetnih ..., 2007) pravilnikom o formulah za dojenčke, saj se omenjeni pravilnik na področju maščob v tem času ni veliko spremenil. Skupno vsebnost maščob so znižali s prejšnjih 6,5g/100kcal na 6,0g/100kcal ter vsebnost *trans* maščobnih kislin s 4 % na največ 3 % skupne vsebnosti maščob. Razmerje LK/ALK in zastopanost LCP smo tudi analitično preverili in se sklada z omenjenimi pravilniki ter priporočili evropskih (Koletzko in sod., 2005b) in slovenskih pediatrov (Sedmak in sod., 2010). Raziskovalni začetni formulii F-LCP in F sta se razlikovali v vsoti ω -6 LCP in ω -3 LCP (1,0 in 0,0) ter razmerju LK/ALK (6,8 in 9,4), vendar sta bili obe v skladu s takrat veljavnim pravilnikom (Pravilnik o formulah ..., 2002). Razmerje LK/ALK v začetnih formulah je bilo ožje (torej ugodnejše) kot v materinem mleku.

Začetne formule z DHK in ARK so na voljo in njihova uporaba je varna (Heird in Lapillonne, 2005). Dodatek LCP v začetne formule za donošene dojenčke je z upoštevanjem priporočil o varnih količinah in lastnostih dodanih maščob varen in omogoča, da dojenčki hranjeni z začetno formulo dosežejo enak LCP status v krvi kot polno dojeni dojenčki. Vendar še ne moremo potrditi, da imajo lahko donošeni dojenčki koristi od dodatka LCP (Fleith in Clandinin, 2005).

Zaenkrat še ni dovolj dokazov, da bi se priporočilo obvezno dopolnjevanje začetnih formul za donošene in nedonošene dojenčke z DHK in ARK (Simmer in sod., 2008; Connor in sod., 2009; Schulzke in sod., 2011).

5.3 LCP V KRVNI PLAZMI DOJENČKOV

Za opredelitev LCP statusa se v kliničnih raziskavah uporablja ali maščobno-kislinska sestava plazme ali maščobno-kislinska sestava membranskih frakcij rdečih krvnih celic, t. j. fosfatidilholina in fosfatidiletanolamina (Decsi in sod., 2000). Za vrednotenje splošnega telesnega maščobno-kislinskega statusa in za določanje dolgotrajnih pomanjkanj ali nepravilnih ravnotežij se običajno uporablja podatke iz eritrocitov, ker le-ti odražajo stanje v večini tkiv (Lord in Bralley, 1999).

Decsi in Koletzko (1994) sta formirala starostne skupine za maščobno-kislinski profil posameznih frakcij plazemskih lipidov za zdrave osebe od rojstva do odrasle dobe. Vsi dojenčki, vključeni v našo raziskavo, se po starosti ob vključitvi in ob koncu raziskave po tej delitvi uvrstijo v starostno skupino en mesec do enega leta. Zato smo lahko tudi maščobno-kislinski status dojenčkov s FTT (skupina AB) po enomesečni raziskavi primerjali z maščobno-kislinskim statusom kontrolne skupine zdravih dojenčkov (skupina C), pri kateri ponovnih merjenj po 31-ih dneh nismo izvajali.

Celokupna koncentracija vseh določenih maščobnih kislin je bila v obeh skupinah s prehranskim ukrepanjem ves čas raziskave v območju 272 do 300 mg/100g plazme. Omenjene koncentracije so v območjih, ki so jih za plazmo dojenčkov podobne starosti določili tudi drugi avtorji (Decsi in sod., 1995a; Desci in Koletzko, 1995). Opazili smo, da je v 31-ih dneh dodajanja začetne formule prišlo do prerazporeditve skupne koncentracije maščob (mg/100g plazme) med posameznimi plazemskimi frakcijami. V obeh proučevanih skupinah se je znižala koncentracija maščob v PL v korist TG frakcije. V raziskavi, kjer so z dodajanjem enoceličnih olj in olj gliv odraslim posnemali prehranski vnos ARK in DHK dojenčkov (0,5 ut. % ARK in 0,4 ut. % DHK), so po 14-dnevnem dodajanju trikratnih in petkratnih koncentracij omenjenih LCP opazili višje koncentracije skupnega holesterola (mmol/L) in nižje koncentracije trigliceridov v primerjavi s skupino, ki ni prejela dodatnih LCP (Innis in Hansen, 1996). V naši raziskavi smo opazili prerazporeditev maščob v obeh skupinah, zato jih ne moremo pripisovati prehranskemu ukrepanju. Razlogi ostajajo znotraj te raziskave nepojasneni, saj potrditve o možnem prehodu med posameznimi frakcijami plazemskih lipidov zaradi dodajanja začetne formule v literaturi nismo našli.

5.3.1 Oskrba z LCP ob vključitvi v raziskavo

Zdravi novorojenčki že v prvem tednu po rojstvu zmorejo procese desaturacije in elongacije LK, le da so količine presnovnih produktov majhne. Emken (2001) poroča, da se pri dojenih donošenih dojenčkih v prvem tednu življenja do DHGLK pretvori 1,5 % in do ARK 1,4 % LK. Rezultati kažejo, da je bila pretvorba LK inhibirana z LCP iz humanega mleka, ki zagotavlja dovolj LCP za kritje novorojenčkovih potreb. Ugotovitev se sklada s predhodnimi opažanji istega avtorja pri odraslih, kjer so ugotovili, da se ob dodajanju ARK in DHK v prehrano lastna pretvorba iz LK in ALK zmanjša za 50 do 70 % (Emken, 2001). Emken in sod. (1994, cit. po Fidler, 1997) so tudi ugotovili, da se je s povečanjem absolutne količine LK v prehrani (s 15 na 30 g/dan) zmanjšala skupna pretvorba LK in ALK za 40 do 54 %, da pa je razmerje pretvorbe ostalo nespremenjeno. Količina zaužite LK je torej vplivala na encimsko aktivnot δ -6 desaturaze, ne pa tudi na selektivnost. Omenjeni mehanizem pomembno vpliva na vzdrževanje ravnotežja med ω -3 in ω -6 LCP.

Pri beljakovinsko-energijski podhranjenosti je presnova maščob motena. Ugotovili so nizke plazemske vsebnosti LK in funkcionalno pomembnih metabolitov skupaj z višjimi vsebnostmi NMK in neesencialnih ENMK (Koletzko in sod., 1986a). Hudo beljakovinsko-energijsko podhranjeni otroci s HIV, stari 9 do 43 mesecev, so zaloge ARK in DHK izčrpali sorazmerno stopnji podhranjenosti (Decsi in sod., 1995b).

Koletzko in sod. (1986a) poročajo, da je bila pri nigerijskih podhranjenih otrocih, starih $14,6 \pm 3,8$ mesecev, znižana aktivnost δ -6-desaturaze, ključnega encima za biosintezo ARK. Aktivnost encima je ostala znižana tudi v zgodnji fazi okrevanja po prehranskem ukrepanju. Povišano razmerje LK/ARK kaže na nezadostno biosintezo ARK iz LK. Razmerje LK/ARK v skupini AB naše raziskave ni bilo povečano. Obe proučevani skupini sta imeli vrednosti razmerij nižje od plazemskih vrednosti pri dojenčkih iz raziskave Koletzka in sod. (1986a). Kronično podhranjen otrok ne more nadomestiti

nezadostnih zalog esencialnih maščobnih kislin, saj je že porabil tudi večino telesnih zalog. Kliničnih znakov pomanjkanja esencialnih maščobnih kislin, razen slabšega napredovanja na telesni teži, naši raziskovalci med klinično anamnezo dojenčkov niso beležili.

Pri podhranjenih dojenčkih (marazmus in kvašiorkor) so v primerjavi z zdravimi dojenčki poročali o slabšem ω -6 statusu (tako LK kot tudi vseh pomembnejših ω -6 LCP) v vseh frakcijah plazemskih lipidov z izjemo DHGLK v CE. Ω -3 LCP pri podhranjenih niso bile spremenjene z izjemo znižanih vrednosti ω -3 DPK in DHK v PL (Koletzko in sod., 1986a).

Proti pričakovanjem so imeli dojenčki skupine AB boljše izhodišče v odstotku plazemskih LCP (višja vsota ω -3 LCP v PL ter vsota ω -6 LCP v PL in TG) pred prehranskim ukrepanjem kot dojenčki skupine C. V PL in TG frakciji so imeli tudi značilno ali neznačilno višji ut. % skoraj vseh drugih LCP z izjemo EPK, ki je intermediat pri nastanku DHK iz esencialne ALK. Razmerje ω -6 LCP/ ω -3 LCP je bilo za obe proučevani skupini podobno in primerljivo s podatki iz literature za zdrave dojenčke (Decsi in Koletzko, 1994). Sklepamo lahko torej, da nezadostna oskrba z LCP ni bila razlog slabšega napredovanja na telesni teži. Presnova ARK iz LK zaradi FTT dojenčkov ni bila ogrožena.

Višja vsebnost LCP v PL skupine AB bi delno lahko bila posledica večje vsebnosti LCP v telesnih zalogah maščob dojenčkov s FTT. Glede na rezultate sestave humanega mleka mater teh dojenčkov jo lahko razložimo tudi z značilno višjo vsebnostjo DHGLK in ARK (obe iz družine ω -6) in neznačilno višjo vsebnostjo DHK (družina ω -3) v humanem mleku. Smit in sod. (2000a) so ugotovili, da je nizek DHK status podhranjenih pakistanskih dojenčkov v močni povezavi z vnosom ω -3 LCP s humanim mlekom; DHK v eritrocitih dojenčkov je bila v močni povezavi z DHK v humanem mleku. V zrelem mleku njihovih mater so ugotovili nižji odstotek vseh ω -3 LCP in večine ω -6 LCP (LK, C20:2n-6, DHGLK in ARK) v primerjavi s kontrolno skupino, kar so avtorji pripisovali izrazitim razlikam v prehrani doječih mater. Dodajanje DHK v prehrano mater poveča koncentracijo DHK v njihovi plazmi in mleku (Filder, 1999; Filder in sod., 2000b) ter se odraži v povišanih koncentracijah DHK v plazemskih PL njihovih polno dojenih dojenčkov (Jensen in sod., 2000).

Tudi skupina C je imela v primerjavi z drugimi državami višje ut. % ARK, DHK, ω -3 LCP in ω -6 LCP v vseh frakcijah plazemskih lipidov. Višjo vsebnost DHK so izmerili le v plazmi španskih dojenčkov (Sala-Vila in sod., 2004), kar bi lahko bila posledica večje vsebnosti DHK v telesnih zalogah dojenčkov kot posledica bogatejše prehrane mater z ribami in morskimi sadeži.

Vnos ω -6 s hrano je pri materah v naši raziskavi za dvakrat presegel priporočene vrednosti, medtem ko je bil vnos ω -3 v skladu s priporočili (Širca Čampa in sod., 2005). Visok prehranski vnos ω -6 se je odražal tako v sestavi humanega mleka kot tudi v sestavi plazme dojenih dojenčkov. Večji prehranski vnos LK povzroča oksidacijo lipoproteinov majhne gostote, strjevanje trombocitov in posega v vključevanje esencialnih maščobnih kislin v fosfolipidne membrane. Tako ω -6 kot tudi ω -3 (različno) vplivajo na izražanje

genov. Ker so vnetni procesi podlaga za razvoj mnogih kroničnih obolenj, igra prehranski vnos ω -3 pomembno vlogo pri izražanju bolezni odraslih (Simopoulos, 2006).

Razširjenost podhranjenosti (-2 SO teža za starost) med predšolskimi otroki je v razvitih državah v obdobju od 1990 do 2005 padla z 1,6 % na 1,1 %, v svetu pa zaradi velike razširjenosti podhranjenost otrok v deželah v razvoju ostaja visoka. Razširjenost se je v istem obdobju na globalni ravni znižala z 26,5 % na 20,6 % (de Onis in sod., 2004). Napoved Svetovne zdravstvene organizacije (de Onis in sod., 2004) je, da naj bi se število podhranjenih predšolskih otrok do leta 2015 v svetu prepolovilo. 700.000 podhranjenih otrok, starih do pet let, , v razvitih državah sveta leta 2005 ni zanemarljivo število, vendar lahko rečemo, da je podhranjenost v razvitih državah redka, na kar kaže tudi naša raziskava. Dojenčki s FTT so v mreži zdravstvene oskrbe hitro prepoznani in prehransko ukrepanje je pričeto še preden dosežejo kriterije podhranjenosti.

Kot kažejo trendi se bomo v prihodnosti manj ukvarjali s posledicami pomanjkanja esencialnih maščobnih kislin in se bolj posvečali razmerju ω -6/ ω -3 in njuni absolutni koncentraciji v prehrani tako dojenčkov in otrok kot odraslih. Nedavno je bilo s trdnimi znanstvenimi dokazi potrjeno, da so absolutne koncentracije ω -6 in ω -3 VNМК v prehrani ljudi celo bolj pomembne od razmerja med njimi (Stanley, 2007).

Preglednica 16: Primerjava LCP maščobno-kislinske sestave posameznih frakcij plazemskih lipidov v Sloveniji s podatki iz drugih držav

Table 16: Comparison of LCP fatty acid composition of plasma fractions in Slovenia with data from other European countries

	naša raziskava		naša raziskava		Decsi in Koletzko (1994)		Decsi in sod. (1995a)		Sala-Vila in sod. (2004)		
država	Slovenija		Slovenija		Nemčija		Madžarska		Španija		
opis	dojenčki s FTT, stari 0,9–3,3 mesecev, skupina AB		zdravi dojenčki, stari 0,9–3,6 mesecev, skupina C		zdravi otroci, stari 1–12 mesecev		zdravi dojenčki, stari 1–12 mesecev		zdravi, polno dojeni dojenčki, stari 3 mesece		
vzorčenje plazme	na tešče 4 ure po zadnjem obroku				-		pozno dopoldne, 2 uri po zadnjem obroku		-		
n	31		40		17		10		11		
enota	ut. %		ut. %		ut. %		ut. %		ut. %		
maščobna kislina					mediana						
frakcija	\bar{X}	SO	\bar{X}	SO	interkvartilni razpon		\bar{X}	Q ₁ ; Q ₃	\bar{X}	SOP	
ω-6 VNMK											
C18:2n-6 (c+t)	PL	17,51	2,41	17,73	1,98	21,19	2,60	16,54	12,57; 20,23	19,80	2,80
	TG	18,54	4,56	18,58	3,46	13,63	1,29	10,42	5,35; 14,74	16,95	1,53
	CE	39,54	5,62	42,69	4,11	46,07	2,91	33,28	21,49; 38,56	41,79	1,53
C18:3n-6	PL	0,04	0,01	0,04	0,02	0,06	0,05	0,14	0,10; 0,18	-	-
	TG*	0,25	0,06	0,19	0,05	0,24	0,10	0,08	0,03; 0,11	-	-
	CE	0,39	0,11	0,36	0,10	0,74	0,24	0,34	0,26; 0,80	-	-
C20:2n-6	PL*	0,56	0,11	0,44	0,07	0,33	0,04	0,38	0,27; 0,42	-	-
	TG	0,45	0,20	0,38	0,08	0,24	0,05	0,20	0,04; 0,38	-	-
	CE	0,06	0,03	0,07	0,02	0,06	0,06	-	-	-	-
C20:3n-6	PL	2,80	0,63	2,76	0,45	2,93	0,58	3,57	3,00; 3,80	2,17	0,28
	TG*	0,58	0,14	0,44	0,09	0,23	0,06	0,11	0,09; 0,25	0,30	0,50
	CE	0,65	0,25	0,72	0,18	0,48	0,13	0,59	0,33; 0,61	0,49	0,14
C20:4n-6	PL*	13,72	1,42	11,89	1,55	7,54	1,65	7,90	5,42; 12,16	8,72	1,12
	TG*	2,08	0,35	1,65	0,47	0,77	0,31	0,52	0,22; 0,88	1,05	0,12
	CE	8,37	3,17	8,47	2,03	4,53	0,88	3,08	2,27; 0,17	7,18	0,90
C22:2n-6	PL	0,06	0,02	0,06	0,02	-	-	-	-	-	-
	TG	0,04	0,02	0,03	0,02	-	-	-	-	-	-
	CE	0,01	0,01	0,01	0,01	-	-	-	-	-	-
C22:4n-6	PL	0,51	0,13	0,47	0,08	0,51	0,10	0,48	0,40; 1,09	-	-
	TG	0,28	0,06	0,22	0,07	n. i.	n. i.	-	-	-	-
	CE	0,04	0,02	0,03	0,01	-	-	-	-	-	-
ω-3 VNMK											
C18:3n-3	PL*	0,10	0,03	0,07	0,02	0,12	0,05	0,18	0,02; 0,32	0,17	0,03
	TG	0,87	0,29	0,90	0,26	0,50	0,06	0,24	0,10; 0,35	0,59	0,04
	CE	0,28	0,12	0,34	0,08	0,40	0,18	0,21	0,14; 0,21	0,07	0,01
C18:4n-3	PL	n. i.		n. i.		-	-	-	-	-	-
	TG	n. i.		n. i.		-	-	-	-	-	-
	CE	n. i.		n. i.		-	-	-	-	-	-
C20:3n-3	PL	0,02	0,01	0,01	0,01	-	-	-	-	-	-
	TG*	0,04	0,02	0,06	0,02	-	-	-	-	-	-
	CE	n. i.		n. i.		-	-	-	-	-	-

n. i. – za nekatere maščobne kisline v kromatogramu nismo našli pikov pri danih pogojih; -- ni podatka; * – vrednosti primerjanih skupin (AB in C) se med sabo statistično značilno razlikujejo (t-test z Bonferronijevo korekcijo, $P < (0,05/(\text{število istovrstnih testiranj} \times 3))$) oz. $P < 0,00037$)
»se nadaljuje«

Nadaljevanje preglednice 16: Primerjava LCP maščobno-kislinske sestave posameznih frakcij plazemskih lipidov v Sloveniji s podatki iz drugih držav

Continuation of the table 16: Comparison of LCP fatty acid composition of plasma fractions in Slovenia with data from other European countries

	Naša raziskava		naša raziskava		Decsi in Koletzko (1994)		Decsi in sod. (1995a)		Sala-Vila in sod. (2004)		
država	Slovenija		Slovenija		Nemčija		Madžarska		Španija		
opis	dojenčki s FTT, stari 0,9–3,3 mesecev, skupina AB		zdravi dojenčki, stari 0,9–3,6 mesecev, skupina C		zdravi dojenčki, stari 1–12 mesecev		zdravi dojenčki, stari 1–12 mesecev		zdravi, polno dojeni dojenčki, stari 3 mesece		
vzorčenje plazme	na tešče 4 ure po zadnjem obroku				-		pozno dopoldne, 2 uri po zadnjem obroku		-		
n	31		40		17		10		11		
enota	ut. %		ut. %		ut. %		ut. %		ut. %		
maščobna kislina frakcija	\bar{X}	SO	\bar{X}	SO	mediana interkvartilni razpon		\bar{X}	Q ₁ ; Q ₃	\bar{X}	SOP	
C20:5n-3 PL	0,28	0,10	0,31	0,09	0,09	0,09	0,10	0,02; 0,17	0,82	0,12	
	TG	0,28	0,06	0,33	0,07	0,09	0,07	-	0,45	0,13	
	CE*	0,23	0,11	0,38	0,12	n. i.	n. i.	-	0,30	0,05	
C22:5n-3 PL	0,84	0,25	0,74	0,20	0,63	0,24	0,15	0,07; 0,22	0,85	0,11	
	TG	0,35	0,11	0,28	0,09	0,28	0,27	-	0,32	0,02	
	CE	0,05	0,02	0,03	0,01	-	-	-	0,18	0,02	
C22:6n-3 PL*	4,92	0,91	4,12	0,63	1,53	0,48	1,73	1,19; 2,96	5,01	0,73	
	TG	0,90	0,33	0,73	0,32	0,07	0,09	0,09	n. i.; 0,23	2,64	0,27
	CE	0,52	0,25	0,72	0,21	0,35	0,11	0,15	0,11; 0,34	1,01	0,01
vsote in razmerja											
NMK PL*	44,80	1,79	48,71	1,33	45,16	1,48	46,89	46,23; 47,71			
	TG	34,12	2,87	35,42	2,78	38,19	1,97	42,34	38,34; 46,19		
	CE*	23,28	2,15	19,83	1,67	17,67	2,27	-			
ENMK PL*	13,85	1,40	12,64	1,14	16,79	2,23	15,99	15,23; 17,41			
	TG	41,21	3,76	40,80	2,98	44,28	1,65	45,60	40,93; 48,53		
	CE	26,59	4,33	26,36	3,44	27,69	2,42	-			
VNMK PL*	41,36	1,86	38,65	1,41	-	-	-	-	-	-	
	TG	24,66	5,12	23,78	3,58	-	-	-	-	-	
	CE	50,14	5,30	53,81	4,21	-	-	-	-	-	
∑ ω-3 LCP PL*	6,06	1,03	5,18	0,70	3,06	0,71	1,90	1,41; 3,17	-	-	
	TG	1,57	0,41	1,41	0,45	0,55	0,40	0,16	0,06; 0,31	-	
	CE	0,80	0,33	1,13	0,32	0,59	0,20	0,35	0,12; 0,44	-	
∑ ω-6 LCP PL*	17,65	1,66	15,62	1,70	10,52	2,22	12,29	9,56; 15,98	-	-	
	TG*	3,44	0,58	2,71	0,59	1,37	0,38	1,05	0,51; 1,58	-	
	CE	9,13	3,38	9,29	2,16	5,04	0,90	3,63	2,81; 6,47	-	
∑ ω-6 LCP / ∑ ω-3 LCP PL	3,0	0,5	3,0	0,4	3,4 ^a		6,5 ^a		-	-	
	TG	2,3	0,6	2,0	0,4	2,5 ^a		6,6 ^a	-	-	
	CE	11,4	3,7	8,5	1,7	8,5 ^a		10,4 ^a	-	-	
C18:2n-6 / C18:3n-3 PL*	194,2	48,9	261,0	82,8	176,6 ^a		91,9 ^a		116,5 ^a		
	TG	22,9	7,0	22,6	9,6	27,3 ^a		43,4 ^a	28,7 ^a		
	CE	159,5	51,1	135,3	39,4	115,2 ^a		158,5 ^a	597 ^a		

n. i. – za nekatere maščobne kisline v kromatogramu nismo našli pikov pri danih pogojih; – – ni podatka; ^a – vrednost je izračunana iz podatkov izvirnega članka; * – vrednosti primerjanih skupin (AB in C) se med sabo statistično značilno razlikujejo (t-test z Bonferronijevo korekcijo, $P < (0,05/(\text{število istovrstnih testiranj} \times 3))$) oz. $P < 0,00037$)

5.3.2 Vpliv dodajanja začetne formule na LCP status v krvni plazmi

Višji vnos LCP z začetno mlečno formulo (0,33 ut. % DHK in 0,43 ut. % ARK) se je že po 31-ih dneh odrazil v pomembno višjih vrednostih LCP tako v PL kot tudi v TG frakciji plazemskih lipidov (preglednica 17). LCP, dodane s prehrano, se tudi pri dojenčkih s FTT učinkovito presnavljajo in vgrajujejo v telesne lipide.

Marin in sod. (2000) so proučevali maščobno-kislinski profil fosfolipidne frakcije eritrocitov zmerno beljakovinsko-energijsko podhranjenih donošenih dojenčkov (-2 do -3 SOP teža za starost). V starosti 45–90 dni so jih razvrstili v tri skupine glede na njihovo prehrano v zadnjih 35-ih dneh: a) polno dojene – kontrolna skupina, b) hranjene s standardno formulo brez LCP (F) in c) hranjene s formulo z LCP (F-LCP). Vsi dojenčki, hranjeni s F ali F-LCP, so ob vključitvi v raziskavo imeli nižji odstotek EPK in DHK ter nižje odstotke ω -3 LCP in ω -6 LCP kot kontrolna skupina dojenih dojenčkov. Te razlike so bile močnejše izražene pri skupini dojenčkov, ki je bila hranjena s F. Tudi razmerje LK/ARK je bilo v slednji skupini v primerjavi z ostalima proučevanimi skupinama povišano, kar kaže na nezadostno biosintezo ARK iz LK. Avtorji so zaključili, da so podhranjeni dojenčki, hranjeni s F-LCP, dosegli maščobno-kislinski profil, podoben profilu kontrolne skupine polno dojenih dojenčkov, česar skupini, hranjeni s F, v 35-ih dneh ni uspelo.

Glede na zasnovo je bila naši raziskavi najbolj podobna raziskava, ki sta jo opravila Decsi in Koletzko (1995). Od rojstva do 4. meseca starosti sta mesečno spremljala maščobno-kislinsko sestavo posameznih frakcij plazemskih lipidov pri donošenih dojenčkih, hranjenih izključno z začetno formulo z ali brez LCP. Začetna formula z LCP je imela podoben odstotek ARK (0,5 ut. %) in DHK (0,3 ut. %) kot formula F-LCP, uporabljena v naši raziskavi. Tudi v njuni raziskavi že po mesecu dni hranjenja z začetno formulo ugotavljata višje vrednosti LCP v PL pri dojenčkih, hranjenih s formulo z LCP. Vrednosti najpomembnejših ω -3 in ω -6 presnovnih produktov, DHK in ARK, so pri dojenčkih, hranjenih s formulo, obogateno z LCP, ostale višje skozi celotno štirimesečno obdobje spremljanja v vseh treh frakcijah.

V zgodnjem obdobju po rojstvu prihaja do porasta LK in ALK in padca glavnih LCP v vseh treh frakcijah plazemskih lipidov (Decsi in Koletzko, 1994). Zdi se, da so te spremembe v maščobno-kislinski sestavi plazme odraz prehoda iz oskrbe z LCP preko posteljice na drugačno oskrbo z maščobami iz začetne formule po rojstvu. Učinek je enak, četudi je začetna formula obogatena z LCP, le da porast esencialnih maščobnih kislin ter znižanje LCP ni tako izrazito (Decsi in Koletzko, 1995). O enaki spremembi v maščobno-kislinski sestavi plazme po trimesečnem hranjenju z začetno formulo obogateno z LCP poročajo tudi Sala-Vila in sod. (2004), neodvisno od tega, kateri vir LCP je bil uporabljen za bogatenje formule. Tudi v naši raziskavi opazamo porast LK v PL in TG ter ALK v vseh treh frakcijah kot tudi padec ARK in DHK, vendar ne v CE skupine A. Velja poudariti, da so bili dojenčki v naši raziskavi ob vključitvi že stari 28–99 dni in da so bili z začetno formulo le dohranjevani. Višji utežni odstotki kot tudi

koncentracija DHK in ARK v CE frakciji v skupini A bi lahko bila odraz z LCP obogatene prehrane, vendar rezultati statistične analize te teze niso potrdili.

Višji ut. % ARK v PL in TG so bili opaženi skupaj z nižjimi vrednostmi prekursorske LK pri dojenčkih skupine A, o čemer poročata tudi Decsi in Koletzko (1995). Ut. % C20:2n-6 se med skupinama ni razlikoval, kar odraža usklajeno hitrost elongacije LK in Δ -8 desaturacije C20:2n-6. Elongaza, ki omogoča podaljšanje iz LK v C20:2n-6, še ni jasno opredeljena, vendar se iz poskusov na miškah pojavljajo namigi, da bi to lahko bil encim poimenovan ELOVL5, ki sicer igra pomembno vlogo pri razvoju jeter v postnatalnem obdobju (Zadravec, 2010).

Dojenčki, hranjeni z začetno formulo brez LCP, imajo v primerjavi z dojenčki, hranjenimi z LCP obogateno formulo, enake ali celo višje vrednosti DHGLK v vseh frakcijah plazemskih lipidov, vendar izrazito nižje vrednosti ARK, kar opozarja na precej omejeno aktivnost Δ -5 desaturaze (Decsi in Koletzko, 1995). Enak trend je opažen tudi v naši raziskavi.

Skupina AB je imela ob vključitvi v raziskavo statistično značilno boljše izhodišče v vsoti LCP v PL v primerjavi s skupino C. Po enomesečnem dodajanju začetne formule smo opazili višje ut. % ω -3 LCP, ω -6 LCP, ARK in DHK v PL kot v skupini C le še v skupini A, medtem ko so bile vrednosti pri dojenčkih skupne B v primerjavi s skupino C nižje. Tudi Decsi in Koletzko (1995), ki sta v svoji raziskavi uporabila začetno formulo s podobno LCP sestavo, sta po mesecu dni hranjenja z LCP obogateno formulo ugotovila višjo vrednost ω -3 LCP in podobne vrednosti ω -6 LCP kot pri starostno primerljivi skupini dojenih dojenčkov. Zanimivo je, da so imele matere skupine B v primerjavi s skupino A celo neznačilno višji odstotek ARK, DHK, ω -3 LCP in ω -6 LCP v humanem mleku, kar pomeni, da so imeli dojenčki skupine B neznačilno višji prehranski vnos omenjenih maščobnih kislin. Sklepamo lahko, da so bile zaloge LCP v skupini B v mesecu dni dohranjevanja s formulo brez LCP porabljene, saj je odstotek omenjenih LCP kljub višjemu vnosu s humanim mlekom pred vključitvijo v raziskavo v vseh frakcijah plazemskih lipidov padel celo pod vrednosti kontrolne skupine C.

LCP sestava F-LCP v naši raziskavi je posnemala sestavo humanega mleka evropskih mater in je bila v skladu s tedaj in danes veljavnimi predpisi. Raziskavi, kjer so s F-LCP posnemale vrednosti DHK in ARK v humanem mleku ameriških mater, so opravili Carlson in sod. (1996b) ter Auestad in sod. (2001). Odstotek DHK v obeh raziskavah je bil nižji in ARK podoben kot v naši. Carlson in sod. (1996b) so v 2., 4., 6., 9. in 12. mesecu starosti primerjali maščobno-kislinsko sestavo plazme in eritrocitov treh skupin donošenih dojenčkov: dojenih, hranjenih s F in hranjenih s F-LCP (0,1 ut. % DHK in 0,43 ut. % ARK). Že po dveh mesecih so ugotovili boljši DHK in ARK status tako v plazemskem fosfatidilholinu kot tudi v fosfatidiletanolaminski frakciji eritrocitov v skupini, hranjeni s F-LCP, kot v skupini, hranjeni s F, pri čemer so bile vrednosti obeh maščobnih kislin primerljive z vrednostmi skupine dojenih dojenčkov. Omenjeni trend so opazili skozi celotno obdobje spremljanja. Auestad in sod. (2001) so v 4. in 12. mesecu starosti primerjali maščobno-kislinsko sestavo eritrocitov štirih skupin donošenih dojenčkov: dojenih, hranjenih s F ter dveh skupin hranjenih s F-LCP (0,13 ut. % DHK in

0,45 ut. % ARK. Slednji sta se razlikovali le v viru LCP (jajčni trigliceridi ali mešanica ribjega in olja in olja gliv). Tako v 4. kot tudi v 12. mesecu starosti so bile vrednosti DHK in ARK v obeh frakcijah eritrocitov (fosfatidilholinski in fosfatidiletanolaminski) višje v skupinah, ki so bile hranjene s F-LCP, kot v skupini, hranjeni s F, ter primerljive z vrednostmi dojene skupine. Dojenčki slednje so bili polno dojeni do vsaj tretjega meseca starosti. Vir LCP v formuli ni imel vpliva na ARK in DHK v eritrocitih, kar kaže na podobno absorpcijo maščobnih kislin iz črevesja.

Tudi hranjenje donošenih dojenčkov s F-LCP, bogato z EPK (0,36 ut. % DHK, 0,58 ut. % EPK in 0,27 ut. % GLK), se odraža v podobnih ali višjih vrednostih DHK v eritrocitih kot hranjenje s humanim mlekom, ki je vsebovalo 0,21 ut. % DHK. Vendar pa so bile vrednosti ARK nižje kot pri dojenih dojenčkih in celo nižje kot v skupini hranjeni s standardno formulo brez LCP (Makrides in sod. 1995). Prisotnost prekursorske GLK ni bila zmožna odpraviti t. i. »učinka znižanja ARK« pri zaužitju olj z visoko vsebnostjo EPK (Fleith in Clandinin, 2005).

Višje vrednosti LCP v PL in TG frakciji plazemskih lipidov po dohranjevanju s F-LCP v naši raziskavi so v skladu z našo hipotezo in usklajene z rezultati podobnih raziskav.

Preglednica 17: Maščobno-kislinska sestava (ut. %, povprečje (SD), p vrednosti iz mešanega modela dvosmerne analize variance) plazemskih lipidov dojenčkov s FTT, hranjenih s standardno začetno formulo brez LCP (skupina B, n = 15) ali s formulo obogateno z LCP (skupina A, n = 16)

Table 17: Fatty acid composition (% wt/wt of total fatty acids, average (standard deviation), P values from two-way mixed ANOVA) of plasma lipid classes in infants with FTT fed with convectional infant formula without LCP or with LCP enriched formula

Prehrana Skupina maščobne kisline/n	1. dan					
	PL		TG		CE	
	F in F-LCP					
	AB					
	31		31		16 [†]	
ω-6 VNMK						
C18:2n-6(c+t)	17,51	(2,41)	18,54	(4,56)	39,54	(5,62)
C18:3n-6	0,04	(0,01)	0,25	(0,06)	0,39	(0,11)
C20:2n-6	0,56	(0,11)	0,45	(0,20)	0,06	(0,03)
C20:3n-6	2,80	(0,63)	0,58	(0,14)	0,65	(0,25)
C20:4n-6	13,72	(1,42)	2,08	(0,35)	8,37	(3,17)
C22:2n-6	0,06	(0,02)	0,04	(0,02)	0,01	(0,01)
C22:4n-6	0,51	(0,13)	0,28	(0,06)	0,04	(0,02)
ω-3 VNMK						
C18:3n-3	0,10	(0,03)	0,87	(0,29)	0,28	(0,12)
C18:4n-3	n. i.		n. i.		n. i.	
C20:3n-3	0,02	(0,01)	0,04	(0,02)	n. i.	
C20:5n-3	0,28	(0,10)	0,28	(0,06)	0,23	(0,11)
C22:5n-3	0,84	(0,25)	0,35	(0,11)	0,05	(0,02)
C22:6n-3	4,92	(0,91)	0,90	(0,33)	0,52	(0,25)
vsote in razmerja maščobnih kislin						
NMK	44,80	(1,79)	34,12	(2,87)	23,28	(2,15)
ENMK	13,85	(1,40)	41,21	(3,76)	26,59	(4,33)
VNMK	41,36	(1,86)	24,66	(5,12)	50,14	(5,30)
VNMK/NMK	0,93	(0,07)	0,74	(0,20)	2,18	(0,38)
ω-3	6,16	(1,03)	2,44	(0,52)	1,08	(0,31)
ω-6	35,20	(1,72)	22,22	(4,95)	49,06	(5,20)
ω-3 LCP ^d	6,06	(1,03)	1,57	(0,41)	0,80	(0,33)
ω-6 LCP ^e	17,65	(1,66)	3,44	(0,58)	9,13	(3,38)
ω-6/ω-3 LCP	2,98	(0,52)	2,29	(0,55)	11,39	(3,71)

† – zaradi težav pri analitiki CE analize nekaterih vzorcev nismo mogli izvesti; n. i. – za nekatere maščobne kisline v kromatogramu nismo našli pikov pri danih pogojih; ^d – n-3 LCP: C20:3n-3 + C20:5n-3 + C22:5n-3 + C22:6n-3; ^e – n-6 LCP: C20:2n-6 + C20:3n-6 + C20:4n-6 + C22:2n-6 + C22:4n-6

Nadaljevanje preglednice 17: Maščobno-kislinska sestava (ut. %, povprečje (SD), p vrednosti iz mešanega modela dvosmerne analize variance) plazemskih lipidov dojenčkov s FTT, hranjenih s standardno začetno formulo brez LCP (skupina B, n = 15) ali s formulo obogateno z LCP (skupina A, n = 16)

Continuation of the table 17: Fatty acid composition (% wt/wt of total fatty acids, average (standard deviation), P values from two-way mixed ANOVA) of plasma lipid classes in infants with FTT fed with convectional infant formula without LCP or with LCP enriched formula

Prehrana Skupina maščobne kisline n	31. dan											
	PL				TG				CE			
	F		F-LCP		F		F-LCP		F	F-LCP		
	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A		
	15	16			15	16			8 [†]	8 [†]		
ω-6 VNMK												
C18:2n-6(c+t)	20,61	(1,77)	18,52	(1,91)	17,82	(3,19)	15,75	(3,09)	43,02	(4,34)	43,93	(3,12)
C18:3n-6	0,08	(0,04)	0,08	(0,03)	0,23	(0,08)	0,28	(0,06)	0,68	(0,26)	0,48	(0,15)
C20:2n-6	0,56	(0,10)	0,55	(0,12)	0,32	(0,13)	0,33	(0,12)	0,05	(0,02)	0,05	(0,01)
C20:3n-6	3,24	(0,81)	2,95	(0,81)	0,41	(0,20)	0,43	(0,18)	0,72	(0,11)	0,69	(0,26)
C20:4n-6	9,37	(2,21)	12,35	(2,19) ^{c1, c2}	1,09	(0,65)	1,43	(0,52) ^{c1}	5,31	(2,22)	8,78	(2,09)
C22:2n-6	0,05	(0,01)	0,05	(0,02)	0,02	(0,01)	0,02	(0,01)	0,01	(0,01)	0,01	(0,01)
C22:4n-6	0,49	(0,08)	0,51	(0,10)	0,17	(0,07)	0,21	(0,08)	0,06	(0,09)	0,03	(0,02)
ω-3 VNMK												
C18:3n-3	0,13	(0,03)	0,14	(0,04)	1,03	(0,23)	1,15	(0,35)	0,38	(0,06)	0,40	(0,18)
C18:4n-3	n. i.		0,00	(0,01)	n. i.		n. i.		n. i.		n. i.	
C20:3n-3	0,02	(0,01)	0,03	(0,01)	0,04	(0,02)	0,04	(0,02)	n. i.		n. i.	
C20:5n-3	0,31	(0,09)	0,35	(0,08)	0,25	(0,10)	0,26	(0,03)	0,22	(0,09)	0,31	(0,11)
C22:5n-3	0,80	(0,18)	0,84	(0,22)	0,22	(0,12)	0,27	(0,09)	0,03	(0,02)	0,04	(0,02)
C22:6n-3	3,57	(1,14)	4,59	(1,02) ^{c1}	0,54	(0,59)	0,71	(0,30) ^{c1}	0,32	(0,15)	0,66	(0,33)
vsote in razmerja maščobnih kislin												
NMK	45,92	(2,13)	45,58	(2,10)	34,24	(2,69)	37,48	(2,79)	20,20	(2,15)	20,48	(2,64)
ENMK	14,86	(1,89)	13,47	(1,89)	43,61	(3,83)	41,64	(3,40)	28,99	(4,15)	24,14	(3,28)
VNMK	39,22	(2,16)	40,95	(2,56)	22,14	(4,56)	20,88	(4,00)	50,81	(4,96)	55,38	(4,98)
VNMK/NMK	0,86	(0,08)	0,90	(0,09)	0,66	(0,18)	0,56	(0,13)	2,56	(0,46)	2,76	(0,54)
ω-3	4,82	(1,19)	5,95	(1,13)	2,08	(0,60)	2,42	(0,50)	0,95	(0,14)	1,41	(0,46)
ω-6	34,39	(1,44)	35,00	(1,63)	20,07	(3,99)	18,45	(3,75)	49,86	(4,92)	53,97	(4,65)
ω-3 LCP ^d	4,70	(1,21)	5,80	(1,15) ^{c1}	1,04	(0,77)	1,27	(0,40) ^{c1}	0,57	(0,21)	1,01	(0,44)
ω-6 LCP ^e	13,71	(2,55)	16,41	(2,63) ^{c1, b2}	2,02	(1,00)	2,42	(0,85) ^{c1}	6,15	(2,31)	9,56	(2,26)
ω-6/ω-3 LCP	3,00	(0,51)	2,86	(0,27)	2,11	(0,35)	1,92	(0,42) ^{a1}	11,05	(2,49)	10,54	(3,11)

† – zaradi težav pri analitiki CE analize nekaterih vzorcev nismo mogli izvesti; n. i. – za nekatere maščobne kisline v kromatogramu nismo našli pikov pri danih pogojih;

¹ – skupini se značilno razlikujeta glede na čas, ² – skupini se značilno razlikujeta glede na skupino, ³ – skupini se značilno razlikujeta kot rezultat interakcije skupine in časa;

^a – p < 0,01; ^b – p < 0,05; ^c – p < 0,001; ^d – n-3 LCP: C20:3n-3 + C20:5n-3 + C22:5n-3 + C22:6n-3; ^e – n-6 LCP: C20:2n-6 + C20:3n-6 + C20:4n-6 + C22:2n-6 + C22:4n-6

Predstavljen raziskava je bila zelo dolgotrajna. Vzorce humanega mleka mamic dojenčkov in krvi dojenčkov, vključenih v raziskavo, smo zbirali v obdobju od decembra 2000 do februarja 2004. Namesto načrtovanih 40 dojenčkov s FTT smo v raziskavo

vključili 33 dojenčkov. Glavna vzroka sta bila vse manjša pojavnost dojenčkov s FTT in iztekel rok uporabnosti začetnih formul, vključenih v našo raziskavo. Proizvajalec nam po treh letih ni mogel več zagotoviti enakega sestava raziskovalnih začetnih formul. Vse manjša pojavnost dojenčkov s FTT je pokazatelj dobre mreže zdravstvene oskrbe, kjer so ti dojenčki hitro prepoznani in je prehransko ukrepanje pričeto še preden dosežejo kriterije podhranjenosti.

Raziskavo je podaljšala tudi težavna analitika maščobnih kislin v CE frakciji, zaradi česar je bilo ob koncu analiziranih le približno polovica vzorcev omenjene frakcije. Pri izbiri kolone smo bili omejeni z maksimalno temperaturo, do katere smemo pregrevati kolono. Sočasno z analitiko maščobnih kislin je namreč na istem plinskem kromatografu v kombinaciji z masnim detektorjem potekala rutinska klinična analitika organskih kislin, pri kateri so za ločevanje organskih komponent uporabljali drugo kolono in temperature do 270 °C. Želeli smo tudi kolono, ki bo omogočala dobro in hitro ločbo LCP tako za vzorce humanega mleka kot tudi krvne plazme. Kapilarno kolono, za katero smo ocenili, da najbolj ustreza vsem pogojem, smo morali zaradi pogostega mašenja med analitiko maščobnih kislin v CE frakciji pogosto menjati in jo na novo umerjati. Predvidevamo, da je bilo v vzorcih metilnih estrov maščobnih kislin več nečistoč in da pogoji na koloni temu niso bili najbolj prilagojeni.

Ena izmed prednosti raziskave je bila, da so bili vsi dojenčki vključeni in spremljani med hospitalizacijo na Kliničnem oddelku za gastroenterologijo, hepatologijo in nutricionistiko, kar je olajšalo zbiranje antropometričnih mer, vzorcev humanega mleka in krvne plazme, posledično je bilo v raziskavi zelo malo manjkajočih podatkov. Poleg tega je fizična povezanost vseh v raziskavo vključenih raziskovalcev olajšala delo in omogočila dober prenos informacij.

Zdi se, da bi bila izvedba podobne raziskave v prihodnosti v slovenskem okolju še težavnejša, saj so objave prvih rezultatov naše raziskave v javnosti, osveščanje patronažne službe in osveščanje celotne zdravstvene javnosti, že dali rezultate v upadu dojenčkov, sprejetih zaradi podhranjenosti (Sedmak in sod., 2008). Za olajšano analitiko maščobno-kislinskega sestava humanega mleka in posameznih frakcij plazemskih lipidov bi bili smiselni različni koloni ter uporaba ločenega plinskega kromatografa zgolj v namene te analitike, kar bi omogočilo še bolj stabilne pogoje ločbe.

V okviru te raziskave smo nepričakovano ugotovili visoko značilno razliko v povečanju obsega glave za starost kot rezultat interakcije skupine in časa ($p < 0,015$), česar ni mogoče razložiti, saj naša raziskava ni bila načrtovana v tej smeri. Dojenčkom skupine B se je obseg glave tekom raziskave povečal bolj kot dojenčkom skupine A, in sicer za 0,04 SOP obsega glave za starost. Dobljene rezultate bi bilo zanimivo nadgraditi s sledenjem in nevrološkimi meritvami vseh dojenčkov, ki so zaključili raziskavo (skupine C, skupine A in skupine B). Sledenje ima svoje omejitve, saj omenjena raziskava ni bila načrtovana v smeri kontinuiranega spremljanja nevroloških parametrov. Sedaj so dojenčki, vključeni v našo raziskavo, stari od 7 do 11 let in so nekateri mejniki, ki jih za spremljanje zgodnjega nevrološkega razvoja uporabljajo v pregledanih raziskavah (3, 6, 12, 18, 24 in 39 mesecev) že zamujeni.

5.4 SKLEPI

- Dojeni dojenčki s FTT so zaužili premajhno količino humanega mleka zaradi hipogalaktije mater.
- Po dodatku začetnega mleka so dojenčki obeh skupin pridobili na telesni teži v skladu s pričakovanji.
- Vrsta zaužite začetne formule (F ali F-LCP) tekom enomesečnega dohranjevanja ni vplivala na rastne parametre dojenčkov s FTT.
- Vsebnost maščob v zrelem humanem mleku slovenskih doječih mamic je primerljiva z vsebnostjo maščob, ki jo navajajo v literaturi (Koletzko in sod., 2001b).
- Maščobno-kislinska sestava zrelega humanega mleka mater dojenčkov z normalnim napredovanjem na telesni teži je med ugodnejšimi v primerjavi s sestavo humanega mleka v ostalih evropskih državah.
- Mleko mater s hipogalaktijo ima značilno višji odstotek ω -6 LCP kot mleko mater kontrolne skupine. Obstaja možnost, da so se pri materah s hipogalaktijo zaradi majhnega izločanja humanega mleka (v povprečju le 470 ml/dan) zaloge ω -6 LCP praznile počasneje kot pri materah, ki so proizvajale večjo količino mleka.
- Dojenčki skupine AB imajo višji relativni delež LCP v PL frakciji plazemskih lipidov kot dojenčki skupine C.
- Slabše napredovanje dojenih dojenčkov na telesni teži ni bilo posledica pomanjkanja LCP.
- Višji vnos LCP z začetno mlečno formulo se je že po 31-ih dneh odrazil v pomembno višjih vrednostih LCP tako v PL kot tudi v TG frakciji plazemskih lipidov.
- LCP, dodane s prehrano, se tudi pri dojenčkih s FTT učinkovito presnavljajo in vgrajujejo v telesne lipide.

6 POVZETEK (SUMMARY)

6.1 POVZETEK

Predstavljena raziskava je prva, ki obravnava rast in prehrano donošenih, dojenih dojenčkov s FTT po uvedbi dvovrstnega hranjenja. Izhaja iz primerov, ki jih še vedno srečujemo v klinični praksi. Raziskava daje tudi prvi vpogled v maščobno-kislinsko sestavo zrelega mleka slovenskih mater z in brez hipogalaktije ter v maščobno-kislinsko sestavo posameznih frakcij plazemskih lipidov donošenih dojenčkov z normalnim in slabšim napredovanjem na telesni teži.

Izmerjena količina zaužitega humanega mleka dojenčkov s FTT, ki je ob vključitvi v raziskavo znašala 471 ± 181 g/dan, je bila bistveno nižja kot je pričakovana za starost (vsaj 650 g/dan). Celotna količina zaužitega mleka je že v prvih treh dneh raziskave porasla na 755 ± 144 ml/dan ($p < 0,001$). Sklepamo, da je bilo neustrezno napredovanje na telesni teži pogojeno s premajhno količino humanega mleka zaradi hipogalaktije mater.

Pri 81 % dojenčkov se je dojenje ohranilo kljub temu, da smo začeli dodajati začetno formulo. Popoln uspeh prehranskega ukrepanja je bil dosežen, če so dojenčki ustrezno nadoknadili merjen parameter rasti (Δ SOP teže za starost $> 0,5$ /mesec) in so obenem ohranili dojenje ($PSD_{29-31} > 0$). Tak uspeh je bil dosežen pri dobri polovici dojenčkov.

Pričakovano so se tekom enomesečnega dohranjevanja z začetno formulo povečali vsi merjeni parametri rasti: telesna teža, dolžina, ITM in obseg glave. Vrsta zaužite začetne formule (F ali F-LCP) ni vplivala na parametre rasti dojenčkov s FTT.

Vsebnost maščob v zrelem humanem mleku slovenskih doječih mamic je primerljiva z vsebnostjo maščob v literaturi. Maščobno-kislinska sestava zrelega humanega mleka mater dojenčkov z normalnim napredovanjem na telesni teži je med ugodnejšimi v primerjavi s sestavo humanega mleka v ostalih evropskih državah.

Mleko mater s hipogalaktijo (skupina AB) je vsebovalo statistično zelo visoko značilno višji odstotek ω -6 LCP, zlasti na račun DHGLK in ARK, in neznatno višje vrednosti LK in C20:2n-6 kot mleko mater kontrolne skupine (skupina C). Skupina AB je imela tudi neznatno višji odstotek ω -3 LCP. Omenjeni ugotovitvi veljata tudi za koncentracije (mg/100g humanega mleka) maščobnih kislin. V okviru te raziskave omenjenih razlik v maščobno-kislinski sestavi mleka ni mogoče razložiti. Obstaja možnost, da so se pri materah s hipogalaktijo zaradi majhnega izločanja humanega mleka (v povprečju le 470 ml/dan) zaloge ω -6 LCP praznile počasneje kot pri materah, ki so proizvajale večjo količino mleka. Razlik v maščobno-kislinski sestavi mleka skupine AB v primerjavi s kontrolno skupino ne gre povezovati s slabšim napredovanjem na telesni teži, saj za to nismo našli znanstvene podlage.

Dojenčki s FTT (skupine AB) so imeli pred začetkom prehranskega ukrepanja nepričakovano višje ut. % plazemskih LCP (višja vsota ω -3 LCP v PL in TG ter vsota ω -6 LCP v PL) kot dojenčki z normalnim napredovanjem na telesni teži ($p < 0,001$). Vsebovali

so tudi neznačilno višji delež skoraj vseh drugih LCP z izjemo EPK, ki je intermediat pri nastanku DHK iz esencialne ALK. Razmerje ω -6 LCP/ ω -3 LCP je bilo za obe proučevani skupini podobno in primerljivo s podatki iz literature za zdrave dojenčke. Sklepamo, da nezadostna oskrba z LCP ni bila razlog slabšega napredovanja na telesni teži. Višji delež LCP v PL je lahko posledica večjih lastnih zalog LCP v maščobnem tkivu dojenčkov kot tudi posledica značilno višje vsebnosti DHGLK in ARK (obe iz družine ω -6) in tendenčno višje vsebnosti DHK (družina ω -3) v humanem mleku mater teh dojenčkov.

Višji vnos LCP z začetno mlečno formulo (0,33 ut. % DHK in 0,43 ut. % ARK oz. 0,44 ut. % ω -3 LCP in 0,59 ut. % ω -6 LCP) se je že po 31-ih dneh odrazil v pomembno višjih vrednostih LCP tako v PL kot tudi v TG frakciji plazemskih lipidov, še posebej v vrednostih ω -6 LCP v PL. LCP, dodane s prehrano, se tudi pri dojenčkih s FTT učinkovito presnavljajo in vgrajujejo v telesne lipide.

6.2 SUMMARY

This is the first study to investigate growth and nutrition of full-term breastfed infants with FTT after additional formula milk feeding. It comes from cases which are still encountered in clinical practice. The study provides the first insight into the fatty acid composition of mature milk of Slovenian mothers with and without hypogalactia and the fatty acid profiles of all plasma lipid fractions in infants with FTT and infants with normal weight gain.

Human milk intake of infants with FTT (471 ± 181 g/day) at study entry was significantly lower than expected for age (at least 650 g/day). The total milk intake has increased to 755 ± 144 ml/day during the first three days ($p < 0.001$). We can conclude that FTT was induced by a lack of quantity of human milk due to mother's hypogalactia.

Despite of necessary additional formula milk feeding, breastfeeding was maintained in 81 % of infants. The full intervention success (CBF > 0 and Δ SDS for weight > 0.5 /month) was reached at good half of the infants, who showed adequate catch up growth while still being breast fed.

Supplementation over 31 days led to expected increase in measured growth parameters: weight, length, and head circumference standard deviation scores. Type of infant formula consumed (F or F-LCP) had no effect on the growth parameters of infants with FTT.

Fat content in mature human milk of Slovenian nursing mothers is comparable to that in the literature. Composition of human milk of Slovenian women is in good accordance with results from others European countries; we can even announce it as one of the more favorable.

Higher ω -6 LCP content (expressed as wt. % and as mg/100g human milk) was found in milk lipids of mothers with hypogalactia especially on account of higher dihomo- γ -linolenic and arachidonic acid when compared with mother's milk of control group. In addition tendentious higher content of linoleic acid and C20:2n-6 and ω -3 LCP were also observed. These differences in fatty acid composition of milk can not be explained within this study can not be correlated with FTT, since we did not find any scientific basis.. There is a possibility that the release rate of ω -6 LCP from maternal pool was slower in mothers with hypogalactia due to lower milk secretion (in average 470 ml/day) in comparison to mothers with higher milk secretion.

Infants with FTT had unexpectedly higher wt. % of plasma LCP (higher sum ω -3 LCP in PL and TG, and total ω -6 LCP in PL) at study entry than infants with normal weight gain ($p < 0.001$). In addition tendentious higher content of almost all the other LCP in PL and TG were observed, with the exception of the eicosatrienoic acid, an intermediate in the formation of docosahexaenoic acid from the essential α -linoleic acid. Plasma PL of both groups did not differ in ω -6 LCP/ ω -3 LCP. The ratio was comparable with data for healthy infants from the literature. The results indicate that LCP deficiency wasn't the reason of FTT. Higher LCP content in plasma PL can result from higher extent of LCP from remaining infant's body fat stores. It can also result from higher content of dihomo- γ -

linolenic, arachidonic and tendentious higher content of docosahexaenoic acid in breast milk of FTT infant's mothers.

One month of additional formula milk feeding with LCP enriched formula (0.33 wt. % docosahexaenoic acid and 0.43 wt. % arachidonic acid or 0.44 wt. % ω -3 LCP and 0.59 wt. % ω -6 LCP) for infants with FTT effectively increased LCP contents in PL and TG, especially n-6 LCP contents in PL. The data obtained indicate that LCP from enriched formula were effectively metabolized and incorporated into infantile plasma lipids by infants with FTT.

6.3 ZUSSAMENFASSUNG

Zusammenfassung ist einen Teil des Berichts eines bilateralen Projekts mit der Universitätsklinik in München mit dem Titel »WTZ mit Slowenien, Projekt SVN 01/022: Einfluss der Ernährung auf Plasmafettsäuren bei ungenügend gestillten Säuglingen«. Der Bericht wurde im August 2005 von Universitätsklinik in München zu Frau Sack in das DLR Internationales Büro in Bonn geschickt.

In Slowenien werden mehr als 90 % der Neugeborenen zum Zeitpunkt der Entlassung aus der Klinik vollgestillt (2001). Allerdings kommt es auch bei gestillten Kindern zu Gedeihstörungen mit nachteiligen Konsequenzen für das langfristige Wachstum, die auch mit negativen Langzeiteffekten für Gesundheit und Entwicklung verbunden sein können. Falls keine zugrunde liegende Erkrankung diagnostiziert wird, werden den Mütter intensivierete Stilltechniken angeraten. Wenn auch dies nicht zu verbesserter Nahrungsaufnahme führt, wird empfohlen, mit Säuglingsmilchnahrung zuzufüttern.

Wir wurden dazu folgende Fragestellungen im Bezug auf Zwiemilchernahrung untersucht:

- a) ist die unzureichende Gewichtszunahme mit niedriger Milchaufnahme verbunden?
- b) ist der Gehalt an langkettigen mehrfach ungesättigten Fettsäuren (LCPUFA) im Blut von Kindern mit zu geringen Zunahmen vermindert?
- c) gibt es Unterschiede in der Milchfettsäurezusammensetzung zwischen gedeihenden und nicht gedeihenden Kindern?
- d) erhöht das Zufüttern die Gewichtszunahme?
- e) erhöhen LCPUFA in der Zusatznahrung den entsprechenden Gehalt im Blut der Kinder?

In der durchgeführten klinischen Studie wurden 33 Neugeborene mit Gedeihstörung eingeschlossen. Studie wurde in der Universitätskinderklinik Ljubljana durchgeführt. Bei diesem Studienkollektiv und bei 41 gut gedeihenden Vergleichskindern wurden die Zusammensetzungen von Muttermilch und Plasmafettsäuren untersucht. Bei den Kindern mit Gedeihstörung wurde über 31 Tage zugefüttert (entweder eine Formel mit LCPUFA oder ohne LCPUFA), die anthropometrische Entwicklung verfolgt und bei Studienende nochmals eine Analyse der Plasmafettsäuren vorgenommen.

Die gemessene Milchaufnahme der Studienkinder liegt mit 471 ± 181 g/Tag weit unter dem zu erwartenden Wert für das entsprechende Alter (ca. 650 g/Tag oder mehr). Die gesamte Nahrungsaufnahme ist durch das Zufüttern deutlich angestiegen auf 755 ± 144 g/Tag. Somit liegt der Schluss nahe, dass die Gedeihstörung durch eine zu geringe Milch- und Substrat aufnahme bedingt war.

In den meisten Fällen ist es möglich, die Energieaufnahme von Säuglingen durch Zufüttern zu erhöhen, ohne dass die als optimal angesehene Muttermilchernahrung vorzeitig beendet wird. Mit der durch Zufüttern erreichten erhöhten Energieaufnahme wurde auch ein befriedigendes Wachstum der Kinder erzielt. Es kann also davon ausgegangen werden, dass die Energiezufuhr ausreichend war, um adäquates Aufholwachstum zu gewährleisten. Die volle Erfolg der Intervention wurde bei 15 von 29 Säuglingen (52 %), die über angemessenes zeigte aufholen Wachstum während noch gestillt erreicht.

In den Muttermilchproben aus dem Studienkollektiv (St) und einem untersuchten Vergleichskollektiv (Ref) konnte gezeigt werden, dass signifikant höhere Anteile an Dihomo- γ -linolensäure und Arachidonsäure (den mengenmäßig bedeutendsten Vertreter der n-6 LCPUFA) in den Lipiden der Muttermilch der nicht gut gedeihenden Kinder vorlagen. Tendenziell waren auch die Gehalte an n-3 LCPUFA höher in dieser Gruppe. Diese Aussagen gelten auch für den absoluten Gehalt dieser Fettsäuren in der Muttermilch. Die Gründe für diese Unterschiede konnten im Rahmen der Studie nicht geklärt werden. Vorstellbar ist, dass aufgrund der geringen Milchsekretion (im Mittel nur 470 g/Tag) bei den nicht gedeihenden Kindern der als wesentliche Quelle von Milchfettsäuren dienende maternale Pool an LCPUFA weniger rasch erschöpft wurde als bei Frauen, die bei gedeihenden Kindern eine deutliche höhere Milchmenge produzierten. Für einen kausalen Zusammenhang zwischen den Unterschieden in den Milchfettsäuregehalten und der Gedeihstörung besteht jedoch kein Anhalt. Im Gegenteil wurde in früheren Studien auch eine positive Assoziation von Arachidonsäure mit dem Wachstum von Säuglingen gefunden.

In der Zusammensetzung der Fettsäuren aus Triglyceriden und Cholesterolestern des Plasma finden sich keine signifikanten Unterschiede zwischen gedeihenden und nicht gedeihenden Kindern. Es finden sich aber deutliche Unterschiede in den Phospholipiden, mit einer klaren Erhöhung der relativen Anteile der LCPUFA bei den nicht gedeihenden Kindern. Die signifikant höheren Werte fanden sich für Arachidonsäure und Docosahexaensäure, die beiden Hauptvertreter der n-6 und n-3 Reihe, aber auch für fast alle anderen LCPUFA (Ausnahme Eicosapentaensäure, ein Intermediat in der Bildung von Docosahexaensäure aus der essentiellen α -Linolensäure). Es gibt also keine Hinweise auf eine Unterversorgung mit LCPUFA, die zu der Gedeihstörung geführt haben könnte. Die höheren LCPUFA Anteile bei den nicht gedeihenden Kindern können durch die signifikant höheren Gehalte an Dihomo- γ -linolensäure und Arachidonsäure und die tendenziell (nicht signifikant) erhöhten Gehalte an Docosahexaensäure in der Muttermilch, die sie erhalten haben erklärt werden.

Das Zufüttern verbesserte unabhängig vom LCPUFA Gehalt der Formelmilch deutlich die Zunahmen der Kinder.

Mit der höheren Zufuhr an LCPUFA in der angereicherten Formel (0,3 % n-3 LCPUFA und 0,7 % n-6 LCPUFA) zeigten sich in den Plasmalipiden der Kinder, die diese Formel erhielten auch deutlich höhere Werte. Die Zufuhr mit der Nahrung wurde also auch bei den Kindern mit Gedeihstörung effektiv metabolisiert und in körpereigene Lipide inkorporiert.

7 VIRI

- Agostoni C., Trojan S., Bellu R., Riva E., Bruzzese M.G., Giovannini M. 1997. Developmental quotient at 24 months and fatty acid composition of diet in early infancy: a follow up study. *Archives of Diseases in Childhood*, 76: 421–424
- Agostoni C., Marangoni F., Bernardo L., Lammardo A.M., Galli C., Riva E. 1999. Long-chain polyunsaturated fatty acids in human milk. *Acta Paediatrica. Supplement*, 88, 430: 68–71
- Agostoni C., Riva E., Scaglioni S., Marangoni F., Radaelli G., Giovannini M. 2000. Dietary fats and cholesterol in italian infants and children. *American Journal of Clinical Nutrition*, 72, Suppl. 5: 1384S–1391S
- Auestad N., Montalto M.B., Hall R.T., Fitzgerald K.M., Wheeler R.E., Connor W.E., Neuringer M., Connor S.L., Taylor J.A., Hartmann E.E. 1997. Visual acuity, erythrocyte fatty acid composition, and growth in term infants fed formulas with long-chain polyunsaturated fatty acids for one year. *Pediatric Research*, 41: 1–10
- Auestad N., Halter R., Hall R.T., Blatter M., Bogle M.L., Burks W., Erickson J.R., Fitzgerald K.M., Dobson V., Innis S.M., Singer L.T., Montalto M.B., Jacobs J.R., Qiu W., Bornstein M.H. 2001. Growth and development in term infants fed long-chain polyunsaturated fatty acids: a double-masked, randomized, parallel, prospective, multivariate study. *Pediatrics*, 108: 372–381
- Auestad N., Scott D.T., Janowsky J.S., Jacobsen C., Carroll R.E., Montalto M.B., Halter R., Qiu W., Jacobs J.R., Connor W.E., Connor S.L., Taylor J.A., Neuringer M., Fitzgerald K.M., Hall R.T. 2003. Visual, cognitive, and language assessments at 39 months: a follow-up study of children fed formulas containing long-chain polyunsaturated fatty acids to 1 year of age. *Pediatrics*, 112: e177–e183
- Berghaus T.M., Demmelmaier H., Koletzko B. 2000. Essential fatty acids and their long-chain polyunsaturated metabolites in maternal and cord plasma triglycerides during late gestation. *Biology of the Neonate*, 77, 2: 96–100
- Beyerlein A., Hadders-Algra M., Kennedy K., Fewtrell M., Singhal A., Rosenfeld E., Lucas A., Bouwstra H., Koletzko B., von Kries R. 2010. Infant formula supplementation with long-chain polyunsaturated fatty acids has no effect on Bayley developmental scores at 18 months of age--IPD meta-analysis of 4 large clinical trials. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 50, 1: 79–84
- Birch E.E., Hoffman D.R., Uauy R., Birch D.G., Prestidge C. 1998. Visual acuity and the essentiality of docosahexaenoic acid and arachidonic acid in the diet of term infants. *Pediatric Research*, 44: 201–209
- Birch E.E., Castaneda Y.S., Wheaton D.H., Birch D.G., Uauy R.D., Hoffman D.R. 2005. Visual maturation of term infants fed long-chain polyunsaturated fatty acid-

supplemented or control formula for 12 mo. *American Journal of Clinical Nutrition*, 81: 871–879

- Bokor S., Koletzko B., Decsi T. 2008. Systematic review of fatty acid composition of human milk from mothers of preterm compared to full-term infants. *Annals of Nutrition & Metabolism*, 51, 6: 550–556
- Bratanič B. 2003. Pobuda za dojenju prijazne zdravstvene ustanove v Sloveniji. V: Dojenje za zdravo življenje: zbornik predavanj: tretji simpozij v Laškem, 10. in 11. oktober 2003, Laško. Bratanič B. (ur.). Ljubljana, Nacionalni odbor za spodbujanje dojenja pri Slovenskem odboru za UNICEF: 8–16
- Bratanič B., Fidler Mis N., Hlastan Ribič C., Poličnik R., Širca Čampa A., Kosem R., Fajdiga Turk V. 2010. Smernice zdravega prehranjevanja za dojenčke. 1. izd. Ljubljana, Ministrstvo za zdravje: 71 str.
- Brenna J.T., Varamini B., Jensen R.G., Diersen-Schade D.A., Boettcher J.A., Arterburn L.M. 2007. Docosahexaenoic and arachidonic acid concentrations in human breast milk worldwide. *American Journal of Clinical Nutrition*, 85, 6: 1457–1464
- Brühl L. 1994. Charakterisierung maßgeblicher Triglyceride in Muttermilch und in Rohstoffen für Säulingsnahrung. Inaugural-Dissertation. Gelsenkirchen, Universität Münster, Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät, Naturwissenschaften im Fachbereich Chemie: 104 str.
- Butte N.F., Villalpando S., Wong W.W., Flores-Huteria S., Hernandez-Beltran M.J., Smith E.O., Garza C. 1992. Human milk intake and growth faltering of rural Mesoamerican infants. *American Journal of Clinical Nutrition*, 55, 6: 1109–1116
- Butte N.F., Wong W.W., Hopkinson J.M., Smith O.B., Ellis K.J. 2000. Infant feeding mode affects early growth and body composition. *Pediatrics*, 106: 1355–1366
- Butte N.F. 2005. Energy requirements of infants. *Public Health Nutrition*, 8, 7A: 953–967
- Cantellops D., Reid A.P., Eitenmiller R.R., Long A.R. 1999. Determination of lipids in infant formula powder by direct extraction methylation of lipids and fatty acid methyl esters (FAME) analysis by gas chromatography. *Journal of AOAC International*, 82, 5: 1128–1139
- Carlson S.E., Werkman S.H., Peeples J.M., Cooke R.J., Tolley E.A. 1993. Arachidonic acid status correlates with first year growth in preterm infants. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 90, 3: 1073–1077
- Carlson S.E., Werkman S.H., Tolley E.A. 1996a. Effect of long-chain n-3 fatty acid supplementation on visual acuity and growth of preterm infants with and without bronchopulmonary dysplasia. *American Journal of Clinical Nutrition*, 63, 5: 687–697
- Carlson S.E., Ford A.J., Werkman S.H., Peeples J.M., Koo W.W. 1996b. Visual acuity and fatty acid status of term infants fed human milk and formulas with and without

- docosahexaenoate and arachidonate from egg yolk lecithin. *Pediatric Research*, 39, 5: 882–888
- Carnielli V.P., Pederzini F., Vittorangeli R., Luijendijk I.H., Boomaars W.E., Pedrotti D., Sauer P.J. 1996. Plasma and red blood cell fatty acid of very low birth weight infants fed exclusively with expressed preterm human milk. *Pediatric Research*, 39, 4: 671–679
- Carnielli V.P., Verlato G., Pederzini F., Luijendijk I., Boerlage A., Pedrotti D., Sauer P.J. 1998. Intestinal absorption of long-chain polyunsaturated fatty acids in preterm infants fed breast milk or formula. *American Journal of Clinical Nutrition*, 67, 1: 97–103
- Christie W.W. 1993. Preparation of ester derivatives of fatty acids for chromatographic analysis. V: *Advances in lipid methodology-two*. Christie W.W. (ed.). Dundee, Oily Press: 69–111
- Clandinin M.T., Van Aerde J.E., Merkel K.L., Harris C.L., Springer M.A., Hansen J.W., Diersen-Schade D.A. 2005. Growth and development of preterm infants fed infant formulas containing docosahexaenoic acid and arachidonic acid. *Journal of Pediatrics*, 146, 4: 461–468
- Clark R.M., Ferris A.M., Fey M., Brown P.B., Hundrieser K.E., Jensen R.G. 1982. Changes in the lipids of human milk from 2 to 16 weeks postpartum. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 1, 3: 311–315
- Claybour P., Hampsey J. 2008. Nutrition and growth. V: *The Harriet Lane handbook*. 18th ed. Custer J.W., Rau R.E. (eds.). Philadelphia, Elsevier Mosby: 557–602
- Covington M. 2004. Omega-3 fatty acids. *American Family Physician*, 70, 1: 133–140
- Decsi T., Koletzko B. 1994. Fatty acid composition of plasma lipid classes in healthy subjects from birth to young adulthood. *European Journal of Pediatrics*, 153, 7: 520–525
- Decsi T., Koletzko B. 1995. Growth, fatty acid composition of plasma lipid classes, and plasma retinol and alpha-tocopherol concentrations in full-term infants fed formula enriched with omega-6 and omega-3 long-chain polyunsaturated fatty acids. *Acta Paediatrica*, 84, 7: 725–732
- Decsi T., Thiel I., Koletzko B. 1995a. Essential fatty acids in full term infants fed breast milk or formula. *Archives of Disease in Childhood. Fetal and Neonatal Edition*, 72, 1: F23–F28
- Decsi T., Zaknun D., Zaknun J., Sperl W., Koletzko B. 1995b. Long-chain polyunsaturated fatty acids in children with severe protein-energy malnutrition with and without human immunodeficiency virus-1 infection. *American Journal of Clinical Nutrition*, 62, 6: 1283–1288

- Decsi T., Kelemen B., Minda H., Burus I., Kohn G. 2000. Effect of type of early infant feeding on fatty acid composition of plasma lipid classes in full-term infants during the second 6 months of life. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 30, 5: 547–551
- de la Presa-Owens S., López-Sabater M.C., Rivero-Urgell M. 1996. Fatty acid composition of human milk in Spain. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 22, 2:180–185
- Del Prado M., Villalpando S., Elizondo A., Rodríguez M., Demmelmair H., Koletzko B. 2001. Contribution of dietary and newly formed arachidonic acid to human milk lipids in women eating a low-fat diet. *American Journal of Clinical Nutrition*, 74, 2: 242–247
- Demmelmair H., von Schenck U., Behrendt E., Sauerwald T., Koletzko B. 1995. Estimation of arachidonic acid synthesis in full term neonates using natural variation of ¹³C content. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 21, 1: 31–36
- Demmelmair H., Sauerwald T., Fidler N., Baumheuer M., Koletzko B. 2001. Polyunsaturated fatty acid metabolism during lactation. *World Review of Nutrition and Dietetics*, 88: 184–189
- Donma M.M., Donma O. 1997. The influence of feeding patterns on head circumference among Turkish infants during the first 6 months of life. *Brain & Development*, 19: 393–397
- de Onis M., Blössner M., Borghi E., Morris R., Frongillo E.A. 2004. Methodology for estimating regional and global trends of child malnutrition. *International Journal of Epidemiology*, 33, 6: 1260–1270
- DeVries J.W., Kjos L. 1999. Studies in improvement of official method 996.06. *Journal of AOAC International*, 82, 5: 1146–1155
- Emken E.A., Adlof R.O., Gulley R.M. 1994. Dietary linoleic acid influences desaturation and acylation of deuterium-labeled linoleic and linolenic acids in young adult males. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1213, 3: 277-288. Cit. po: Fidler N. 1997. Maščobno-kislinska sestava humanega mleka v Sloveniji. Magistrsko delo. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 77 str.
- Emken E.A. 2001. Stable isotope approaches, applications, and issues related to polyunsaturated fatty acid metabolism studies. *Lipids*, 36, 9: 965–973
- Emmett P., Rogers I. 1997. Properties of human milk and their relationship with maternal nutrition. *Early Human Development*, 49: 7–28
- EuroGrowth. 2000. EuroGrowth - a concerted action of European Union. Version 2.0.0. Vienna, University of Vienna, University Nijmegen: software <http://www.euro-growth.org/> (junij 2011)

- FAO. 2004. Human energy requirements: report of a Joint FAO/WHO/UNU Expert Consultation. Rome, Food and Agriculture Organization of the United Nations: 96 str.
- FAO. 2010. The state of food insecurity in the world : addressing food insecurity in protracted crises. Rome, Food and Agriculture Organization of the United Nations: 57. str.
<http://www.fao.org/docrep/013/i1683e/i1683e.pdf> (julij 2011)
- Fewtrell M.S., Abbott R.A., Kennedy K., Singhal A., Morley R., Caine E., Jamieson C., Cockburn F., Lucas A. 2004. Randomized, double-blind trial of long-chain polyunsaturated fatty acid supplementation with fish oil and borage oil in preterm infants. *Journal of Pediatrics*, 144: 471–479
- Fidler N. 1997. Maščobno-kislinska sestava humanega mleka v Sloveniji. Magistrsko delo. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 77 str.
- Fidler N. 1999. Biološka razpoložljivost dokozaheksaenojske kisline pri doječih materah. Doktorsko delo. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 109 str.
- Fidler N., Koletzko B., Sauerwald T.U. 1999. Single cell oils production and application. Zbornik Biotehniške fakultete Univerze v Ljubljani, Kmetijstvo, Zootehnika, 74, 2: 37–45
- Fidler N., Sedmak M., Koletzko B., Kržišnik C. 2000a. Vpliv mlečnih nadomestkov na maščobno-kislinski status nedohranjenih dojenčkov. Projekt L3-2091: interno gradivo. Ljubljana, Pediatrična klinika: 68 str.
- Fidler N., Sauerwald T., Pohl A., Demmelmair H., Koletzko B. 2000b. Docosahexaenoic acid transfer into human milk after dietary supplementation: a randomized clinical trial. *Journal of Lipid Research*, 41, 9: 1376–1383
- Fidler Mis N., Salobir K., Stibilj V. 2001. Fatty acid composition of human colostrum in Slovenian women living in urban and rural areas. *Biology of the Neonate*, 79: 15–20
- Fidler Mis N., Sedej I. 2003. Vpeljava analitskih metod za določanje vsebnosti maščob in maščobno-kislinske sestave humanega mleka in plazemskih lipidov. V: Dojenje za zdravo življenje: zbornik predavanj: tretji simpozij v Laškem, 10. in 11. oktober 2003, Laško. Bratanič B. (ur.). Ljubljana, Nacionalni odbor za spodbujanje dojenja pri Slovenskem odboru za UNICEF: 112–118
- Fidler Mis N. 2004. Pomen maščob in maščobnih kislin v prehrani dojenčka. V: Novosti iz genetike in endokrinologije. Prehrana dojenčka. Glivične bolezni v otroški dobi - aspergiloza. Kržišnik C., Battelino T. (ur.). Ljubljana, Univerza v Ljubljani, Medicinska fakulteta, Katedra za pediatrijo: 76–91
- Fidler Mis N., Sedej I., Breclj J., Sedmak M., Kržišnik C., Koletzko B. 2004a. Wachstum der gestillten Säuglinge mit Gedeihstörung nach der Zugabe der Formelnahrung. *Aktuelle Ernährungsmedizin*, 29, 2: 112–113

- Fidler Mis N., Sedej I., Breclj J., Širca Čampa A., Sedmak M., Kržišnik C., Koletzko B. 2004b. Thriving of malnourished breastfed infants after additional formula milk feeding. V: European Commission Supported Scientific Workshop: Early nutrition and its later consequences: new opportunities. Book of abstracts, 2–3 July 2004, Paris. Koletzko B. (ed.). Paris, University of Munich: PC14–PC14
- Fidler Mis N., Sedej I., Breclj J., Širca Čampa A., Sedmak M., Kržišnik C., Koletzko B. 2004c. Thriving of malnourished breastfed infants after additional formula milk feeding. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 39, Suppl. 1: S516–S516
- Fidler Mis N., Sedej I., Breclj J., Širca Čampa A., Sedmak M., Kržišnik C., Koletzko B. 2005. Thriving of malnourished breastfed infants after additional formula milk feeding. V: Early nutrition and its later consequences: new opportunities: perinatal programming of adult health - EC supported research. Koletzko B., Dodds P.N., Akerblom H., Ashwell M. (eds.). New York, Springer Science and Business Media: 174–175
- Fiebig H.J. 2011. Trivialnamen der Fettsäuren. Münster, Deutsche Gesellschaft für Fettwissenschaft: 1 str.
<http://www.dgfett.de/material/fsnam.htm> (junij 2011)
- Frank D., Pat S., Wylie P.L. 2002. Improving the analysis of fatty acid methyl esters using retention time locked methods and retention time databases. Publication Number: 5988-5871EN. Wilmington, Agilent Technologies, Inc.: 1–11
- Gabrijelčič Blenkuš M., Gregorič M., Tivadar B., Koch V., Kostanjevec S., Fajdiga Turk V., Žalar A., Lavtar D., Kuhar D., Rozman U. 2009. Prehrambene navade odraslih prebivalcev Slovenije z vidika varovanja zdravja. Ljubljana, Pedagoška fakulteta: 183 str.
- Genzel-Boroviczeny O., Wahle J., Koletzko B. 1997. Fatty acid composition of human milk during 1st month after term or preterm delivery. *European Journal of Pediatrics*, 156: 142–147
- Gil A., Ramirez M., Gil M. 2003. Role of long-chain polyunsaturated fatty acids in infant nutrition. *European Journal of Clinical Nutrition*, 57, Suppl 1: S31–S34
- Gunstone F.D., Harwood J.L., Padley F.B. 1994. Fatty acid structure. V: The lipid handbook. Harwood J.L. (ed.). 2nd ed. London, Chapman & Hall: 1–20
- Gunstone F.D. 1996. Fatty acids: Nomenclature, structure, isolation and structure-determination, biosynthesis, and chemical synthesis. V: Fatty acid and lipid chemistry. Gunstone F.D. (ed.). 1st ed. London, Blackie Academic & Professional: 1–33

- Hachey D.L., Thomas M.R., Emken E.A., Garza C., Brown-Booth L., Adlof R.O., Klein P.D. 1987. Human lactation: maternal transfer of dietary triglycerides labeled with stable isotopes. *Journal of Lipid Research*, 28, 10: 1185–1192
- Haschke F., van't Hof M.A., Euro-Growth Study Group. 2000. Euro-Growth references for length, weight, and body circumferences. Euro-Growth Study Group. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 31, Suppl 1: S14–S38
- Heird W.C. Lapillonne A. 2005. The role of essential fatty acids in development. *Annual Review of Nutrition*, 25: 549–571
- Helland I.B., Saugstad O.D., Smith L., Saarem K., Solvoll K., Ganes T., Drevon C.A. 2001. Similar effects on infants of n-3 and n-6 fatty acids supplementation to pregnant and lactating women. *Pediatrics*, 108, 5: E82–E82
- Henderson R.A., Jensen R.G., Lammi-Keefe C.J., Ferris A.M., Dardick K.R. 1992. Effect of fish oil on the fatty acid composition of human milk and maternal and infant erythrocytes. *Lipids*, 27, 11: 863–869
- Hodson L, Skeaff CM, Wallace AJ, Arribas GL. 2002. Stability of plasma and erythrocyte fatty acid composition during cold storage. *Clinica Chimica Acta*, 321, 1–2: 63–67
- Hoffman D.R., Boettcher J.A., Diersen-Schade D.A. 2009. Toward optimizing vision and cognition in term infants by dietary docosahexaenoic and arachidonic acid supplementation: a review of randomized controlled trials. *Prostaglandins, Leukotrienes, and Essential Fatty Acids*, 81, 2–3: 151–158
- Holman R.T., Johnson S.B., Mercuri O., Itarte H.J., Rodrigo M.A., De Tomas M.E. 1981. Essential fatty acid deficiency in malnourished children. *American Journal of Clinical Nutrition*, 34, 8: 1534–1539
- Innis S.M., Hansen J.W. 1996. Plasma fatty acid responses, metabolic effects, and safety of microalgal and fungal oils rich in arachidonic and docosahexaenoic acids in healthy adults. *American Journal of Clinical Nutrition*, 64, 2: 159–167
- Innis S.M., Adamkin D.H., Hall R.T., Kalhan S.C., Lair C., Lim M., Stevens D.C., Twist P.F., Diersen-Schade D.A., Harris C.L., Merkel K.L., Hansen J.W. 2002. Docosahexaenoic acid and arachidonic acid enhance growth with no adverse effects in preterm infants fed formula. *Journal of Pediatrics*, 140, 5: 547–554
- Innis S.M. 2003. Perinatal biochemistry and physiology of long-chain polyunsaturated fatty acids. *Journal of Pediatrics*, 143, Suppl. 4: S1–S8
- Innis S.M. 2008. Dietary omega 3 fatty acids and the developing brain. *Brain Research*, 1237: 35–43
- Jensen R.G. 1989. Collection, preparation and storage of samples. V: The lipids of human milk. Jensen R.G. (ed.). Boca Raton, CRC Press, Inc.: 7–23

- Jensen R.G., Ferris A.M., Lammi-Keefe C.J. 1992. Lipids in human milk and infant formulas. *Annual Review of Nutrition*, 12: 417–441
- Jensen R.G. 1996. The lipids in human milk. *Progress in Lipid Research*, 35, 1: 53–92
- Jensen C.L., Maude M., Anderson R.E., Heird W.C. 2000. Effect of docosahexaenoic acid supplementation of lactating women on the fatty acid composition of breast milk lipids and maternal and infant plasma phospholipids. *American Journal of Clinical Nutrition*, 71, Suppl. 1: 292S–299S
- Jørgensen M.H., Hølmer G., Lund P., Hernell O., Michaelsen K.F. 1998. Effect of formula supplemented with docosahexaenoic acid and gamma-linolenic acid on fatty acid status and visual acuity in term infants. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 26, 4: 412–421
- Jørgensen M.H., Hernell O., Hughes E., Michaelsen K.F. 2001. Is there a relation between docosahexaenoic acid concentration in mothers' milk and visual development in term infants? *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 32, 3: 293–296
- Kliegman R.M., Stanton B.F., St. Geme III J.W., Schor N.F., Behrman R.E. (eds.). 2011. *Nelson textbook of pediatrics*. 19th ed. Philadelphia, Elsevier Saunders: 2608 str.
- Kolarovic L., Fournier N.C. 1986. A comparison of extraction methods for the isolation of phospholipids from biological sources. *Analytical Biochemistry*, 156, 1: 244–250
- Koletzko B., Abiodun P.O., Laryea M.D., Bremer H.J. 1986a. Fatty acid composition of plasma lipids in Nigerian children with protein-energy malnutrition. *European Journal of Pediatrics*, 145: 109–115
- Koletzko B., Mrotzek M., Bremer H.J. 1986b. Fat content and cis- and trans-isomeric fatty acids in mature human fore- and hindmilk. V: *Human lactation 2*. Hamosh M., Goldman A.S. (eds.). New York, Plenum Press: 589–594
- Koletzko B., Mrotzek M., Bremer H.J. 1988. Fatty acid composition of mature human milk in Germany. *American Journal of Clinical Nutrition*, 46: 954–959
- Koletzko B., Thiel I., Abiodun P.O. 1992. The fatty acid composition of human milk in Europe and Africa. *Journal of Pediatrics*, 120, 4: S62–S70
- Koletzko B., Rodriguez-Palmero M. 1999. Polyunsaturated fatty acids in human milk and their role in early infant development. *Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia*, 4, 3: 269–284
- Koletzko B., Agostoni C., Carlson S.E., Clandinin T., Hornstra G., Neuringer M., Uauy R., Yamashiro Y., Willatts P. 2001a. Long chain polyunsaturated fatty acids (LC-PUFA) and perinatal development. *Acta Paediatrica*, 90, 4: 460–464

- Koletzko B., Rodriguez-Palmero M., Demmelmair H., Fidler N., Jensen R., Sauerwald T. 2001b. Physiological aspects of human milk lipids. *Early Human Development*, 65, Suppl. 2: S3–S18
- Koletzko B., Dodds P.N., Akerblom H., Ashwell M. 2005a. Early nutrition and its later consequences: new opportunities: perinatal programming of adult health - EC supported research. New York, Springer Science and Business Media: 237 str.
- Koletzko B., Baker S., Cleghorn G., Fagundes N.U., Gopalan S., Hernell O., Seng H.Q., Jirapinyo P., Lonnerdal B., Pencharz P., Pzyrembel H., Ramirez-Mayans J., Shamir R., Turck D., Yamashiro Y., Zong-Yi D. 2005b. Global standard for the composition of infant formula: Recommendations of an ESPGHAN coordinated international expert group. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 41: 584–599
- Kovács A., Funke S., Marosvölgyi T., Burus I., Decsi T. 2005. Fatty acids in early human milk after preterm and full-term delivery. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 41, 4: 454–459
- Krugman S.D., Dubowitz H. 2003. Failure to thrive. *American Family Physician*, 68: 879–884
- Larque E., Demmelmair H., Koletzko B. 2002. Perinatal supply and metabolism of long-chain polyunsaturated fatty acids: importance for the early development of the nervous system. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 967: 299–310
- Lauritzen L., Jorgensen M.H., Hansen H.S., Michaelsen K.F. 2002. Fluctuations in human milk long-chain PUFA levels in relation to dietary fish intake. *Lipids*, 37, 3: 237–244
- Lobb K., Chow C.K. 2000. Fatty acid classification and nomenclature. V: Fatty acids in foods and their health implications. Chow C.K (ed.). 2nd ed. New York, Basel, Dekker: 1–16
- Lord R.S., Bralley J.A. 1999. Fatty acid profiling, V: Textbook of natural medicine. Pizzorno J.E. in Murray M.T. (eds.). 2nd ed. Philadelphia, Churchill Livingstone: 136–142
- Lucas A., Fewtrell M.S., Davies P.S., Bishop N.J., Clough H., Cole T.J. 1997. Breastfeeding and catch-up growth in infants born small for gestation age. *Acta Paediatrica*, 86, 6: 564–569
- Lucas A., Stafford M., Morley R., Abbott R., Stephenson T., MacFadyen U., Elias-Jones A., Clements H. 1999. Efficacy and safety of long-chain polyunsaturated fatty acid supplementation of infant-formula milk: a randomised trial. *Lancet*, 354, 9194: 1948–1954
- Lucas A., Morley R., Stephenson T., Elias-Jones A. 2002. Long-chain polyunsaturated fatty acids and infant formula. *Lancet*, 360, 9340: 1178–1178

- MacLean W.C., Lopez de Romaña G., Massa E., Graham G.G. 1980. Nutritional management of chronic diarrhea and malnutrition: primary reliance on oral feeding. *Journal of Pediatrics*, 97, 2: 316–323
- Makrides M., Neumann M., Simmer K., Pater J., Gibson R. 1995. Are long-chain polyunsaturated fatty acids essential nutrients in infancy? *Lancet*, 345, 8963: 1463–1468
- Makrides M., Neumann M.A., Gibson R.A. 1996. Effect of maternal docosahexaenoic acid (DHA) supplementation on breast milk composition. *European Journal of Clinical Nutrition*, 50, 6: 352–357
- Makrides M., Neumann M.A., Simmer K., Gibson R.A. 1999. Dietary long-chain polyunsaturated fatty acids do not influence growth of term infants: A randomized clinical trial. *Pediatrics*, 104, 3: 468–475
- Makrides M., Gibson R.A., Udell T., Ried K., International LCPUFA Investigators. 2005. Supplementation of infant formula with long-chain polyunsaturated fatty acids does not influence the growth of term infants. *American Journal of Clinical Nutrition*, 81, 5:1094–1101
- Makrides M., Smithers L.G., Gibson R.A. 2010. Role of long-chain polyunsaturated fatty acids in neurodevelopment and growth. V: Importance of growth for health and development. Nestlé Nutrition workshop series. Pediatric program, 2009, Kuala Lumpur, Malaysia. Lucas A., Makrides M., Ziegler E.E. (eds.). Basel, Karger AG, Nestlé Nutrition Institute, 65: 123–136
- Marangoni F., Agostoni C., Lammardo A.M., Giovannini M., Galli C., Riva E. 2000. Polyunsaturated fatty acid concentrations in human hindmilk are stable throughout 12-months of lactation and provide a sustained intake to the infant during exclusive breastfeeding: an Italian study. *British Journal of Nutrition*, 84, 1: 103–109
- Marangoni F., Agostoni C., Lammardo A.M., Bonvissuto M., Giovannini M., Galli C., Riva E. 2002. Polyunsaturated fatty acids in maternal plasma and in breast milk. Prostaglandins, Leukotrienes, and Essential Fatty Acids, 66, 5–6: 535–540
- Marín M.C., Rey G.E., Pedersolí L.C., Rodrigo M.A., de Alaniz M.J. 2000. Dietary long-chain fatty acids and visual response in malnourished nursing infants. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids*, 63, 6: 385–390
- Markowitz R., Duggan C. 2003. Chapter 52 – Failure to thrive: Malnutrition in the pediatric outpatient setting. V: Nutrition in pediatrics: Basic science and clinical applications. Walker W.A., Watkins J.B., Duggan C. (eds.). Hamilton, Ontario, BC Decker Inc: 897–909
- Martin J.C., Bougnoux P., Fignon A., Theret V., Antoine J.M., Lamisse F., Couet C. 1993. Dependence of human milk essential fatty acids on adipose stores during lactation. *American Journal of Clinical Nutrition*, 58, 5: 653–659

- Matissek R., Schnepel F.M., Steiner G. 1989. Extraktion nach Ammoniakauflösung - Methode nach Roesse - Gottlieb. V: Lebensmittelanalytik. 2nd ed. Matissek R., Schnepel F.M., Steiner G. (eds.). Berlin, Springer – Lehrbuch: 38–40
- McNamara R.K., Able J., Jandacek M.P.R., Rider T., Tso P., Eliassen J.C., Alfieri D., Weber W., Jarvis K., DelBello M.P., Strakowski S.M., Adler C.M. 2010. Docosahexaenoic acid supplementation augments prefrontal cortex activation during sustained attention in healthy boys: a placebo-controlled dose ranging fMRI study. *American Journal of Clinical Nutrition*, 91, 4: 1060–1067
- Michaelsen K.F., Weaver L., Branca F., Robertson A. 2003. Feeding and nutrition of infants and young children. Guidelines for the WHO European Region, with emphasis on the former Soviet countries. WHO Regional Publications, European Series, No. 87. Copenhagen, WHO Regional Office for Europe: 288 str.
- Minda H., Kovács A., Funke S., Szász M., Burus I., Molnár S., Marosvölgyi T., Decsi T. 2004. Changes of fatty acid composition of human milk during the first month of lactation: a day-to-day approach in the first week. *Annals of Nutrition & Metabolism*, 48, 3: 202–209
- Moltó-Puigmartí C., Castellote A.I., Carbonell-Estrany X., López-Sabater M.C. 2011. Differences in fat content and fatty acid proportions among colostrum, transitional, and mature milk from women delivering very preterm, preterm, and term infants. *Clinical Nutrition*, 30, 1: 116–123
- Morris G., Moorcraft J., Mountjoy A., Wells J.C. 2000. A novel infant formula milk with added long-chain polyunsaturated fatty acids from single-cell sources: a study of growth, satisfaction and health. *European Journal of Clinical Nutrition*, 54, 12: 883–886
- Müller O., Krawinkel M. 2005. Malnutrition and health in developing countries. *Canadian Medical Association Journal*, 173, 3: 279–286
- Naismith D.J. 1973. Kwashiorkor in western Nigeria: a study of traditional weaning foods, with particular reference to energy and linoleic acid. *British Journal of Nutrition*, 30, 3: 567–576
- Nakamura M.T., Cho H.P., Xu J., Tang Z., Clarke S.D. 2001. Metabolism and functions of highly unsaturated fatty acids: an update. *Lipids*, 36, 9: 961–964
- Neifert M.R. 2001. Prevention of breastfeeding tragedies. *Pediatric Clinics of North America*, 48, 2: 273–297
- Park P.W., Goins R.E. 1994. *In situ* preparation of fatty acid methyl esters for analysis of fatty acid composition in foods. *Journal of Food Science*, 59: 1262–1266
- Peterson K.E., Washington J., Rathbun J.M. 1984. Team management of failure to thrive. *Journal of the American Dietetic Association*, 84, 7: 810–815

- Pravilnik o začetnih formulah za dojenčke in nadaljevalnih formulah za dojenčke in majhne otroke. 2007. Uradni list Republike Slovenije, 54, 2896: 7288–7414
- Pravilnik o formulah za dojenčke. 2002. Uradni list Republike Slovenije, 46, 2262: 4638–4658
- Prentice A.M., Paul A.A. 2000. Fat and energy needs of children in developing countries. *American Journal of Clinical Nutrition*, 72, Suppl. 5: 1253S–1265S
- Pugo-Gunsam P., Guesnet P., Subratty A.H., Rajcoomar D.A., Maurage C., Couet C. 1999. Fatty acid composition of white adipose tissue and breast milk of Mauritian and French mothers and erythrocyte phospholipids of their full-term breast-fed infants. *British Journal of Nutrition*, 82, 4: 263–271
- Ramírez M., Gallardo E.M., Souto A.S., Weissheimer C., Gil A. 2001. Plasma fatty-acid composition and antioxidant capacity in low birth-weight infants fed formula enriched with n-6 and n-3 long-chain polyunsaturated fatty acids from purified phospholipids. *Clinical Nutrition*, 20, 1: 69–76
- Ruan C., Liu X., Man H., Ma X., Lu G., Duan G., DeFrancesco C.A., Connor W.E. 1995. Milk composition in women from five different regions of China: the great diversity of milk fatty acids. *Journal of Nutrition*, 125, 12: 2993–2998
- Ryan A.S., Astwood J.D., Gautier S., Kuratko C.N., Nelson E.B., Salem N. 2010. Effects of long-chain polyunsaturated fatty acid supplementation on neurodevelopment in childhood: a review of human studies. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids*, 82, 4–6: 305–314
- Sala-Vila A., Castellote A.I., Campoy C., Rivero M., Rodriguez-Palmero M., López-Sabater M.C. 2004. The source of long-chain PUFA in formula supplements does not affect the fatty acid composition of plasma lipids in full-term infants. *Journal of Nutrition*, 134, 4: 868–873
- Sala-Vila A., Castellote A.I., Rodriguez-Palmero M., Campoy C., Lopez-Sabater M.C. 2005. Lipid composition in human breast milk from Granada (Spain): Changes during lactation. *Nutrition*, 21, 4: 467–473
- Sanders T.A., Reddy S. 1992. The influence of a vegetarian diet on the fatty acid composition of human milk and the essential fatty acid status of the infant. *Journal of Pediatrics*, 120, 4: S71–S77
- Satchithanandam S., Fritsche J., Rader J.I. 2001. Extension of AOAC Official Method 996.01 to the analysis of Standard Reference Material (SRM) 1846 and infant formulas. *Journal of AOAC International*, 84, 3: 805-813
- Satchithanandam S., Fritsche J., Rader J.I. 2002. Gas chromatographic analysis of infant formulas for total fatty acids, including trans fatty acids. *Journal of AOAC International*, 85, 1: 86–94

- Sauerwald T.U., Demmelmair H., Koletzko B. 2001. Polyunsaturated fatty acid supply with human milk. *Lipids*, 36, 9: 991–996
- Schulzke S.M., Patole S.K., Simmer K. 2011. Longchain polyunsaturated fatty acid supplementation in preterm infants. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, 16, 2: CD000375, doi: 10.1002/14651858.CD000375.pub4: 37 str.
- Sedej I., Sedmak M., Breclj J., Fidler Mis N., Širca Čampa A., Kržišnik C., Koletzko B. 2004. Energijske potrebe za doseg optimalnega pridobivanja telesne teže pri podhranjenih dojenčkih: prehranski vidik. V: Najpogostejše težave pri dojenju. 1. strokovno srečanje z mednarodno udeležbo Dojenje: iz prakse za prakso. Zbornik predavanj. 7. in 8. oktober 2004. Felc Z. (ur.). Celje, Splošna bolnišnica: 101–107
- Sedej I., Fidler Mis N., Širca Čampa A., Breclj J., Sedmak M., Kržišnik C., Koletzko B. 2005a. Maščobno-kislinska sestava zrelega mleka mater s hipogalaksijo. V: Zbornik predavanj. 1. slovenski kongres klinične prehrane z mednarodno udeležbo, 11. in 12. november 2005, Maribor. Rotovnik Kozjek N., Mrevlje Ž. (ur.). Ljubljana, Slovensko združenje za klinično prehrano: 221–222
- Sedej I., Fidler Mis N., Širca Čampa A., Breclj J., Sedmak M., Kržišnik C., Koletzko B. 2005b. Maščobno-kislinska sestava lipidov plazme polno dojenih dojenčkov s slabšim napredovanjem na telesni teži. V: Zbornik predavanj. 1. slovenski kongres klinične prehrane z mednarodno udeležbo, 11. in 12. november 2005, Maribor. Rotovnik Kozjek N., Mrevlje Ž. (ur.). Ljubljana, Slovensko združenje za klinično prehrano: 223–224
- Sedej I., Fidler Mis N., Širca Čampa A., Breclj J., Sedmak M., Kržišnik C., Koletzko B. 2006. Growth and fatty acid composition of plasma lipids in infants with failure to thrive after additional formula milk feeding without or with long-chain polyunsaturated fatty acids. V: ESPGHAN 39th Annual Meeting of European Society for Paediatric Gastroenterology Hepatology and Nutrition, Book of abstracts, June 7–10, Dresden. Dresden, European Society for Paediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition: 62–62
- Sedej I., Fidler Mis N., Širca Čampa A., Sedmak M., Breclj J., Kržišnik C., Koletzko B. 2007a. Fatty acids in human milk of mothers with hypogalactia and their controls. V: Abstract book: ESPGHAN. 40th Annual Meeting of the European Society for Paediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition, May 9–12, Barcelona. Paris, European Society for Paediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition: 79–79
- Sedej I., Fidler Mis N., Širca Čampa A., Sedmak M., Breclj J., Kržišnik C., Koletzko B. 2007b. Long-chain polyunsaturated fatty acids in plasma lipids of exclusively breastfed infants with failure to thrive and their controls. V: Abstract book: ESPGHAN. 40th Annual Meeting of the European Society for Paediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition, May 9–12, Barcelona. Paris, European Society for Paediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition: 91–91

- Sedej I., Fidler Mis N., Širca Čampa A., Sedmak M., Breclj J., Kržišnik C., Koletzko B. 2007c. Long-chain polyunsaturated fatty acids in plasma lipids of exclusively breastfed infants with failure to thrive and their controls. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 44, Suppl. 1: e2–e2
- Sedej I., Fidler Mis N., Širca Čampa A., Sedmak M., Breclj J., Kržišnik C., Koletzko B. 2007d. Fatty acids in human milk of mothers with hypogalactia and their controls. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 44, Suppl. 1: e12–e12
- Sedej I., Fidler Mis N., Širca Čampa A., Sedmak M., Breclj J., Kržišnik C., Koletzko B. 2007e. Fatty acids in human milk of mothers with hypogalactia and their controls. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 44, Suppl. 1: e315–e315
- Sedej I., Fidler Mis N., Breclj J., Širca Čampa A., Sedmak M., Kržišnik C., Koletzko B. 2009. Effects of formula supplementation in breast-fed infants with failure to thrive. *Pediatrics International*, 51, 3: 346–351
- Sedmak M., Breclj J., Sedej I., Fidler Mis N., Širca Čampa A., Kržišnik C., Koletzko B. 2004. Energijske potrebe za doseg oprimnega pridobivanja telesne teže pri podhranjenih dojenčkih: klinični vidik. V: *Najpogostejše težave pri dojenju. 1. strokovno srečanje z mednarodno udeležbo Dojenje: iz prakse za prakso. Zbornik predavanj. 7. in 8. oktober 2004. Felc Z. (ur.). Celje, Splošna bolnišnica: 93–99*
- Sedmak M., Breclj J., Sedej I., Fidler Mis N., Širca Čampa A., Kržišnik C., Koletzko B. 2008. Ohranjanje dojenja kljub potrebnemu dodajanju mlečne formule. V: *Mednarodni simpozij Dojenje v sodobni praksi. Zbornik predavanj. 9. maj 2008, Laško. Felc Z., Skale C. (ur.). Celje, Društvo svetovalcev za laktacijo in dojenje Slovenije in Nacionalni odbor za spodbujanje dojenja pri Unicef Slovenija: 153–163*
- Sedmak M., Homan M., Breclj J., Micetić Turk D., Fidler Mis N., Širca Čampa A., Bigec M., Plevnik Vodušek V., Battelino T., Orel R., Bratanič B., Vesel T., Avčin T., Kržišnik C. 2010. Smernice za prehrano dojenčkov v Sloveniji: delovna skupina za nutricionistiko. V: *Pediatrična alergologija in revmatologija. Pediatrična pulmologija. Pediatrična gastroenterologija. Vroči temi. Novosti s področja pediatrične nutricionistike. Novosti s področja pediatrične gastroenterologije. Prirojene žilne malformacije. Novosti v intenzivni terapiji otrok in mladostnikov. Kržišnik C., Battelino T. (ur.). Ljubljana, Medicinska fakulteta, Katedra za pediatrijo: 194–217*
- Simmer K., Patole S.K., Rao S.C. 2008. Longchain polyunsaturated fatty acid supplementation in infants born at term. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, 23, 1: CD000376, doi: 10.1002/14651858.CD000376.pub2: 13 str.
- Simopoulos A.P. 2006. Evolutionary aspects of diet, the omega-6/omega-3 ratio and genetic variation: nutritional implications for chronic diseases. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 60, 9: 502–507
- Singhal A., Lucas A. 2004. Early origins of cardiovascular disease: is there a unifying hypothesis? *Lancet*, 363: 1642–1645

- Singhal A., Cole T.J., Fewtrell M., Deanfield J., Lucas A. 2004. Is slower early growth beneficial for long-term cardiovascular health? *Circulation*, 109: 1108–1113
- Smit E.N., Oelen E.A., Seerat E., Muskiet F.A., Boersma E.R. 2000a. Breast milk docosahexaenoic acid (DHA) correlates with DHA status of malnourished infants. *Archives of Disease in Childhood - BMJ Journals*, 82, 6: 493–494
- Smit E.N., Koopmann M., Boersma E.R., Muskiet F.A. 2000b. Effect of supplementation of arachidonic acid (AA) or a combination of AA plus docosahexaenoic acid on breastmilk fatty acid composition. *Prostaglandins, Leukotrienes, and Essential Fatty Acids*, 62, 6: 335–340
- Smit E.N., Martini I.A., Mulder H., Boersma E.R., Muskiet F.A. 2002. Estimated biological variation of the mature human milk fatty acid composition. *Prostaglandins, Leukotrienes, and Essential Fatty Acids*, 66, 5–6: 549–555
- Smit E.N., Martini I.A., Kemperman R.F., Schaafsma A., Muskiet F.A., Boersma E.R. 2003. Fatty acids in formulae for term infants: compliance of present recommendations with the actual human milk fatty acid composition of geographically different populations. *Acta Paediatrica*, 92, 7: 790–796
- Souci S.W., Fachmann W., Kraut H. 2000. Food composition and nutrition tables = Zusammensetzung der Lebensmittel Nährwert-Tabellen = La composition des aliments tableaux des valeurs nutritives. 6th ed. Scherz H. (ed.). Stuttgart, F. Sensor, Medpharm, CRC Press: 1182 str.
- Sprecher H., Luthria D.L., Mohammed B.S., Baykousheva S.P. 1995. Reevaluation of the pathways for the biosynthesis of polyunsaturated fatty acids. *Journal of Lipid Research*, 36, 12: 2471–2477
- Sprecher H. 2000. Metabolism of highly unsaturated n-3 and n-6 fatty acids. *Biochimica et Biophysica Acta*, 19, 1486, 2–3: 219–31
- Stanley J.C. 2007. Should we be concerned about the dietary ω -6: ω -3 polyunsaturated fatty acid ratio? *Lipid Technology*, 19, 5: 112–113
- Stanovnik B. 1984. IUPAC: nomenklatura organskih spojin: sekcije A, B, C in D. Ljubljana, Državna založba Slovenije: 454 str.
- Širca Čampa A., Fidler Mis N., Sedej I., Sedmak M., Breclj J., Kržišnik C., Koletzko B. 2003. Nutrition of lactating women in Slovenia. *Zbornik Biotehniške fakultete Univerze v Ljubljani, Kmetijstvo, Zootehnika*, 82, 2: 135–142
- Širca Čampa A., Sedmak M., Breclj J., Sedej I., Kržišnik C., Koletzko B., Fidler Mis N. 2004. Prehrana doječih mater: stanje v Sloveniji. V: *Najpogostejše težave pri dojenju. 1. strokovno srečanje z mednarodno udeležbo Dojenje: iz prakse za prakso. Zbornik predavanj. Celje, 7. in 8. oktober 2004. Felc Z. (ur.). Celje, Splošna bolnišnica: 119–128*

- Širca Čampa A., Sedej I., Sedmak M., Brecej J., Fidler Mis N., Kržišnik C., Koletzko B. 2005. Prehrana doječih mater in sestava humanega mleka: vpliv vnosa maščob v krajšem časovnem obdobju na sestavo maščob humanega. V: Dojenje, več kot hranjenje. Zbornik prispevkov. 4. simpozij z mednarodno udeležbo, Laško, 30. sept. in 1. okt. 2005. Bratanič B. (ur.). Ljubljana, Unicef Slovenija, Nacionalni odbor za spodbujanje dojenja: 83–96
- Širca Čampa A., Sedej I., Sedmak M., Brecej J., Fidler Mis N., Kržišnik C., Koletzko B. 2006. Nutrition of mothers with hypogalactia in Slovenia. V: ESPGHAN 39th Annual Meeting of European Society for Paediatric Gastroenterology Hepatology and Nutrition, Book of abstracts, June 7–10, Dresden. Dresden, European Society for Paediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition: 75–75
- Štrekelj A. 2009. Vsebnost *trans* maščobnih kislin v materinem mleku. Diplomsko delo. Ljubljana, Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 45 str.
- Taylor G.O. 1971. Serum triglycerides and fatty acids in kwashiorkor. *American Journal of Clinical Nutrition*, 24, 10: 1212–1215
- Uauy R., Hoffman D.R., Mena P., Llanos A., Birch E.E. 2003. Term infant studies of DHA and ARA supplementation on neurodevelopment: results of randomized controlled trials. *Journal of Pediatrics*, 143, Suppl. 4: S17–S25
- Uauy R., Castillo C. 2003. Lipid requirements of infants: Implications for nutrient composition of fortified complementary foods. *Journal of Nutrition*, 133, 9: 2962S–2972S
- Yuhas R., Pramuk K., Lien E.L. 2006. Human milk fatty acid composition from nine countries varies most in DHA. *Lipids*, 41, 9: 851–858
- Zdravec D. 2010. Metabolic significance of fatty acid elongation. Doctoral thesis. Stockholm, Stockholm University, The Wenner-Gren Institute, Department of Physiology: 54 str.
- White F. 1995. Failure to thrive. V: *Clinical paediatrics dietetics*. Shaw V., Lawson M. (eds.). Cambridge, Blackwell Science Ltd: 322–327
- Willatts P., Forsyth J.S., DiModugno M.K., Varma S., Colvin M. 1998. Effect of long-chain polyunsaturated fatty acids in infant formula on problem solving at 10 months of age. *Lancet*, 352: 688–691
- WHO. 1985a. Energy and protein requirements : report of a joint FAO/WHO/UNU expert consultation. Geneva, World Health Organization: 206 str.
- WHO. 1985b. The quantity and quality of breast milk : report on the WHO Collaborative Study on Breast-feeding. Geneva, World Health Organization: 148 str.

ZAHVALA

Doc. dr. Nataši Fidler Mis, univ. dipl. inž., se zahvaljujem za temo naloge, mentorstvo, vse usmeritve tako med praktičnim izvajanjem naloge kot tudi pri nastanku drugih znanstvenih del ter za temeljite preglede doktorske naloge.

Iskrena hvala tudi tedanjemu strokovnemu direktorju Pediatrične klinike prof. dr. Cirilu Kržišniku, dr. med., nosilcu projekta »Vpliv mlečnih nadomestkov na maščobno-kislinski status nedohranjenih dojenčkov«, za dano priložnost, da doktoriram na meni najbolj zelenem področju.

Za ves vložen čas in trud pri izvedbi raziskave, zbiranju vzorcev, obdelavi podatkov, pripravi in pregledu znanstvenih objav se zahvaljujem prim. dr. Marjeti Sedmak, dr. med., Jerneju Brecelj, dr. med., in sodelujočim medicinskim sestram Kliničnega oddelka za gastroenterologijo, hepatologijo in nutricionistiko Pediatrične klinike Univerzitetnega kliničnega centra v Ljubljani ter nekdanji tesni sodelavki Andreji Širca Čampa, univ. dipl. inž., iz Službe za nutricionistiko, dietetiko in bolniško prehrano Pediatrične klinike.

Dr. Alenki Levart, univ. dipl. inž., z Inštituta za prehrano Biotehniške fakultete na Rodici se zahvaljujem za strokovna znanja, informacije in spodbude pri usposabljanju za delo na plinski kromatografiji. Za strokovno usposabljanje v analitiki maščobno-kislinske sestave plazme ter izdelavo bilateralnega poročila se najlepše zahvaljujem dr. Hansu Demmelmaierju iz Presnovnega laboratorija na Otroški polikliniki v Münchnu ter prof. dr. Bertholdu Koletzko, dr. med., vodji omenjenega laboratorija. Slednjemu gre tudi zahvala za preglede znanstvenih objav.

Hvala za sodelovanje vsem doječim materam z dojenčki. Hvala zlasti materam dojenčkov s slabšim napredovanjem na telesni teži za vse darovane vzorce mleka in krvi ter zapisane raziskovalne podatke. Veličine njihovega doprinosa k nalogi sem se zavedla, ko sem nekaj let kasneje tudi sama postala mati dojenčka s slabšim napredovanjem na telesni teži.

Doc. dr. Gaju Vidmarju z Inštituta za biomedicinsko informatiko se zahvaljujem za usmeritve in pomoč pri statistični obdelavi podatkov.

Dr. Nataši Terbovšek Coklin se zahvaljujem za prijazno učenje pravil slovenskega knjižnega jezika in jezikovni pregled pričujočega dela.

Za finančno podporo pri raziskavi se zahvaljujem Agenciji RS za raziskovalno dejavnost ter Ministrstvu za znanost in tehnologijo RS.

V desetih letih praktičnega in teoretičnega nastajanja pričujočega dela sem se srečala z mnogimi izjemnimi ljudmi, ki so na različne načine pripomogli k temu, da je moje doktorsko delo danes pred vami. Nekateri z nasveti, drugi z moralno podporo, tretji s poslušanjem in bodrenjem, naj na tej poti ne odneham. Preveč vas je, da bi vas mogla zapisati z imeni. Srčna hvala tedanji tajnici strokovnega direktorja Pediatrične klinike Mihaeli Jurčec in tedanji poslovni direktorici Pediatrične klinike Biserki Marolt Meden za

njun doprinos k izvedbi projekta. Prav tako iskrena hvala sodelavkam Biokemijskega laboratorija Pediatrične klinike, vodji Mirjani Zupančič in dr. Barbki Repič za mnoge praktične usmeritve kot tudi vsem drugim v laboratoriju, ki ste z mano delile vedre in manj vedre delavnike. Zahvala gre tudi sodelavcem Biotehniške fakultete, sošolcem s podiplomskega študija živilstva, prijateljem in družini. Iskrena vam hvala za vso podporo!

In nenazadnje, mojemu dragemu možu Andreju srčna hvala za spodbudo, motiviranje in pomoč pri tem, da po daljšem premoru udejanjim svoje poklicne cilje ter začnem živeti nove sanje.

PRILOGE

Priloga A1: Večkrat nenasičene maščobne kisline v začetnih formulah za dojenčke, ki so dostopne na slovenskem trgu v letu 2011

Appendix A1: Polyunsaturated fatty acids in infant formulas, which are available on the Slovenian market in 2011

maščobna kislina		C18:2n-6	C20:4n-6	C18:3n-3	C22:6n-3	ω-3 LCP + ω-6 LCP
tržno ime izdelka	proizvajalec	mg/100g pripravljene začetne formule za dojenčke				
Aptamil 1 Immunofortis začetno mleko za dojenčke	Milupa	500	11	90	6,4	-
Milumil 1 začetno mleko		500	6,4	90	6,4	-
Novalac 1 začetno mleko za dojenčke	Novalac	600	-	59,8	-	*
Hipp 1 Bio začetno mleko za dojenčke	Hipp	600	-	70	-	15,8
Hipp Pre Bio začetno mleko za dojenčke		600	-	70	-	21
Hipp Pre Combiotic Bio Mleko začetno mleko za dojenčke		600	-	70	-	20
Hipp 1 Combiotic Bio Mleko začetno mleko za dojenčke		600	-	80	-	16
Beba Pro Start Pre 1 začetna formula za dojenčke	Nestle Nutrition	500	8	64,5	7,9	19,7
Beba Pro 1 začetna formula za dojenčke		500	7,8	67	7,7	19,3
Humana začetno mleko	Humana	-	-	-	-	*
Humana 1 začetno mleko za dojenčke		575	-	71	-	*
Sunval 1 Bio začetno mleko za dojenčke	Sunval	600	-	50	-	*
Babylove 1 Bio začetno mleko za dojenčke	DrogerieMarkt	730	-	80	-	*
Holle Bio 1 bio mleko v prahu 1 od 1. stekleničke	Holle baby food	-	-	-	-	*

-- podatka ni v posredovani proizvajalčevi specifikaciji

* – LCP niso dodane izdelku

Priloga A2: Okrajšave, simboli in kemijska imena maščobnih kislin, ki smo jih identificirali v raziskavi
Appendix A2: Abbreviations, symbols and systematic names of identified fatty acids

kemijsko ime maščobne kisline					
okrajšava	okrajšava	simbol	angleško	nemško	slovensko
vir			Gunstone in sod. (1994), Gunstone (1996), Lobb in Chow (2000)	Fiebig (2011)	Stanovnik (1984)
C12:0			dodecanoic acid	Dodecansäure	dodekanojska kislina
C12:1n-1			cis-11-dodecenoic acid		cis-11-dodecenojska kislina
C13:0			tridecanoic acid		tridekanojska kislina
C14:0		Myr	tetradecanoic acid	Tetradecansäure	tetradekanojska kislina
C14:1n-5			cis-9-tetradecenoic acid	Delta-9-cis-Tetradecensäure	cis-9-tetradecenojska kislina
C15:0iso			13-methyltetradecanoic acid	13-Methyltetradecansäure	13-metiltetradekanojska kislina
C15:0a-iso			12-methyltetradecanoic acid	12-Methyltetradecansäure	12-metiltetradekanojska kislina
C15:0			pentadecanoic acid	Pentadecansäure	pentadekanojska kislina
C15:1n-5			cis-10-pentadecenoic acid		cis-10-pentadecenojska kislina
C16:0		Pam	hexadecanoic acid	Hexadecansäure	heksadekanojska kislina
C16:1n-7		δ -Pam	cis-9-hexadecenoic acid	Delta-9-cis-Hexadecensäure	cis-9-heksadecenojska kislina
C17:0			heptadecanoic acid	Heptadecansäure	heptadekanojska kislina
C17:1n-7			cis-10-heptadecenoic acid	Delta-9-cis-Heptadecensäure	cis-10-heptadecenojska kislina
C18:0		Ste	octadecanoic acid	Octadecansäure	oktadekanojska kislina
C18:1n-9t			trans-9-octadecenoic acid		trans-9-oktadecenojska kislina
C18:1n-9	OK	Ole	cis-9-octadecenoic acid	Delta-9-Octadecensäure	cis-9-oktadecenojska kislina
C18:1n-7		Vac	cis-11-octadecenoic acid	Delta-11-cis-Octadecensäure	cis-11-oktadecenojska kislina
C18:2n-6 tt			trans-9,12-octadecadienoic acid		trans-9,12-oktadekadienojska kislina
C18:2n-6	LK	Lin	cis-9,12-octadecadienoic acid	Delta-9-cis, Delta-12-cis-Octadecadiensäure	cis-9,12-oktadekadienojska kislina
C18:3n-6	GLK	γLnn	cis-6,9,12-octadecatrienoic acid	Delta-6-cis, 9-cis, 12-cis-Octadecatriensäure	cis-6,9,12-oktadekatrienojska kislina
C19:0			nonadecanoic acid		nonadekanojska kislina
C18:3n-3	ALK	αLnn	cis-9,12,15-octadecatrienoic acid	Octadecatriensäure	cis-9,12,15-oktadekatrienojska kislina
C18:4n-3			acid		cis-6,9,12,15-oktadekatetraenojska kislina

»se nadaljuje«

Nadaljevanje priloge A2: Okrajšave, simboli in kemijska imena maščobnih kislin, ki smo jih identificirali v raziskavi

Continuation of Appendix A2: Abbreviations, symbols and systematic names of identified fatty acids

kemijsko ime maščobne kisline					
okrajšava	okrajšava	simbol	angleško	nemško	slovensko
viri			Gunstone in sod. (1994), Gunstone (1996), Lobb in Chow (2000)	Fiebig (2011)	Stanovnik (1984)
C20:0		Ach	eicosanoic (Icosanoic) acid	Eicosan-/Icosansäure	eikozanojska kislina
C20:1n-15			cis-5-eicosenoic acid	Delta-5-cis-Eicosen-/Icosensäure	cis-5-eikozenojska kislina
C20:1n-12			cis-8-eicosenoic acid	Delta-8-cis-Eicosen-/Icosensäure	cis-8-eikozenojska kislina
C20:1n-9			cis-11-eicosenoic acid	Delta-11-cis-Eicosen-/Icosensäure	cis-11-eikozenojska kislina
C20:2n-6			cis-11,14-eicosadienoic acid	Delta-11-cis, 14-cis-Eicosa-/Icosadiensäure	cis-11,14-eikozadienojska kislina
C20:3n-6	HGLK		cis-8,11,14-eicosatrienoic acid	Delta-8-cis, 11-cis, 14-cis-Eicosa-/Icosatriensäure	cis-8,11,14-eikozatrienojska kislina
C21:0			heneicosanoic acid		
C20:4n-6	ARK	δ4-Ach	cis-5,8,11,14-eicosatetraenoic acid	Delta-5-cis, 8-cis, 11-cis, 14-cis-Eicosa-/Icosatetraensäure	cis-5,8,11,14-eikozatetraenojska kislina
C20:3n-3			cis-11,14,17-eicosatrienoic acid		cis-11,14,17-eikozatrienojska kislina
C20:5n-3	EPK		cis-5,8,11,14,17-eicosapentaenoic acid		cis-5,8,11,14,17-eikozapentaenojska kislina
C22:0		Beh	docosanoic acid	Docosansäure	dokozanojska kislina
C22:1n-11			cis-11-docosenoic acid	Delta-11-cis-Docosensäure	cis-11-dokozenojska kislina
C22:1n-9			cis-13-docosenoic acid	Delta-13-cis-Docosensäure	cis-13-dokozenojska kislina
C22:2n-6			cis-13,16-docosadienoic acid	Delta-13-cis, 16-cis-Docosadiensäure	cis-13,16-dokozadienojska kislina
C23:0			tricosanoic acid		trikozanojska kislina
C22:4n-6			cis-7,10,13,16-docosatetraenoic acid		cis-7,10,13,16-dokozatetraenojska kislina
C22:3n-3			cis-13,16,19-docosatrienoic acid		cis-13,16,19-dokozatrienojska kislina
C22:5n-3	ω-3 DPK		cis-7,10,13,16,19-docosapentaenoic acid		cis-7,10,13,16,19-dokozapentaenojska kislina
C24:0		Lig	tetracosanoic acid	Tetracosansäure	tetrazokozanojska kislina
C22:6n-3	DHK		cis-4,7,10,13,16,19-docosahexaenoic acid	Delta-4-cis, 7-cis, 10-cis, 13-cis, 16-cis, 19-cis-Docosahexaensäure	cis-4,7,10,13,16,19-dokozahexaenojska kislina
C24:1n-9		Ner	cis-15-tetracosenoic acid	Delta-15-cis-Tetracosensäure	cis-15-tetrazokozenojska kislina

Priloga A3: Okrajšave, trivialna imena in nekatere fizikalne lastnosti maščobnih kislin, ki smo jih identificirali v raziskavi

Appendix A3: Abbreviations, trivial names and selected physical properties of identified fatty acids

okrajšava	trivialno ime			slovensko	maščobna kislina		metilni ester maščobne kisline	
	angleško	nemško			hlapnost (°C)	vrelišče (°C)	hlapnost (°C)	vrelišče (°C)
viri	Gunstone in sod., 1994; Gunstone, 1996; Lobb in Chow, 2000	Fiebig, 2011	Stanovnik, 1984	Gunstone in sod., 1994; Gunstone, 1996				
C12:0	lauric acid	Laurinsäure	lavrinska kislina	44,8	130	5,1	262	
C12:1n-1								
C13:0	myristic acid	Myristinsäure	miristinska kislina	41,8	140	5,8	114	
C14:0	myristoleic acid	Myristoleinsäure	miristoleinska kislina	54,4/ 53,9	149	19,1		
C14:1n-5								
C15:0iso	13-methylmyristic acid		13-metilmiristinska kislina					
C15:0a-iso	12-methylmyristic acid		12-metilmiristinska kislina					
C15:0				52,5	158	19,1	127	
C15:1n-5								
C16:0	palmitic acid	Palmitinsäure	palmitinska kislina	62,9/ 63,1	167	30,7	136	
C16:1n-7	palmitoleic acid	Palmitoleinsäure	palmitoleinska kislina	0,5				
C17:0	margaric or daturic acid	Margarinsäure		61,3	175	29,7	148	
C17:1n-7								
C18:0	stearic acid	Stearinsäure	stearinska kislina	70,1/ 69,6	184	37,8	156	
C18:1n-9t	elaidic acid	Elaidinsäure	elaidinska kislina					
C18:1n-9	oleic acid	Ölsäure	oleinska kislina	16,2				
C18:1n-7	cis-vaccenic acid	cis-Vaccensäure	cis-vaccenska kislina	39				
C18:2n-6 tt	linolelaidic acid		linolelaidinska kislina					
C18:2n-6	linoleic acid	Linolsäure	linolna kislina	-5				
C18:3n-6	γ -linolenic acid	gamma-Linolensäure	γ -linolenska kislina	69,4		38,5	191	
C19:0								
C18:3n-3	α -linolenic acid	alpha-Linolensäure	α -linolenska kislina	-11				
C18:4n-3	stearidonic acid		stearidonska kislina	-57				

»se nadaljuje«

Nadaljevanje priloge A3: Okrajšave, trivialna imena in nekatere fizikalne lastnosti maščobnih kislin, ki smo jih identificirali v raziskavi

Continuation of Appendix A3: Abbreviations, trivial names and selected physical properties of identified fatty acids

okrajšava	angleško	nemško	slovensko	hlapnost (°C)	vrelišče (°C)	hlapnost (°C)	vrelišče (°C)
viri	Gunstone in sod., 1994; Gunstone, 1996; Lobb in Chow, 2000	Fiebig, 2011	Stanovnik, 1984	Gunstone in sod., 1994; Gunstone, 1996			
C20:0	arachidic acid	Arachinsäure	arahinska kislina	76,1/ 75,3	204	46,4	188
C20:1n-15							
C20:1n-12							
C20:1n-9	gondoic acid	Gondosäure					
C20:2n-6			dihomo- γ -linolenska kislina				
C20:3n-6	dihomo- γ -linolenic acid	Di-homo- γ -Linolensäure					
C21:0							
C20:4n-6	arachidonic acid	Arachidonsäure	arahidonska kislina	-50			
C20:3n-3							
C20:5n-3			klpadonska kislina	-54			
C22:0	behenic acid	Behensäure	behenska kislina	80,0/ 79,9		51,8	206
C22:1n-11	cetoleic acid						
C22:1n-9	erucic acid	Erucasäure	eruka kislina	33,4			
C22:2n-6							
C23:0							
C22:4n-6	adrenic acid		adrenska kislina	79,6		53,9	
C22:3n-3							
C22:5n-3							
C24:0	lignoceric acid	Lignocerinsäure	klupanodonska kislina	84,2		57,4	222
C22:6n-3	docosahexaenoic acid		lignocerinska	-44			
C24:1n-9	nervonic acid	Nervensäure	nervonska kislina	39			

Priloga B1: Ponovljivost rezultatov desetih zaporednih injiciranj dveh različnih mešanic standardov, izvedenih v treh zaporednih dneh (ut. %)

Appendix B1: Reproducibility of the results (wt. %) of two different mixtures of standards carried out in ten consecutive injections during three consecutive days

maščobna kislina	standardna mešanica 1			standardna mešanica 2		
	\bar{X} (ut. %)	SO	KV	\bar{X} (ut. %)	SO	KV
C4:0	1,13	0,01	0,50	1,36	0,02	1,39
C6:0	1,66	0,00	0,30	2,30	0,01	0,27
C8:0	1,97	0,01	0,29	2,81	0,01	0,25
C10:0	2,21	0,01	0,29	3,18	0,01	0,25
C11:0	2,29	0,01	0,29	1,65	0,00	0,25
C12:0	2,41	0,01	0,29	3,36	0,01	0,23
C13:0	2,37	0,01	0,30	1,75	0,00	0,18
C14:0	2,54	0,01	0,28	3,64	0,01	0,22
C14:1n-5	2,51	0,01	0,25	1,73	0,00	0,21
C15:0 IS	2,59	0,01	0,27	1,86	0,00	0,21
C15:1n-5	2,55	0,01	0,27	1,68	0,00	0,28
C16:0	5,26	0,01	0,26	5,69	0,01	0,17
C16:1n-7	2,61	0,01	0,23	1,77	0,00	0,18
C17:0	2,66	0,01	0,20	1,61	0,00	0,20
C17:1n-7	2,64	0,01	0,24	1,89	0,00	0,21
C18:0	2,71	0,01	0,22	3,99	0,01	0,15
C18:1n-9c	2,70	0,03	1,18			
C18:1n-9t	2,69	0,03	1,26	5,80	0,01	0,23
C18:2n-6c (c9,12)	2,70	0,01	0,26	1,78	0,00	0,27
C18:2n-6t (t9,12)	/	/	/	1,84	0,00	0,23
C18:3n-6	2,61	0,01	0,30	1,58	0,00	0,30
C19:0 IS	3,51	0,01	0,15	2,87	0,01	0,24
C18:3n-3	2,68	0,01	0,28	1,64	0,00	0,17
C20:0	2,75	0,01	0,19	3,91	0,01	0,16
C20:1n-9	2,74	0,01	0,34	1,96	0,00	0,19
C20:2n-6	2,61	0,02	0,72	1,56	0,01	0,68
C20:3n-9	4,03	0,02	0,40	3,48	0,01	0,30
C20:3n-6	2,71	0,01	0,26	1,48	0,01	0,45
C21:0	/	/	/	2,08	0,02	0,83
C20:4n-6	2,61	0,01	0,22	1,52	0,01	0,80
C20:3n-3	2,66	0,01	0,23	1,64	0,01	0,39
C20:5n-3	/	/	/	1,39	0,00	0,27
C22:0	2,82	0,01	0,42	4,25	0,02	0,44
C22:1n-9	2,82	0,01	0,43	1,99	0,01	0,37
C22:2n-6	2,80	0,01	0,46	1,95	0,00	0,24
C23:0	/	/	/	2,23	0,01	0,38
C22:4n-6	4,48	0,01	0,26	3,78	0,01	0,20
C24:0	/	/	/	4,61	0,01	0,29
C22:6n-3	7,07	0,02	0,30	4,34	0,01	0,24
C24:1n-9	2,88	0,02	0,78	2,04	0,01	0,60

Priloga B2: Ponovljivost kromatografskih metod med vzorci kvantitativnega standarda GLC-85 z znanimi utežnimi odstotki v obdobju trajanja analiz študijskih vzorcev

Appendix B2: Reproducibility of chromatographic methods measured on samples of quantitative standards GLC-85 with known weight. % during a period of study sample analysis

uporabljena metoda	HMF			PLL		
koncentracija standarda	5.000 µg ml ⁻¹			2.000 µg ml ⁻¹		
n	20			17		
obdobje proučevanja	54 dni			50 dni		
maščobna kislina	\bar{X} (ut. %)	SO	KV	\bar{X} (ut. %)	SO	KV
C12:0	3,78	0,50	13,27	4,38	0,25	5,65
C13:0	3,51	0,34	9,56	3,95	0,24	6,08
C14:0	3,59	0,24	6,63	3,93	0,24	6,08
C14:1n-5	3,64	0,24	6,67	3,94	0,27	6,98
C15:0	3,54	0,15	4,34	3,78	0,22	5,80
C15:1n-5	3,57	0,17	4,62	3,74	0,27	7,11
C16:0	7,02	0,20	2,88	7,32	0,43	5,90
C16:1n-7	3,58	0,12	3,45	3,63	0,24	6,56
C17:0	3,50	0,08	2,28	3,58	0,23	6,48
C17:1n-7	3,57	0,10	2,86	3,52	0,20	5,55
C18:0	3,53	0,09	2,42	3,57	0,32	9,09
C18:1n-9 c+t	7,14	0,19	2,69	6,95	0,25	3,53
C18:2n-6c	3,70	0,13	3,45	3,50	0,15	4,34
C18:3n-6	3,88	0,14	3,64	3,44	0,16	4,63
C18:3n-3	3,72	0,16	4,36	3,46	0,15	4,34
C20:0	3,45	0,15	4,30	3,55	0,53	14,94
C20:1n-9	3,56	0,12	3,47	3,40	0,18	5,19
C20:2n-6	3,57	0,13	3,64	3,34	0,17	5,12
C20:3n-6	3,68	0,14	3,88	3,35	0,14	4,27
C20:4n-6	3,58	0,16	4,40	3,24	0,13	3,98
C20:3n-3	3,66	0,16	4,24	3,32	0,16	4,87
C22:0	3,38	0,26	7,71	3,60	0,77	21,35
C22:1n-9	3,46	0,20	5,78	3,47	0,34	9,87
C22:2n-6	3,54	0,19	5,50	3,41	0,31	9,22
C22:6n-3	3,58	0,20	5,70	3,04	0,24	7,91
C24:1n-9	3,29	0,32	9,58	3,60	0,56	15,50

HMF – kromatografska metoda, ki smo jo uporabljali za ločevanje MEMK humanega mleka

PLL – kromatografska metoda, ki smo jo uporabljali za ločevanje MEMK posameznih frakcij plazemskih lipidov

Priloga B3: Ponovljivost med paralelnimi meritvami (ut. %), merjenimi isti dan pri določanju maščobno-kislinske sestave olja, kravjega in humanega mleka

Appendix B3: Repeatability of measurements in determining the fatty acid composition of oil, cow and human milk (wt. %) measured in the same day

vzorec n maščobna kislina	olja			kravje mleko			humano mleko			humano mleko		
	\bar{X}	SO	KV	\bar{X}	SO	KV	\bar{X}	SO	KV	\bar{X}	SO	KV
C12:0	0,09	0,00	0,73	2,12	0,10	4,71	4,26	0,02	0,58	7,40	0,33	4,40
C12:1n-1	0,00	0,00		0,07	0,00	3,95	0,01	0,00	7,50	0,02	0,00	2,69
C13:0	0,00	0,00		0,00	0,00		0,00	0,00		0,00	0,00	
C14:0	0,09	0,00	0,23	10,89	0,35	3,22	4,54	0,06	1,25	8,53	0,17	1,94
C14:1n-5	0,00	0,00		0,86	0,03	3,17	0,16	0,00	1,41	0,24	0,00	1,75
² C16:0 iso/C15:0 iso	0,00	0,00		0,31	0,01	2,59	0,05	0,00	2,22	0,08	0,00	3,52
C15:0a-iso	0,00	0,00		0,40	0,01	2,65	0,07	0,00	3,71	0,10	0,00	0,77
C15:0	0,02	0,00	3,35	1,06	0,03	2,37	0,26	0,00	0,92	0,33	0,00	0,42
C15:1n-5	0,00	0,00		0,00	0,00		0,00	0,00		0,00	0,00	
C16:0	5,41	0,01	0,14	34,91	0,39	1,12	20,65	0,05	0,26	21,76	0,09	0,41
C16:1n-7	0,23	0,00	0,51	2,52	0,04	1,40	2,02	0,01	0,39	2,21	0,02	0,71
C17:0	0,05	0,00	0,71	1,06	0,02	1,78	0,27	0,00	0,99	0,35	0,00	0,64
C17:1n-7	0,07	0,00	2,54	0,00	0,00		0,00	0,00		0,00	0,00	
C18:0	2,51	0,01	0,42	10,60	0,21	2,02	9,60	0,02	0,18	6,98	0,04	0,59
C18:1n-9 c+t	64,13	0,02	0,04	27,42	0,42	1,53	31,68	0,09	0,30	28,46	0,22	0,78
C18:1n-7	3,54	0,02	0,64	2,50	0,08	3,27	2,37	0,03	1,45	2,04	0,09	4,43
C18:2n-6 c+t	18,90	0,03	0,16	2,03	0,05	2,22	20,15	0,03	0,17	17,14	0,12	0,70
C18:3n-6	0,00	0,00		0,09	0,03	29,14	0,14	0,01	4,08	0,11	0,01	4,91
C18:3n-3	2,37	0,01	0,35	1,30	0,02	1,43	0,91	0,00	0,27	0,73	0,01	0,74
² C18:2n-7/C18:4n-3	0,00	0,00		0,51	0,04	7,34	0,23	0,01	2,17	0,27	0,01	2,43
C20:0	0,57	0,00	0,53	0,22	0,01	5,04	0,28	0,00	0,55	0,18	0,00	2,19
C20:1n-15, n-12	0,03	0,00	14,75	0,24	0,03	11,09	0,06	0,01	14,05	0,10	0,00	1,45
C20:1n-9	1,09	0,00	0,35	0,07	0,01	13,23	0,29	0,01	4,50	0,33	0,00	1,22
C20:2n-6	0,05	0,00	1,32	0,03	0,00	11,78	0,35	0,00	0,67	0,42	0,00	0,96
C20:3n-6	0,00	0,00		0,05	0,00	8,01	0,37	0,00	0,93	0,51	0,01	1,08
C21:0	0,00	0,00		0,04	0,00	6,69	0,00	0,00		0,00	0,00	
C20:4n-6	0,00	0,00		0,06	0,00	6,56	0,46	0,00	0,38	0,58	0,00	0,84
C20:3n-3	0,00	0,00		0,02	0,00	4,78	0,03	0,00	0,99	0,04	0,00	2,54
C20:5n-3	0,01	0,00	13,12	0,11	0,01	8,95	0,06	0,01	26,25	0,07	0,00	1,54
C22:0	0,35	0,01	1,76	0,10	0,01	7,68	0,12	0,01	8,76	0,10	0,00	3,41
C22:1n-11	0,01	0,01	97,59	0,03	0,01	20,04	0,00	0,01	173,21	0,02	0,00	1,22
C22:1n-9	0,09	0,00	2,86	0,01	0,00	63,06	0,04	0,00	1,91	0,06	0,00	3,02
C22:2n-6	0,01	0,00	20,87	0,02	0,00	17,20	0,04	0,00	3,52	0,05	0,00	4,54
C23:0	0,03	0,00	7,65	0,08	0,01	9,46	0,01	0,01	86,78	0,00	0,00	
C22:4n-6	0,01	0,00	10,21	0,02	0,00	15,06	0,10	0,00	4,84	0,17	0,00	0,85
C22:3n-3	0,00	0,00		0,00	0,00		0,00	0,00		0,00	0,00	
C22:5n-3	0,04	0,00	2,00	0,17	0,01	5,49	0,12	0,00	1,20	0,20	0,00	2,29
C24:0	0,20	0,00	0,73	0,08	0,01	16,17	0,07	0,00	2,16	0,05	0,00	3,65
DHK; C22:6n-3	0,00	0,00		0,01	0,01	91,43	0,17	0,00	1,39	0,34	0,00	1,23
C24:1n-9	0,12	0,00	1,25	0,01	0,01	137,57	0,03	0,00	2,46	0,04	0,00	4,97
% maščob (g/100 g vzorca)	88,04	0,10	0,0	3,97	0,03	0,70	3,17	0,01	0,0	6,66	0,05	0,8

² – v medlaboratorijski primerjavi je bila s podobnim ut. % identificirana maščobna kislina, ki je navedena prva

Priloga B4: Ponovljivost med paralelnimi meritvami pri določanju maščobno-kislinske sestave humanega mleka med dnevi

Appendix B4: Repeatability between parallel measurements in determining the fatty acid composition of human milk (wt. %) measured during different days

vzorec n (dnevi) maščobna kislina	humano mleko			humano mleko		
	\bar{X}	SO	KV	\bar{X}	SO	KV
C12:0	3,96	0,52	13,23	7,18	0,79	10,99
C12:1 n-1	0,01	0,00	12,89	0,02	0,00	11,44
C13:0	0,00	0,00		0,00	0,00	
C14:0	4,26	0,28	6,64	8,28	0,50	6,09
C14:1n-5	0,15	0,01	7,27	0,23	0,02	6,40
[?] C16:0 iso/C15:0 iso	0,05	0,00	5,61	0,07	0,00	5,19
C15:0a-iso	0,07	0,00	5,97	0,10	0,00	4,23
C15:0	0,25	0,01	4,50	0,32	0,01	3,09
C15:1n-5	0,00	0,00		0,00	0,00	
C16:0	20,09	0,45	2,23	21,47	0,31	1,44
C16:1n-7	1,96	0,05	2,70	2,19	0,04	1,62
C17:0	0,27	0,00	1,45	0,35	0,01	1,69
C17:1n-7	0,00	0,00		0,00	0,00	
C18:0	9,81	0,18	1,86	7,04	0,16	2,26
C18:1n-9 c+t	32,22	0,53	1,66	28,80	0,64	2,21
C18:1n-7	2,40	0,03	1,35	1,99	0,06	2,80
C18:2n-6 c+t	20,45	0,31	1,50	17,41	0,43	2,46
C18:3n-6	0,14	0,01	9,96	0,12	0,01	6,09
C18:3n-3	0,93	0,01	1,52	0,74	0,02	2,51
[?] C18:2n-7/C18:4n-3	0,24	0,01	6,07	0,28	0,02	6,28
C20:0	0,29	0,01	4,06	0,18	0,00	2,18
C20:1n-15, n-12	0,07	0,01	9,93	0,10	0,01	12,59
C20:1n-9	0,31	0,01	4,49	0,34	0,01	3,45
C20:2n-6	0,37	0,01	3,93	0,43	0,01	3,37
C20:3n-6	0,39	0,01	3,50	0,52	0,02	3,52
C21:0	0,00	0,00		0,00	0,00	
C20:4n-6	0,49	0,02	3,10	0,60	0,02	3,73
C20:3n-3	0,03	0,00	5,08	0,05	0,00	6,20
C20:5n-3	0,06	0,01	11,19	0,07	0,00	2,49
C22:0	0,13	0,01	7,61	0,10	0,01	8,51
C22:1n-11	0,01	0,00	40,71	0,02	0,00	7,75
C22:1n-9	0,04	0,00	6,65	0,06	0,00	5,85
C22:2n-6	0,04	0,00	4,65	0,05	0,00	6,62
C23:0	0,01	0,01	78,46	0,00	0,00	
C22:4n-6	0,10	0,00	4,60	0,18	0,01	6,92
C22:3n-3	0,00	0,00		0,04	0,05	
C22:5n-3	0,13	0,01	4,55	0,21	0,01	4,38
C24:0	0,08	0,01	11,34	0,05	0,01	14,71
C22:6n-3	0,18	0,01	4,87	0,35	0,02	5,53
C24:1n-9	0,03	0,00	13,81	0,04	0,01	12,96
% maščob (g/100 g vzorca)	3,11	0,16	5,3	6,46	0,24	3,7

[?] – v medlaboratorijski primerjavi je bila s podobnim ut. % identificirana maščobna kislina, ki je navedena prva

Priloga B5: Primerjava v našem laboratoriju izmerjenih vrednosti maščobnih kislin v certificiranem referenčnem materialu CRM 163 s certificiranimi vrednostmi (ut. %)

Appendix B5: Comparison of our laboratory measured values of fatty acids (wt. %) in a certified reference material CRM 163 with the certified values

maščobna kislina*	certificirana vrednost (ut. %) $\bar{X} \pm SO$	izmerjena vrednost (ut. %) $\bar{X} \pm SO$
C14:0	2,29 ± 0,04	2,28 ± 0,01
C16:0	25,96 ± 0,30	26,09 ± 0,02
C16:1	2,58 ± 0,16	2,29 ± 0,01
C18:0	18,29 ± 0,16	18,38 ± 0,06
C18:1	38,34 ± 0,36	38,06 ± 0,03
C18:2	7,05 ± 0,17	7,31 ± 0,02
C18:3	0,86 ± 0,14	0,85 ± 0,00

* – vključuje pozicijske in geometrijske izomere

Priloga B6: Rezultati udeležbe v mednarodni interlaboratorijski primerjavi DGF 2004: maščobno-kislinska sestava (ut. %) dveh vzorcev olja

Appendix B6: Results of participation in an international interlaboratory comparison Deutsche Gesellschaft Fur Fettwissenschaft (DGF) 2004: fatty acid composition (wt. %) was measured on two samples of oil

maščobna kislina	DGF 2004	laboratorij Centra za nutricionistiko		
	mediana	ut. %* (\bar{X})	A	R (%)
vzorec 1				
C14:0	0,090	0,09	0,00	0,00
C16:0	5,330	5,43	0,10	1,88
C18:0	2,500	2,51	0,01	0,40
C18:1n-9	65,318	64,08 ^a	1,24	1,90
C18:2n-6	17,753	18,56	0,81	4,55
C18:3n-3	2,070	2,37	0,30	14,49
C22:1n-9	0,090	0,09	0,00	0,00
C20:4n-6	0,000	0,00	0,00	
C18:1n-9 t	1,810	a		
C18:2n-6 t	0,585	0,31	0,28	47,01
C18:3n-3 t	0,263	b		
vzorec 2				
C14:0	0,130	0,14	0,01	7,69
C16:0	12,885	13,14	0,26	1,98
C18:0	3,780	3,78	0,00	0,00
C18:1n-9	55,695	55,18 ^a	0,52	0,92
C18:2n-6	19,620	20,57	0,95	4,84
C18:3n-3	0,490	0,55	0,06	12,24
C22:1n-9	0,085	0,08	0,01	5,88
C20:4n-6	0,000	0,00	0,00	
C18:1n-9 t	2,128	a		
C18:2n-6 t	0,485	0,31	0,18	36,08
C18:3n-3 t	0,080	b		
vsote MEMK				
vzorec 1				
NMK (brez TMK)	9,165	9,39	0,23	2,45
ENMK (brez TMK)	67,790	69,25 ^a	1,46	2,15
VNMK (brez TMK)	19,803	21,05	1,25	6,30
TMK	2,635	0,31 ^c	2,33	88,24
vzorec 2				
NMK (brez TMK)	18,740	19,29	0,55	2,93
ENMK (brez TMK)	57,855	59,24 ^a	1,39	2,39
VNMK (brez TMK)	20,115	21,16	1,05	5,20
TMK	2,720	0,31 ^c	2,41	88,60

$$A = \text{absolutna napaka} = |\text{mediana} - \bar{x}|; R = \text{relativna napaka} = \frac{A \cdot 100}{\bar{x}}$$

mediana predstavlja najboljšo oceno prave koncentracije merjenega parametra; * – izražen kot triacilglicerol/100g vzorca;

NMK = \sum (C6:0;C8:0;C10:0;C11:0;C12:0;C13:0;C14:0;[?]C16:0/C15:0iso;C15:0a-iso;C15:0;C16:0;C17:0;C18:0;C20:0;C21:0;C22:0;C23:0;C24:0);

ENMK = \sum (C12:1n-1;C14:1n-5;C16:1n-7;C17:1n-7;C18:1n-7;C18:1n-9c;C18:1n-9t;C18:1n-12;C20:1n-15;C20:1n-12;C20:1n-9;C22:1n-11;C22:1n-9;C24:1n-9);

VNMK = \sum (C18:2n-6c;C18:3n-3;C20:2n-6;C20:5n-3;C22:2n-6;C22:4n-6;C22:3n-3;C22:5n-3);

^a – pri uporabljenih pogojih ločevanja imata maščobni kislini C18:1n-9c in C18:1n-9t enak retencijski čas;

^b – maščobne kisline C18:3n-3 t nismo identificirali, ker nismo imeli standarda za identifikacijo te maščobne kisline;

^c – samo C18:2n-6 t; drugih *trans* izomer nismo identificirali ali pa so imele isti retencijski čas kot njihove *cis* izomere

Priloga B7: Primerjava maščobno-kislinske sestave (wt. %), izmerjene na istih vzorcih humanega mleka v našem laboratoriju in kemijskem laboratoriju Katedre za prehrano, Rodica

Appendix B7: Comparison of fatty acid composition (wt. %) of human milk measured on the same samples in our laboratory and chemical laboratory of the Chair for Nutrition, Rodica

laboratorij	Laboratorij centra za nutricionistiko Ljubljana ¹	Kemijski laboratorij Katedra za prehrano Rodica ²	
	glej poglavje 3.3.2.1	glej poglavje 3.3.2.1	Park in Goins (Park in Goins, 1994)
metoda ekstrakcije	GC/FID	GC/FID	GC/FID
metoda	ut. (%)	ut. (%)	ut. (%)
maščobna kislina			
C4:0	/	0,01	0,07
C6:0	0,05	0,05	0,09
C8:0	0,17	0,17	0,38
C10:0	2,03	1,99	2,18
C10:1n-1	/	0,02	0,01
C11:0	0,01	0,01	0,01
C11:1n-1	/	0,00	0,00
C12:0	6,72	6,59	6,92
C12:1n-1	0,02	0,00	0,02
C13:0	0,03	0,03	0,03
C13:1n-1	/	0,00	0,00
C14:0	7,06	6,92	6,98
C14:1n-5	0,39	0,46	0,47
C15:0 a-iso	0,12	0,12	0,12
C15:0 iso	0,08	/	/
C15:0	0,37	0,36	0,35
C16:0 iso	/	0,10	0,10
C15:1n-5	0,00	0,00	0,00
C16:0	22,97	22,94	22,70
C16:1n-7 t	/	0,06	0,05
C16:1n-7 c	2,93	2,76	2,77
C17:0 iso	/	0,11	0,10
C17:0 a-iso	/	0,20	0,19
C17:0	0,34	0,35	0,34
C17:1n-7	0,00	0,00	0,00
C18:0	5,88	5,67	5,61
C18:1n-12 (t6)	/	0,28	0,23
C18:1n-9 (t9)	/	0,30	0,33
C18:1n-8 (t10)	/	0,32	0,30
C18:1n-7 (t11)	/	0,55	0,52
C18:1n-11 (c7), n-12 (c6)	/	0,00	0,00
C18:1n-9	28,96 ^Ω	27,59	27,32
C18:1n-7 (c11)	2,59	1,87	1,87
C18:1n-6 (c12)	/	0,19	0,19

»se nadaljuje«

Nadaljevanje priloge B7: Primerjava maščobno-kislinske sestave (ut. %), izmerjene na istih vzorcih humanega mleka v našem laboratoriju in kemijskem laboratoriju Katedre za prehrano, Rodica

Continuation of Appendix B7: Comparison of fatty acid composition (wt. %) of human milk measured on the same samples in our laboratory and chemical laboratory of the Chair for Nutrition, Rodica

laboratorij	Laboratorij centra za nutricionistiko Ljubljana ¹	Kemijski laboratorij Katedra za prehrano Rodica ²	
	metoda ekstrakcije	glej poglavje 3.3.2.1	glej poglavje 3.3.2.1
metoda	GC/FID	GC/FID	GC/FID
maščobna kislina	ut. (%)	ut. (%)	ut. (%)
C18:2n-6 tt	/	0,10	0,00
C18:2n-6 ct	/	0,08	0,08
C18:2n-6 tc	/	0,10	0,10
C18:2n-6 cc	14,22 ^Ω	14,25	14,22
C19:1n-9	/	0,03	0,01
C18:3n-6	0,15	0,17	0,17
C18:3n-3	1,14	1,16	1,16
C20:0	0,17	0,18	0,16
C19:2n-6	/	0,00	0,00
C18:2n-7 c9, t11 k	/	0,23	0,35
C20:1n-15	0,10 ^Δ	0,02	0,01
C18:2n-6 t10, c12 k	/	0,02	0,03
C20:1n-12	/	0,05	0,05
C18:4n-3	0,30	0,02	0,00
C20:1n-9	0,39	0,40	0,40
C21:0	0,00	0,04	0,00
C20:2n-6	0,44	0,42	0,42
C21:1n-9	/	0,02	0,02
C20:3n-6	0,63	0,67	0,66
C20:4n-6	0,56	0,61	0,60
C20:3n-3	0,06	0,07	0,07
C22:0	0,08	0,09	0,05
C22:1n-11	0,00	/	/
C22:1n-9	0,08	0,22	0,21
C20:5n-3	0,09	0,07	0,07
C23:0	0,01	0,01	0,00
C22:2n-6	0,05	0,06	0,06
C23:1n-9	/	0,03	0,00
C24:0	0,08	0,08	0,04
C22:3n-3	0,00	0,00	0,00
C22:4n-6	0,13	0,14	0,13
C24:1n-9	0,07	0,08	0,05
C22:5n-3	0,18	0,20	0,19
C22:6n-3	0,35	0,38	0,38

/ – v laboratoriju nismo/niso razpolagali s standardom za identifikacijo te maščobne kisline

¹ – vrednosti so povprečje dveh injiciranj

² – vrednosti so povprečje petih injiciranj

^Ω – rezultat zajema vse pozicijske in geometrijske izomere (razen C18:1n-7c), saj imajo pri uporabljenih pogojih ločevanja enak retencijski čas

^Δ – rezultat zajema tudi pozicijsko izomero C20:1n-12, saj imata maščobni kislini pri uporabljenih pogojih ločevanja enak retencijski čas

Priloga B8: Primerjava maščobno-kislinske sestave (ut. %) v skupnih lipidih krvne plazme, izmerjena v našem laboratoriju in kemijskem laboratoriju Katedre za prehrano, Rodica

Appendix B8: Comparison of fatty acid composition (wt. %) of total blood plasma lipids measured on the same samples in our laboratory and chemical laboratory of the Chair for Nutrition, Rodica

laboratorij	Laboratorij centra za nutricionistiko Ljubljana	Kemijski laboratorij Inštituta za prehrano Rodica
metoda	GC/FID	GC/FID
kolona	Omegawax 320	Omegawax 320
metoda ekstrakcije	mod. Kolarovic in Fournier (Kolarovic in Fournier, 1986)	Park in Goins (Park in Goins, 1994)
kromatografska metoda	PLL (Lauritzen in sod., 2002)	HMF (Fidler, 1997)
maščobna kislina	ut. (%)	ut. (%)
C10:0	3,90	6,59
C11:0	0,02	0,01
C12:0	0,19	0,21
C13:0	0,00	0,00
C14:0	1,07	1,12
C14:1n-5	0,03	0,03
C15:0	0,00	0,15
C15:1n-5	0,00	0,00
C16:0	19,91	19,61
C16:1n-7	2,24	2,22
C17:0	0,21	0,20
C17:1n-7	0,00	0,00
C18:0	5,47	5,45
C18:1n-9 (c+t)	26,67	25,37
C18:1n-7	2,29	2,28
C18:2n-6 (c+t)	23,69	23,03
C18:3n-6	0,13	0,12
C18:3n-3	1,59	1,54
C18:4n-3	0,00	0,16
C20:0	0,22	0,17
C20:1n-9	1,65	1,28
C20:2n-6	0,23	0,17
C20:3n-6	0,43	0,44
C21:0	0,00	0,00
C20:4n-6	1,23	1,28
C20:3n-3	0,04	0,00
C20:5n-3	1,89	1,79
C22:0	0,22	0,12
C22:1n-11	0,00	0,00
C22:1n-9	0,13	0,11
C22:2n-6	0,01	0,00
C23:0	0,07	0,00
C22:4n-6	0,05	0,00
C22:5n-3	0,77	0,81
C24:0	0,17	0,09
C22:6n-3	5,17	5,51
C24:1n-9	0,32	0,12

Priloga C1: Maščobno-kislinska sestava zrelega humanega mleka mater s hipogalaktijo
Appendix C1: Fatty acid composition of mature human milk mothers with hypogalactia

Zrelo humano mleko A : B			ut. %		mg/100g humanega mleka	
	prehrana	n	\bar{X}	SO	\bar{X}	SO
NMK						
C12:0	A	16	5,73	2,21	205,85	108,98
	B	15	5,56	1,49	221,38	102,94
C13:0	A	16	n. i.		n. i.	
	B	15	n. i.		n. i.	
C14:0	A	16	6,05	1,99	220,53	114,41
	B	15	6,51	1,54	262,73	126,09
C15:0 a-iso	A	16	0,09	0,04	3,26	1,74
	B	15	0,09	0,06	3,57	2,16
C [?] 16:0 iso/C15:0 iso	A	16	0,06	0,02	2,26	1,20
	B	15	0,07	0,04	2,53	1,50
C15:0	A	16	0,34	0,09	11,86	5,51
	B	15	0,34	0,14	13,10	6,70
C16:0	A	16	21,38	2,07	768,39	330,10
	B	15	21,62	2,76	856,26	351,27
C17:0	A	16	0,31	0,04	10,96	4,35
	B	15	0,31	0,07	12,02	4,46
C18:0	A	16	6,45	1,22	233,52	109,96
	B	15	6,06	1,10	241,41	102,43
C20:0	A	16	0,20	0,05	7,22	3,64
	B	15	0,19	0,05	7,63	3,43
C21:0	A	16	0,01	0,01	0,18	0,14
	B	15	0,01	0,01	0,15	0,17
C22:0	A	16	0,09	0,02	3,23	1,75
	B	15	0,09	0,03	3,79	2,02
C23:0	A	16	0,01	0,01	0,20	0,22
	B	15	0,01	0,00	0,28	0,23
C24:0	A	16	0,07	0,02	2,61	1,24
	B	15	0,09	0,03	3,43	1,88
ENMK						
C12:1n-1	A	16	0,02	0,01	0,66	0,38
	B	15	0,02	0,01	0,67	0,29
C14:1n-5	A	16	0,24	0,09	8,83	5,32
	B	15	0,24	0,10	9,11	4,45
C15:1n-5	A	16	n. i.		n. i.	
	B	15	n. i.		n. i.	
C16:1n-7	A	16	2,67	1,13	96,20	64,61
	B	15	2,65	1,02	101,36	50,75
C17:1n-7	A	16	n. i.		n. i.	
	B	15	n. i.		n. i.	
C18:1n-9 (c+t)	A	16	32,76	2,86	1163,10	479,88
	B	15	32,12	3,47	1280,20	556,09
C18:1n-7	A	16	2,57	0,37	91,54	39,40
	B	15	2,54	0,45	98,82	38,57

„se nadaljuje“

Nadaljevanje priloge C1: Maščobno-kislinska sestava zrelega humanega mleka mater s hipogalaktijo
Continuation of Appendix C1: Fatty acid composition of mature human milk mothers with hypogalactia

Zrelo humano mleko A:B			ut. %		mg/100g humanega mleka	
	prehrana	n	\bar{X}	SO	\bar{X}	SO
C20:1n-15, n-12	A	16	0,07	0,01	2,53	1,00
	B	15	0,07	0,03	2,75	1,05
C20:1n-9	A	16	0,44	0,08	15,38	6,27
	B	15	0,44	0,09	17,53	8,11
C22:1n-11	A	16	0,01	0,01	0,21	0,31
	B	15	0,01	0,01	0,31	0,77
C22:1n-9	A	16	0,09	0,03	3,06	1,27
	B	15	0,09	0,03	3,50	1,69
C24:1n-9	A	16	0,07	0,03	2,44	1,23
	B	15	0,08	0,03	3,04	1,61
VNMK						
družina ω -6						
C18:2n-6 (c+t)	A	16	16,27	4,37	574,33	282,92
	B	15	16,66	3,31	673,48	327,23
C18:3n-6	A	16	0,15	0,06	5,00	2,47
	B	15	0,15	0,05	5,82	2,72
C20:2n-6	A	16	0,43	0,11	15,02	6,63
	B	15	0,49	0,20	19,84	11,86
C20:3n-6	A	16	0,46	0,11	16,06	6,86
	B	15	0,57	0,14	22,48	9,72
C20:4n-6	A	16	0,58	0,14	20,01	8,52
	B	15	0,62	0,11	23,96	8,85
C22:2n-6	A	16	0,05	0,02	1,92	0,92
	B	15	0,07	0,04	2,56	1,83
C22:4n-6	A	16	0,15	0,04	5,12	2,51
	B	15	0,16	0,04	6,40	2,78
VNMK						
družina ω -3						
C18:3n-3	A	16	1,12	0,29	40,41	21,25
	B	15	1,11	0,28	44,69	24,68
C20:3n-3	A	16	0,05	0,01	1,74	0,83
	B	15	0,06	0,02	2,25	1,11
C20:5n-3	A	16	0,08	0,03	2,57	1,35
	B	15	0,09	0,03	3,68	1,89
C22:3n-3	A	16	n. i.	0,00	n. i.	
	B	15	0,00	0,00	0,02	0,05
C22:5n-3	A	16	0,19	0,05	6,52	3,02
	B	15	0,22	0,04	8,95	4,22
C22:6n-3	A	16	0,25	0,07	8,82	4,20
	B	15	0,28	0,09	11,22	6,17
nerazvrščena maščobna kislina						
³ C18:2n-7/C18:4n-3	A	16	0,30	0,07	10,59	5,04
	B	15	0,32	0,09	12,27	5,36

„se nadaljuje“

Nadaljevanje priloge C1: Maščobno-kislinska sestava zrelega humanega mleka mater s hipogalaktijo
Continuation of Appendix C1: Fatty acid composition of mature human milk mothers with hypogalactia

Zrelo humano mleko A:B			ut. %		mg/100g humanega mleka	
	prehrana	n	\bar{X}	SO	\bar{X}	SO
vsote in razmerja maščobnih kislin						
NMK	A	16	41,00	6,23	1479,54	652,01
	B	15	40,94	3,65	1628,28	652,18
ENMK	A	16	38,93	3,70	1383,96	577,13
	B	15	38,25	4,46	1517,31	645,96
VNMK	A	16	20,07	4,66	708,11	333,33
	B	15	20,81	3,54	837,63	390,83
VNMK/NMK	A	16	0,51	0,19	0,51	0,19
	B	15	0,51	0,10	0,51	0,10
ω -3	A	16	1,98	0,30	70,65	32,22
	B	15	2,09	0,30	83,09	38,58
ω -6	A	16	18,09	4,51	637,46	304,27
	B	15	18,72	3,63	754,55	359,41
vsota (ω -3) + (ω -6)	A	16	20,07	4,66	708,11	333,33
	B	15	20,81	3,54	837,63	390,83
ω -6/ ω -3	A	16	9,18	1,96	9,18	1,96
	B	15	9,24	2,79	9,24	2,79
ω -3 LCP	A	16	0,56	0,14	19,65	8,91
	B	15	0,66	0,12	26,12	11,80
ω -6 LCP	A	16	1,67	0,34	58,12	23,78
	B	15	1,91	0,43	75,24	32,00
vsota (ω -3)+(ω -6) LCP	A	16	2,23	0,44	77,77	32,04
	B	15	2,57	0,44	101,36	41,13
ω -6/ ω -3 LCP	A	16	3,02	0,54	3,02	0,54
	B	15	2,98	0,87	2,98	0,87
C18:2n-6/C18:3n-3	A	16	15,08	3,81	15,08	3,81
	B	15	15,86	5,13	15,86	5,13

[?] – natančna identifikacija ni bila možna (glej poglavje 4.1.8)

n. i. – za nekatere maščobne kisline v kromatogramu nismo našli pikov pri danih pogojih

Priloga C2: Maščobno-kislinska sestava lipidov zrelega humanega mleka

Appendix C2: Fatty acid composition of mature human milk

zrelo humano mleko AB : C			ut. %			mg/100g humanega mleka	
	skupina	n	\bar{X}	SO	p	\bar{X}	SO
NMK							
C12:0	AB	31	5,65	1,86		213,36	104,62
	C	41	5,65	1,78		191,73	94,66
C13:0	AB	31	n. i.			n. i.	
	C	41	n. i.			n. i.	
C14:0	AB	31	6,27	1,77		240,95	120,10
	C	41	6,18	2,06		210,78	111,39
C15:0 a-iso	AB	31	0,06	0,03		2,39	1,34
	C	41	0,07	0,03		2,20	1,40
³ C16:0 iso/C15:0 iso	AB	31	0,09	0,05		3,41	1,93
	C	41	0,09	0,04		3,07	1,99
C15:0	AB	31	0,34	0,11		12,46	6,04
	C	41	0,33	0,11		11,10	5,49
C16:0	AB	31	21,50	2,39		810,90	337,72
	C	41	21,36	2,35		720,94	256,33
C17:0	AB	31	0,31	0,06		11,47	4,36
	C	41	0,32	0,07		10,49	4,08
C18:0	AB	31	6,26	1,16		237,34	104,68
	C	41	6,58	1,20		219,75	84,25
C20:0	AB	31	0,19	0,05		7,42	3,49
	C	41	0,20	0,05		6,60	2,49
C21:0	AB	31	0,01	0,01		0,16	0,15
	C	41	0,01	0,01		0,14	0,15
C22:0	AB	31	0,09	0,03		3,50	1,87
	C	41	0,09	0,02		3,00	1,07
C23:0	AB	31	0,01	0,00		0,24	0,22
	C	41	0,01	0,01		0,16	0,20
C24:0	AB	31	0,08	0,03		3,01	1,61
	C	41	0,08	0,02		2,42	0,86
ENMK							
C12:1n-1	AB	31	0,02	0,01		0,67	0,33
	C	41	0,02	0,01		0,58	0,36
C14:1n-5	AB	31	0,24	0,10		8,97	4,84
	C	41	0,23	0,09		7,76	4,36
C15:1n-5	AB	31	n. i.			n. i.	
	C	41	n. i.			n. i.	
C16:1n-7	AB	31	2,66	1,06		98,70	57,41
	C	41	2,50	0,62		84,42	34,96
C17:1n-7	AB	31	n. i.			n. i.	
	C	41	n. i.			n. i.	
C18:1n-9 (c+t)	AB	31	32,45	3,13		1219,76	512,83
	C	41	33,11	3,61		1106,46	364,73
C18:1n-7	AB	31	2,55	0,40		95,06	38,53
	C	41	2,70	0,44		89,62	31,12

„se nadaljuje“

Nadaljevanje priloge C2: Maščobno-kislinska sestava lipidov zrelega humanega mleka

Continuation of Appendix C2: Fatty acid composition of mature human milk

zrelo humano mleko AB : C		ut. %			mg/100g humanega mleka		
	skupina	n	\bar{X}	SO	p	\bar{X}	SO
C20:1n-15, n-12	AB	31	0,07	0,02		2,63	1,01
	C	41	0,08	0,05		2,41	1,38
C20:1n-9	AB	31	0,44	0,08		16,42	7,18
	C	41	0,45	0,14		14,48	5,66
C22:1n-11	AB	31	0,01	0,01		0,26	0,57
	C	41	0,03	0,13		0,79	2,68
C22:1n-9	AB	31	0,09	0,03		3,27	1,48
	C	41	0,08	0,03		2,70	0,91
C24:1n-9	AB	31	0,08	0,03		2,73	1,43
	C	41	0,06	0,02		2,01	0,69
VNMK							
družina ω -6							
C18:2n-6 (c+t)	AB	31	16,45	3,83		622,31	304,18
	C	41	16,15	3,38		536,93	203,61
C18:3n-6	AB	31	0,15	0,06		5,40	2,59
	C	41	0,14	0,05		4,84	2,80
C20:2n-6	AB	31	0,46	0,16		17,35	9,68
	C	41	0,38	0,08	0,009	12,56	4,36
C20:3n-6*	AB	31	0,51	0,14		19,17	8,85
	C	41	0,39	0,08	0,000	13,06	4,70
C20:4n-6*	AB	31	0,60	0,13		21,92	8,77
	C	41	0,50	0,10	0,000	16,33	5,27
C22:2n-6	AB	31	0,06	0,03		2,23	1,45
	C	41	0,04	0,02	0,002	1,37	0,63
C22:4n-6	AB	31	0,15	0,04		5,74	2,68
	C	41	0,13	0,03	0,002	4,13	1,33
VNMK							
družina ω -3							
C18:3n-3	AB	31	1,11	0,28		42,48	22,69
	C	41	1,15	0,33		37,85	15,28
C20:3n-3	AB	31	0,05	0,02		1,98	0,99
	C	41	0,05	0,01		1,58	0,65
C20:5n-3	AB	31	0,08	0,03		3,11	1,70
	C	41	0,09	0,05		2,97	1,33
C22:3n-3	AB	31	0,00	0,00		0,01	0,04
	C	41	0,00	0,00		0,00	0,00
C22:5n-3	AB	31	0,20	0,05		7,70	3,79
	C	41	0,20	0,06		6,40	2,35
C22:6n-3	AB	31	0,27	0,08		9,98	5,30
	C	41	0,26	0,21		8,10	4,30
nerazvrščena maščobna kislina							
[?] C18:2n-7/C18:4n-3	AB	31	0,31	0,08		11,41	5,18
	C	41	0,32	0,08		10,60	4,40

„se nadaljuje“

Nadaljevanje priloge C2: Maščobno-kislinska sestava lipidov zrelega humanega mleka
Continuation of Appendix C2: Fatty acid composition of mature human milk

zrelo humano mleko AB : C			ut. %			mg/100g humanega mleka	
	skupina	n	\bar{X}	SO	p	\bar{X}	SO
vsote in razmerja maščobnih kislin							
NMK	AB	31	40,97	5,06		1551,51	645,57
	C	41	40,94	4,92		1382,39	508,74
ENMK	AB	31	38,60	4,03		1448,48	604,86
	C	41	39,25	3,91		1311,24	427,07
VNMK	AB	31	20,42	4,10		770,78	362,17
	C	41	19,80	3,48		656,71	231,74
VNMK/NMK	AB	31	0,51	0,15		0,51	0,15
	C	41	0,50	0,13		0,50	0,13
$\sum \omega-3$	AB	31	2,03	0,30		76,67	35,41
	C	41	2,07	0,54		67,49	22,01
$\sum \omega-6$	AB	31	18,39	4,05		694,11	331,83
	C	41	17,74	3,46		589,23	216,90
$\sum \omega-3 + \sum \omega-6$	AB	31	20,42	4,10		770,78	362,17
	C	41	19,80	3,48		656,71	231,74
$\sum \omega-6 / \sum \omega-3$	AB	31	9,21	2,36		9,21	2,36
	C	41	9,06	2,89		9,06	2,89
$\sum \omega-3$ LCP	AB	31	0,61	0,14		22,78	10,75
	C	41	0,60	0,30		19,04	7,31
$\sum \omega-6$ LCP*	AB	31	1,79	0,40		66,41	28,92
	C	41	1,44	0,22	0,000	47,45	14,51
$\sum \omega-6 / \sum \omega-3$ LCP	AB	31	3,00	0,71		3,00	0,71
	C	41	2,66	0,68	0,040	2,66	0,68
C18:2n-6/C18:3n-3	AB	31	15,45	4,44		15,45	4,44
	C	41	15,21	5,61		15,21	5,61

? – natančna identifikacija ni bila možna (glej poglavje 4.1.8)

n. i. – za nekatere maščobne kisline v kromatogramu nismo našli pikov pri danih pogojih

* – vrednosti primerjanih skupin se med sabo statistično značilno razlikujejo (t-test z Bonferronijevo korekcijo, $P < (0,05/\text{številom istovrstnih testiranj})$ oz. $P < 0,001$)

Priloga C3: Maščobno-kislinska sestava začetnih formul
Appendix C3: Fatty acid composition of study infant formulas

trgovsko ime oznaka uporabljena pri randomizaciji n	Aptamil 1 z Milupanom F-LCP 2		Aptamil 1 F 2	
	ut. %		ut. %	
	\bar{X}	RSD	\bar{X}	RSD
NMK				
C12:0	7,97	14,9	6,14	12,4
C13:0	0,07	18,1	0,04	117,4
C14:0	6,73	6,9	3,20	8,6
C15:0 iso	0,10	4,7	n. i.	/
C15:0 a-iso	0,16	3,2	0,01	2,4
C15:0	0,41	3,8	0,06	2,5
C16:0 iso	0,09	0,9	n. i.	/
C16:0	27,32	0,5	28,95	3,2
C17:0 iso	0,17	2,8	0,01	0,4
C17:0 a-iso	0,17	2,3	0,02	1,1
C17:0	0,29	2,0	0,10	10,3
C18:0	6,09	4,4	3,93	1,0
C20:0	0,25	8,8	0,36	1,8
C22:0	0,15	11,9	0,21	9,0
C23:0	0,01	2,2	0,01	9,6
C24:0	n. i.		0,10	0,4
ENMK				
C12:1n-1	0,06	12,7	n. i.	/
C13:1n-1	0,04	8,3	n. i.	/
C14:1n-5	0,40	12,0	0,02	12,6
C15:1n-5	n. i.	/	n. i.	/
C16:1n-7	1,21	3,7	0,19	3,1
C17:1n-7	0,18	2,9	0,06	4,4
C18:1n-9 c+t, C18:1n-12t, C18:1n-7c	33,03	4,6	38,59	0,3
C19:1n-9	0,04	14,6	n. i.	/
C20:1n-15, C20:1n-12, C20:1n-9	0,36	12,7	0,35	1,1
C22:1n-9	0,10	67,0	0,11	29,8
C24:1n-9	0,04	9,3	0,05	19,5
VNMK				
družina ω -6				
C18:2n-6	11,39	0,6	15,77	2,2
C18:2n-?	0,07	0,0	n. i.	/
C18:3n-6	0,23	1,3	n. i.	/
C20:2n-6	0,06	4,7	0,01	200,0
C20:3n-6	0,06	3,8	n. i.	/
C20:4n-6	0,43	8,6	n. i.	/
C22:2n-6	0,02	24,2	n. i.	/
C22:4n-6	0,03	45,4	n. i.	/

„se nadaljuje“

Nadaljevanje priloge C3: Maščobno-kislinska sestava začetnih formul
 Continuation of Appendix C3: Fatty acid composition of study infant formulas

trgovsko ime oznaka uporabljena pri randomizaciji n	Aptamil 1 z Milupanom F-LCP 2		Aptamil 1 F 2	
	\bar{X}	RSD	\bar{X}	RSD
VNМК				
družina ω -3				
C18:3n-3	1,69	2,3	1,67	3,3
C18:4n-3	n. i.	/	n. i.	/
C20:3n-3	0,02	38,4	n. i.	/
C20:5n-3	0,02	6,7	n. i.	/
C22:3n-3	n. i.	/	n. i.	/
C22:5n-3	0,06	4,9	n. i.	/
C22:6n-3	0,33	7,1	n. i.	/
C18:2n-7	0,17	14,7	0,03	14,4
vsote in razmerja maščobnih kislin				
ω -3 LCP	0,44		0,00	
ω -6 LCP	0,59		0,01	
$\Sigma(\omega$ -3) + (ω -6) LCP	1,03		0,01	
ω -6/ ω -3 LCP	1,4		/	
C18:2n-6/C18:3n-3	6,8		9,4	

n. i. – za nekatere maščobne kisline v kromatogramu nismo našli pikov pri danih pogojih
 ? – neidentificirana geometrijska izomera

Priloga C4: Maščobno-kislinska sestava (ut. %) plazemskih fosfolipidov, trigliceridov in estrov holesterola ob vključitvi v raziskavo

Appendix C4: Fatty acid composition (wt. %) of plasma phospholipids, triglycerides and cholesterol esters at study start

I. dan		PL			TG			CE		
		ut. %			ut. %			ut. %		
	skupina	n	\bar{X}	SO	n	\bar{X}	SO	n	\bar{X}	SO
NMK										
C12:0	AB	31	0,07	0,02	31	1,32	0,78	16	1,25	0,85
	C	40	0,09	0,02	41	1,48	0,64	40	0,90	0,23
C13:0	AB	31	n. i.		31	n. i.		16	n. i.	
	C	40	n. i.		41	n. i.		40	0,01	0,01
C14:0	AB	31	0,28	0,07 *	31	2,84	1,14	16	1,24	0,41
	C	40	0,41	0,07	41	3,18	1,07	40	1,03	0,26
C16:0	AB	31	22,93	1,48 *	31	24,48	2,59	16	18,70	1,67 *
	C	40	24,33	1,60	41	24,99	2,21	40	15,56	1,30
C17:0	AB	31	0,38	0,07 *	31	0,31	0,07	16	0,16	0,03
	C	40	0,45	0,05	41	0,34	0,06	40	0,16	0,04
C18:0	AB	31	16,91	1,78 *	31	4,96	0,85	16	1,88	0,56
	C	40	19,57	0,97	41	5,25	0,78	40	2,12	0,47
C20:0	AB	31	0,69	0,10 *	31	0,11	0,04	16	0,02	0,01
	C	40	0,77	0,08	41	0,11	0,03	40	0,02	0,01
C21:0	AB	31	0,03	0,02 *	31	n. i.		16	n. i.	
	C	40	0,05	0,02	41	n. i.		40	n. i.	
C22:0	AB	31	1,48	0,21	31	0,06	0,03 *	16	0,02	0,02
	C	40	1,39	0,17	41	0,04	0,01	40	0,01	0,01
C23:0	AB	31	0,49	0,12	31	0,01	0,01	16	n. i.	
	C	40	0,49	0,09	41	0,01	0,03	40	n. i.	
C24:0	AB	31	1,54	0,23 *	31	0,04	0,02	16	0,01	0,01
	C	40	1,16	0,18	41	0,03	0,01	40	0,01	0,01
ENMK										
C14:1n-5	AB	31	n. i.		31	0,09	0,04	16	0,06	0,07
	C	40	0,02	0,01	41	0,12	0,04	40	0,05	0,03
C15:1n-5	AB	31	n. i.		31	n. i.		16	n. i.	
	C	40	n. i.		41	n. i.		40	n. i.	
C16:1n-7	AB	31	0,32	0,09	31	2,70	0,90	16	2,81	1,07
	C	40	0,32	0,07	41	2,62	0,53	40	2,34	0,49
C17:1n-7	AB	31	0,01	0,02	31	n. i.		16	n. i.	
	C	40	n. i.		41	n. i.		40	n. i.	
C18:1n-9 (c+t)	AB	31	7,82	1,12	31	35,12	3,22	16	21,78	3,46
	C	40	7,33	0,85	41	34,50	2,52	40	21,96	3,12
C18:1n-7	AB	31	1,96	0,26	31	2,82	0,41	16	1,84	0,26
	C	40	1,87	0,22	41	3,03	0,36	40	1,92	0,24
C20:1n-9	AB	31	0,19	0,03	31	0,37	0,06	16	0,03	0,02
	C	40	0,18	0,03	41	0,39	0,08	40	0,04	0,01

“se nadaljuje”

Nadaljevanje priloge C4: Maščobno-kislinska sestava (ut. %) plazemskih fosfolipidov, trigliceridov in estrov holesterola ob vključitvi v raziskavo

Continuation of Appendix C4: Fatty acid composition (wt. %) of plasma phospholipids, triglycerides and cholesterolesters at study start

1. dan		PL				TG			CE		
		ut. %				ut. %			ut. %		
	skupina	n	\bar{X}	SO		n	\bar{X}	SO	n	\bar{X}	SO
C22:1n-11	AB	31	n. i.			31	0,01	0,01	16	n. i.	
	C	40	n. i.			41	0,01	0,05	40	n. i.	
C22:1n-9	AB	31	0,21	0,07	*	31	0,07	0,02	16	0,02	0,01
	C	40	0,16	0,04		41	0,06	0,02	40	0,03	0,01
C24:1n-9	AB	31	3,33	0,45	*	31	0,05	0,02	16	0,04	0,02
	C	40	2,76	0,42		41	0,05	0,02	40	0,03	0,01
VNMK											
družina ω -6											
C18:2n-6 (c+t)	AB	31	17,51	2,41		31	18,54	4,56	16	39,54	5,62
	C	40	17,73	1,98		41	18,58	3,46	40	42,69	4,11
C18:3n-6	AB	31	0,04	0,01		31	0,25	0,06	16	0,39	0,11
	C	40	0,04	0,02		41	0,19	0,05	40	0,36	0,10
C20:2n-6	AB	31	0,56	0,11	*	31	0,45	0,20	16	0,06	0,03
	C	40	0,44	0,07		41	0,38	0,08	40	0,07	0,02
C20:3n-6	AB	31	2,80	0,63		31	0,58	0,14	16	0,65	0,25
	C	40	2,76	0,45		41	0,44	0,09	40	0,72	0,18
C20:4n-6	AB	31	13,72	1,42	*	31	2,08	0,35	16	8,37	3,17
	C	40	11,89	1,55		41	1,65	0,47	40	8,47	2,03
C22:2n-6	AB	31	0,06	0,02		31	0,04	0,02	16	0,01	0,01
	C	40	0,06	0,02		41	0,03	0,02	40	0,01	0,01
C22:4n-6	AB	31	0,51	0,13		31	0,28	0,06	16	0,04	0,02
	C	40	0,47	0,08		41	0,22	0,07	40	0,03	0,01
VNMK											
družina ω -3											
C18:3n-3	AB	31	0,10	0,03	*	31	0,87	0,29	16	0,28	0,12
	C	40	0,07	0,02		41	0,90	0,26	40	0,34	0,08
C18:4n-3	AB	31	n. i.			31	n. i.		16	n. i.	
	C	40	n. i.			41	n. i.		40	n. i.	
C20:3n-3	AB	31	0,02	0,01		31	0,04	0,02	16	n. i.	
	C	40	0,01	0,01		41	0,06	0,02	40	n. i.	
C20:5n-3	AB	31	0,28	0,10		31	0,28	0,06	16	0,23	0,11
	C	40	0,31	0,09		41	0,33	0,07	40	0,38	0,12
C22:5n-3	AB	31	0,84	0,25		31	0,35	0,11	16	0,05	0,02
	C	40	0,74	0,20		41	0,28	0,09	40	0,03	0,01
C22:6n-3	AB	31	4,92	0,91	*	31	0,90	0,33	16	0,52	0,25
	C	40	4,12	0,63		41	0,73	0,32	40	0,72	0,21
vsote in razmerja maščobnih kislin											
NMK	AB	31	44,80	1,79	*	31	34,12	2,87	16	23,28	2,15
	C	40	48,71	1,33		41	35,42	2,78	40	19,83	1,67
ENMK	AB	31	13,85	1,40	*	31	41,21	3,76	16	26,59	4,33
	C	40	12,64	1,14		41	40,80	2,98	40	26,36	3,44
VNMK	AB	31	41,36	1,86	*	31	24,66	5,12	16	50,14	5,30
	C	40	38,65	1,41		41	23,78	3,58	40	53,81	4,21

“se nadaljuje”

Nadaljevanje priloge C4: Maščobno-kislinska sestava (ut. %) plazemskih fosfolipidov, trigliceridov in estrov holesterola ob vključitvi v raziskavo

Continuation of Appendix C4: Fatty acid composition (wt. %) of plasma phospholipids, triglycerides and cholesterolesters at study start

1. dan		PL				TG			CE			
		ut. %				ut. %			ut. %			
	skupina	n	\bar{X}	SO	*	n	\bar{X}	SO	n	\bar{X}	SO	*
VNMK/NMK	AB	31	0,93	0,07	*	31	0,74	0,20	16	2,18	0,38	*
	C	40	0,79	0,04		41	0,68	0,14	40	2,74	0,37	
$\sum \omega-3$	AB	31	6,16	1,03	*	31	2,44	0,52	16	1,08	0,31	*
	C	40	5,26	0,70		41	2,30	0,58	40	1,47	0,34	
$\sum \omega-6$	AB	31	35,20	1,72	*	31	22,22	4,95	16	49,06	5,20	
	C	40	33,39	1,41		41	21,48	3,61	40	52,34	4,17	
$\sum (\omega-3) + (\omega-6)$	AB	31	41,36	1,86	*	31	24,66	5,12	16	50,14	5,30	
	C	40	38,65	1,41		41	23,78	3,58	40	53,81	4,21	
$\sum \omega-6/$ $\sum \omega-3$	AB	31	5,87	1,05		31	9,35	2,36	16	49,89	19,52	
	C	40	6,48	1,01		41	9,87	2,93	40	37,70	10,18	
$\sum \omega-3$ LCP	AB	31	6,06	1,03	*	31	1,57	0,41	16	0,80	0,33	
	C	40	5,18	0,70		41	1,41	0,45	40	1,13	0,32	
$\sum \omega-6$ LCP	AB	31	17,65	1,66	*	31	3,44	0,58	16	9,13	3,38	
	C	40	15,62	1,70		41	2,71	0,59	40	9,29	2,16	
$\sum \omega-6/$ $\sum \omega-3$ LCP	AB	31	2,98	0,52		31	2,29	0,55	16	11,39	3,71	
	C	40	3,05	0,42		41	2,02	0,45	40	8,47	1,73	
C18:2 n-6/C18:3 n-3	AB	31	194,22	48,86	*	31	22,93	7,02	16	159,49	51,05	
	C	40	260,99	82,85		41	22,62	9,64	40	135,28	39,36	

n. i. – za nekatere maščobne kisline v kromatogramu nismo našli pikov pri danih pogojih

* – vrednosti primerjanih skupin se med sabo statistično značilno razlikujejo (t-test z Bonferronijevo korekcijo, $P < (0,05/(\text{število istovrstnih testiranj} \times 3))$ oz. $P < 0,00037$)

Priloga C5: Koncentracija maščobnih kislin (mg/100g vzorca) plazemskih fosfolipidov, trigliceridov in estrov holesterola ob vključitvi v raziskavo

Appendix C5: Fatty acid concentration (mg/100g sample) of plasma phospholipids, triglycerides and cholesterolesters at study start

1. dan		PL			TG			CE		
		mg/100g vzorca			mg/100g vzorca			mg/100g vzorca		
	skupina	n	\bar{X}	SO	n	\bar{X}	SO	n	\bar{X}	SO
NMK										
C12:0	AB	31	0,10	0,02	31	1,09	0,82	16	0,63	0,09
	C	40	0,11	0,02	41	1,17	0,69	40	0,59	0,07
C13:0	AB	31	n. i.		31	n. i.		16	n. i.	
	C	40	n. i.		41	n. i.		40	0,01	0,01
C14:0	AB	31	0,41	0,13	31	2,33	1,29	16	0,69	0,20
	C	40	0,50	0,10	41	2,47	1,23	40	0,70	0,21
C16:0	AB	31	33,51	6,95	31	19,43	5,00	16	11,15	3,56
	C	40	29,78	3,84	41	18,84	6,66	40	10,68	2,22
C17:0	AB	31	0,55	0,16	31	0,25	0,08	16	0,09	0,04
	C	40	0,56	0,11	41	0,25	0,09	40	0,11	0,04
C18:0	AB	31	24,68	5,21	31	3,98	1,27	16	1,17	0,62
	C	40	24,05	3,56	41	4,01	1,69	40	1,47	0,52
C20:0	AB	31	1,00	0,23	31	0,09	0,05	16	0,01	0,01
	C	40	0,96	0,19	41	0,08	0,05	40	0,01	0,01
C21:0	AB	31	0,04	0,03	31	n. i.		16	n. i.	
	C	40	0,06	0,02	41	n. i.		40	n. i.	
C22:0	AB	31	2,16	0,51	31	0,05	0,03	16	0,01	0,01
	C	40	1,72	0,35	41	0,01	0,03	40	0,01	0,01
C23:0	AB	31	0,72	0,23	31	0,01	0,01	16	n. i.	
	C	40	0,60	0,14	41	0,00	0,02	40	n. i.	
C24:0	AB	31	2,25	0,58	31	0,03	0,02	16	0,01	0,01
	C	40	1,43	0,31	41	n. i.		40	0,01	0,00
ENMK										
C14:1n-5	AB	31	n. i.		31	0,07	0,04	16	0,03	0,04
	C	40	0,02	0,01	41	0,09	0,05	40	0,03	0,02
C15:1n-5	AB	31	n. i.		31	n. i.		16	n. i.	
	C	40	n. i.		41	n. i.		40	n. i.	
C16:1n-7	AB	31	0,47	0,18	31	2,11	0,82	16	1,69	0,91
	C	40	0,40	0,10	41	1,94	0,67	40	1,60	0,46
C17:1n-7	AB	31	0,01	0,02	31	n. i.		16	n. i.	
	C	40	n. i.		41	n. i.		40	n. i.	
C18:1n-9 (c+t)	AB	31	11,42	2,73	31	27,93	7,42	16	13,20	5,34
	C	40	9,00	1,67	41	26,07	9,49	40	15,18	4,24
C18:1n-7	AB	31	2,85	0,59	31	2,25	0,67	16	1,11	0,43
	C	40	2,30	0,44	41	2,28	0,78	40	1,32	0,31
C20:1n-9	AB	31	0,27	0,06	31	0,30	0,10	16	0,02	0,01
	C	40	0,23	0,05	41	0,30	0,13	40	0,03	0,01
C22:1n-11	AB	31	n. i.		31	0,00	0,00	16	n. i.	
	C	40	n. i.		41	0,00	0,03	40	n. i.	

“se nadaljuje”

Nadaljevanje priloge C5: Koncentracija maščobnih kislin (mg/100g vzorca) plazemskih fosfolipidov, trigliceridov in estrov holesterola ob vključitvi v raziskavo

Continuation of Appendix C5: Fatty acid concentration (mg/100g sample) of plasma phospholipids, triglycerides and cholesterolesters at study start

1. dan		PL			TG			CE		
		mg/100g vzorca			mg/100g vzorca			mg/100g vzorca		
	skupina	n	\bar{X}	SO	n	\bar{X}	SO	n	\bar{X}	SO
C22:1n-9	AB	31	0,30	0,08	31	0,06	0,02	16	0,01	0,01
	C	40	0,19	0,05	41	0,04	0,05	40	0,02	0,01
C24:1n-9	AB	31	4,83	0,98	31	0,04	0,02	16	0,02	0,02
	C	40	3,41	0,72	41	0,01	0,03	40	0,02	0,01
VNМК										
družina ω -6										
C18:2n-6 (c+t)	AB	31	25,62	5,76	31	15,16	6,30	16	23,72	7,70
	C	40	21,83	4,15	41	14,14	5,85	40	29,54	7,22
C18:3n-6	AB	31	0,06	0,02	31	0,20	0,09	16	0,23	0,09
	C	40	0,05	0,03	41	0,14	0,07	40	0,25	0,08
C20:2n-6	AB	31	0,81	0,22	31	0,38	0,22	16	0,04	0,02
	C	40	0,54	0,12	41	0,29	0,15	40	0,05	0,02
C20:3n-6	AB	31	4,04	1,07	31	0,47	0,17	16	0,38	0,18
	C	40	3,41	0,84	41	0,33	0,12	40	0,50	0,17
C20:4n-6	AB	31	19,98	4,13	31	1,67	0,58	16	5,09	2,73
	C	40	14,67	2,88	41	1,22	0,43	40	5,83	1,84
C22:2n-6	AB	31	0,09	0,03	31	0,03	0,02	16	0,01	0,01
	C	40	0,07	0,03	41	0,00	0,02	40	0,00	0,01
C22:4n-6	AB	31	0,75	0,26	31	0,23	0,09	16	0,02	0,02
	C	40	0,58	0,13	41	0,16	0,09	40	0,02	0,01
VNМК										
družina ω -3										
C18:3n-3	AB	31	0,14	0,04	31	0,71	0,35	16	0,17	0,07
	C	40	0,09	0,02	41	0,68	0,30	40	0,23	0,07
C18:4n-3	AB	31	n. i.		31	n. i.		16	n. i.	
	C	40	n. i.		41	n. i.		40	n. i.	
C20:3n-3	AB	31	0,03	0,01	31	0,03	0,02	16	n. i.	
	C	40	0,02	0,02	41	0,04	0,05	40	n. i.	
C20:5n-3	AB	31	0,41	0,18	31	0,22	0,08	16	0,15	0,11
	C	40	0,38	0,13	41	0,24	0,09	40	0,26	0,11
C22:5n-3	AB	31	1,23	0,45	31	0,28	0,13	16	0,03	0,02
	C	40	0,92	0,31	41	0,20	0,09	40	0,02	0,01
C22:6n-3	AB	31	7,07	1,38	31	0,71	0,29	16	0,32	0,21
	C	40	5,08	1,08	41	0,53	0,26	40	0,50	0,19
vsote in razmerja maščobnih kislin										
NMK	AB	31	65,42	12,55	31	27,26	7,55	16	13,77	4,15
	C	40	59,68	7,63	41	26,49	9,77	40	13,58	2,69
ENMK	AB	31	20,15	4,10	31	32,77	8,65	16	16,08	6,53
	C	40	15,58	2,66	41	30,53	11,08	40	18,13	4,65
VNМК	AB	31	60,21	10,74	31	20,09	7,83	16	30,16	9,88
	C	40	47,58	7,56	41	17,50	6,52	40	36,56	8,87
VNМК/NMK	AB	31	0,93	0,07	31	0,74	0,20	16	2,18	0,38
	C	40	0,79	0,04	41	0,67	0,13	40	2,69	0,40

“se nadaljuje”

Nadaljevanje priloge C5: Koncentracija maščobnih kislin (mg/100g vzorca) plazemskih fosfolipidov, trigliceridov in estrov holesterola ob vključitvi v raziskavo

Continuation of Appendix C5: Fatty acid concentration (mg/100g sample) of plasma phospholipids, triglycerides and cholesterolesters at study start

1. dan		PL			TG			CE		
		mg/100g vzorca			mg/100g vzorca			mg/100g vzorca		
	skupina	n	\bar{X}	SO	n	\bar{X}	SO	n	\bar{X}	SO
$\sum \omega-3$	AB	31	8,86	1,76	31	1,95	0,69	16	0,66	0,34
	C	40	6,59	1,27	41	1,70	0,65	40	1,01	0,34
$\sum \omega-6$	AB	31	51,34	9,61	31	18,14	7,27	16	29,49	9,59
	C	40	40,99	6,67	41	15,80	6,07	40	35,55	8,64
$\sum (\omega-3) + (\omega-6)$	AB	31	60,21	10,74	31	20,09	7,83	16	30,16	9,88
	C	40	47,58	7,56	41	17,50	6,52	40	36,56	8,87
$\sum \omega-6 / \sum \omega-3$	AB	31	5,87	1,05	31	9,35	2,36	16	49,78	19,52
	C	40	6,35	1,02	41	9,69	2,94	40	37,19	10,25
$\sum \omega-3$ LCP	AB	31	8,73	1,76	31	1,25	0,44	16	0,50	0,31
	C	40	6,50	1,26	41	1,04	0,42	40	0,78	0,30
$\sum \omega-6$ LCP	AB	31	25,67	5,10	31	2,78	0,99	16	5,54	2,91
	C	40	19,31	3,52	41	1,99	0,73	40	6,33	2,03
$\sum \omega-6 / \sum \omega-3$ LCP	AB	31	2,98	0,52	31	2,29	0,55	16	11,35	3,72
	C	40	3,01	0,44	41	1,98	0,44	40	8,40	1,76
C18:2 n-6/C18:3 n-3	AB	31	194,22	48,86	31	22,93	7,02	16	159,50	51,06
	C	40	256,49	83,80	41	22,37	9,75	40	133,58	40,30
\sum vseh maščobnih kislin	AB	31	145,78	26,11	31	80,12	22,08	16	60,00	18,84
	C	40	122,94	17,78	41	75,69	26,73	40	69,00	14,94
\sum NMK, ENMK, VNMK	AB	31	145,78	26,11	31	80,12	22,08	16	60,00	18,84
	C	40	122,84	17,15	41	74,53	26,61	40	68,27	14,63

n. i. – za nekatere maščobne kisline v kromatogramu nismo našli pikov pri danih pogojih

Priloga C6: Maščobno-kislinska sestava (ut. %) plazemskih fosfolipidov, trigliceridov in estrov holesterola dojenčkov s FTT po 31-ih dneh dodajanja začetne formule
Appendix C6: Fatty acid composition (wt. %) of plasma phospholipids, triglycerides and cholesterolesters in infants with FTT after 31 days of additional formula milk feeding

31. dan		PL			TG			CE		
		ut. %			ut. %			ut. %		
	skupina	n	\bar{X}	SO	n	\bar{X}	SO	n	\bar{X}	SO
NMK										
C12:0	A	16	0,08	0,02	16	1,98	0,82	8	1,04	0,32
	B	15	0,08	0,02	15	1,71	0,62	8	1,35	0,48
C13:0	A	16	n. i.		16	n. i.		8	n. i.	
	B	15	n. i.		15	n. i.		8	n. i.	
C14:0	A	16	0,31	0,06	16	3,72	1,12	8	1,26	0,39
	B	15	0,30	0,09	15	2,63	0,92	8	1,12	0,43
C16:0	A	16	23,11	1,93	16	26,61	1,95	8	16,38	2,01
	B	15	23,97	1,48	15	25,16	1,95	8	16,07	1,33
C17:0	A	16	0,39	0,05	16	0,36	0,08	8	0,14	0,03
	B	15	0,33	0,08	15	0,23	0,12	8	0,10	0,04
C18:0	A	16	17,36	1,47	16	4,58	0,90	8	1,60	0,51
	B	15	16,73	2,01	15	4,20	1,11	8	1,50	0,43
C20:0	A	16	0,67	0,10	16	0,12	0,04	8	0,02	0,01
	B	15	0,69	0,09	15	0,16	0,06	8	0,02	0,01
C21:0	A	16	0,04	0,02	16	n. i.		8	n. i.	
	B	15	0,03	0,02	15	n. i.		8	n. i.	
C22:0	A	16	1,47	0,21	16	0,06	0,03	8	0,01	0,01
	B	15	1,58	0,18	15	0,09	0,03	8	0,01	0,01
C23:0	A	16	0,71	0,15	16	0,01	0,01	8	n. i.	
	B	15	0,68	0,11	15	0,01	0,01	8	n. i.	
C24:0	A	16	1,44	0,25	16	0,04	0,01	8	n. i.	
	B	15	1,54	0,19	15	0,05	0,02	8	0,01	0,01
ENMK										
C14:1n-5	A	16	n. i.		16	0,15	0,06 *	8	0,06	0,03
	B	15	n. i.		15	0,06	0,04	8	0,06	0,06
C15:1n-5	A	16	n. i.		16	n. i.		8	n. i.	
	B	15	n. i.		15	n. i.		8	n. i.	
C16:1n-7	A	16	0,27	0,05	16	2,13	0,49	8	2,03	0,52
	B	15	0,27	0,05	15	1,72	0,61	8	2,23	0,34
C17:1n-7	A	16	0,00	0,01	16	n. i.		8	n. i.	
	B	15	0,01	0,01	15	n. i.		8	n. i.	
C18:1n-9 (c+t)	A	16	8,35	1,79	16	36,53	3,76	8	20,51	3,19
	B	15	9,70	2,05	15	39,16	4,70	8	25,27	4,04
C18:1n-7	A	16	1,59	0,23	16	2,37	0,35	8	1,48	0,15
	B	15	1,54	0,24	15	2,17	0,53	8	1,33	0,28
C20:1n-9	A	16	0,18	0,05	16	0,35	0,07	8	0,03	0,01
	B	15	0,23	0,05	15	0,40	0,06	8	0,04	0,01
C22:1n-11	A	16	0,01	0,01	16	0,01	0,01	8	n. i.	
	B	15	0,01	0,01	15	0,01	0,02	8	n. i.	

“se nadaljuje”

Nadaljevanje priloge C6: Maščobno-kislinska sestava (ut. %) plazemskih fosfolipidov, trigliceridov in estrov holesterola dojenčkov s FTT po 31-ih dneh dodajanja začetne formule

Continuation of Appendix C6: Fatty acid composition (wt. %) of plasma phospholipids, triglycerides and cholesterolesters in infants with FTT after 31 days of additional formula milk feeding

31. dan		PL			TG			CE		
		ut. %			ut. %			ut. %		
	skupina	n	\bar{X}	SO	n	\bar{X}	SO	n	\bar{X}	SO
C22:1n-9	A	16	0,18	0,04	16	0,06	0,02	8	0,02	0,00
	B	15	0,21	0,05	15	0,07	0,01	8	0,02	0,01
C24:1n-9	A	16	2,89	0,59	16	0,04	0,01	8	0,03	0,01
	B	15	2,90	0,55	15	0,04	0,01	8	0,04	0,01
VNMK										
družina ω -6										
C18:2n-6 (c+t)	A	16	18,52	1,91	16	15,75	3,09	8	43,93	3,12
	B	15	20,61	1,77	15	17,82	3,19	8	43,02	4,34
C18:3n-6	A	16	0,08	0,03	16	0,28	0,06	8	0,48	0,15
	B	15	0,08	0,04	15	0,23	0,08	8	0,68	0,26
C20:2n-6	A	16	0,55	0,12	16	0,33	0,12	8	0,05	0,01
	B	15	0,56	0,10	15	0,32	0,13	8	0,05	0,02
C20:3n-6	A	16	2,95	0,81	16	0,43	0,18	8	0,69	0,26
	B	15	3,24	0,81	15	0,41	0,20	8	0,72	0,11
C20:4n-6	A	16	12,35	2,19	16	1,43	0,52	8	8,78	2,09
	B	15	9,37	2,21	15	1,09	0,65	8	5,31	2,22
C22:2n-6	A	16	0,05	0,02	16	0,02	0,01	8	0,01	0,01
	B	15	0,05	0,01	15	0,02	0,01	8	0,01	0,01
C22:4n-6	A	16	0,51	0,10	16	0,21	0,08	8	0,03	0,02
	B	15	0,49	0,08	15	0,17	0,07	8	0,06	0,09
VNMK										
družina ω -3										
C18:3n-3	A	16	0,14	0,04	16	1,15	0,35	8	0,40	0,18
	B	15	0,13	0,03	15	1,03	0,23	8	0,38	0,06
C18:4n-3	A	16	0,00	0,01	16	n. i.		8	n. i.	
	B	15	n. i.		15	n. i.		8	n. i.	
C20:3n-3	A	16	0,03	0,01	16	0,04	0,02	8	n. i.	
	B	15	0,02	0,01	15	0,04	0,02	8	n. i.	
C20:5n-3	A	16	0,35	0,08	16	0,26	0,03	8	0,31	0,11
	B	15	0,31	0,09	15	0,25	0,10	8	0,22	0,09
C22:5n-3	A	16	0,84	0,22	16	0,27	0,09	8	0,04	0,02
	B	15	0,80	0,18	15	0,22	0,12	8	0,03	0,02
C22:6n-3	A	16	4,59	1,02	16	0,71	0,30	8	0,66	0,33
	B	15	3,57	1,14	15	0,54	0,59	8	0,32	0,15
vsote in raz,merja maščobnih kislin										
NMK	A	16	45,58	2,10	16	37,48	2,79	8	20,48	2,64
	B	15	45,92	2,13	15	34,24	2,69	8	20,20	2,15
ENMK	A	16	13,47	1,89	16	41,64	3,40	8	24,14	3,28
	B	15	14,86	1,89	15	43,61	3,83	8	28,99	4,15
VNMK	A	16	40,95	2,56	16	20,88	4,00	8	55,38	4,98
	B	15	39,22	2,16	15	22,14	4,56	8	50,81	4,96

“se nadaljuje”

Nadaljevanje priloge C6: Maščobno-kislinska sestava (ut. %) plazemskih fosfolipidov, trigliceridov in estrov holesterola dojenčkov s FTT po 31-ih dneh dodajanja začetne formule

Continuation of Appendix C6: Fatty acid composition (wt. %) of plasma phospholipids, triglycerides and cholesterolesters in infants with FTT after 31 days of additional formula milk feeding

31. dan		PL			TG			CE		
		ut. %			ut. %			ut. %		
	skupina	n	\bar{X}	SO	n	\bar{X}	SO	n	\bar{X}	SO
VNMK/NMK	A	16	0,90	0,09	16	0,56	0,13	8	2,76	0,54
	B	15	0,86	0,08	15	0,66	0,18	8	2,56	0,46
$\sum \omega-3$	A	16	5,95	1,13	16	2,42	0,50	8	1,41	0,46
	B	15	4,82	1,19	15	2,08	0,60	8	0,95	0,14
$\sum \omega-6$	A	16	35,00	1,63	16	18,45	3,75	8	53,97	4,65
	B	15	34,39	1,44	15	20,07	3,99	8	49,86	4,92
$\sum (\omega-3) + \sum (\omega-6)$	A	16	40,95	2,56	16	20,88	4,00	8	55,38	4,98
	B	15	39,22	2,16	15	22,14	4,56	8	50,81	4,96
$\sum \omega-6 / \sum \omega-3$	A	16	6,08	1,11	16	7,77	1,65 *	8	41,90	13,07
	B	15	7,52	1,74	15	9,85	1,06	8	53,18	8,03
$\sum \omega-3$ LCP	A	16	5,80	1,15	16	1,27	0,40	8	1,01	0,44
	B	15	4,70	1,21	15	1,04	0,77	8	0,57	0,21
$\sum \omega-6$ LCP	A	16	16,41	2,63	16	2,42	0,85	8	9,56	2,26
	B	15	13,71	2,55	15	2,02	1,00	8	6,15	2,31
$\sum \omega-6 / \sum \omega-3$ LCP	A	16	2,86	0,27	16	1,92	0,42	8	10,54	3,11
	B	15	3,00	0,51	15	2,11	0,35	8	11,05	2,49
C18:2 n-6/ C18:3 n-3	A	16	137,35	29,75	16	15,05	6,47	8	131,69	62,87
	B	15	169,61	34,07	15	18,79	8,71	8	117,31	28,66

n. i. – za nekatere maščobne kisline v kromatogramu nismo našli pikov pri danih pogojih

* – vrednosti primerjanih skupin se med sabo statistično značilno razlikujejo (t-test z Bonferronijevo korekcijo, $P < (0,05 / (\text{število istovrstnih testiranj} \times 3))$ oz. $P < 0,00035$)

Priloga C7: Koncentracija maščobnih kislin (mg/100g vzorca) plazemskih fosfolipidov, trigliceridov in estrov holesterola dojenčkov s FTT po 31-ih dneh dodajanja začetne formule

Appendix C7: Fatty acid concentration (mg/100g sample) of plasma phospholipids, triglycerides and cholesterolesters in infants with FTT after 31 days of additional formula milk feeding

31. dan	skupina	PL			TG			CE		
		n	\bar{X}	SO	n	\bar{X}	SO	n	\bar{X}	SO
NMK										
C12:0	A	16	0,11	0,02	16	1,86	1,26	8	0,63	0,11
	B	15	0,10	0,02	15	1,97	1,24	8	0,68	0,10
C13:0	A	16	n. i.		16	n. i.		8	n. i.	
	B	15	n. i.		15	n. i.		8	n. i.	
C14:0	A	16	0,41	0,12	16	3,40	1,82	8	0,77	0,17
	B	15	0,38	0,13	15	2,84	1,47	8	0,57	0,18
C16:0	A	16	30,42	4,79	16	23,14	8,34	8	10,14	1,28
	B	15	30,86	4,42	15	28,02	13,13	8	8,58	2,19
C17:0	A	16	0,52	0,11	16	0,31	0,14	8	0,09	0,02
	B	15	0,43	0,15	15	0,23	0,09	8	0,05	0,02
C18:0	A	16	23,01	4,59	16	4,03	1,81	8	0,99	0,24
	B	15	21,54	3,80	15	4,54	2,06	8	0,80	0,30
C20:0	A	16	0,89	0,21	16	0,11	0,08	8	0,01	0,00
	B	15	0,89	0,20	15	0,20	0,16	8	0,01	0,00
C21:0	A	16	0,05	0,03	16	n. i.		8	n. i.	
	B	15	0,04	0,02	15	n. i.		8	n. i.	
C22:0	A	16	1,97	0,49	16	0,06	0,03	8	0,01	0,01
	B	15	2,05	0,44	15	0,11	0,07	8	0,01	0,01
C23:0	A	16	0,96	0,29	16	0,01	0,01	8	n. i.	
	B	15	0,87	0,23	15	0,01	0,01	8	n. i.	
C24:0	A	16	1,94	0,52	16	0,04	0,02	8	n. i.	
	B	15	1,99	0,45	15	0,06	0,04	8	0,01	0,01
ENMK										
C14:1n-5	A	16	n. i.		16	0,14	0,08	8	0,04	0,02
	B	15	n. i.		15	0,06	0,04	8	0,04	0,04
C15:1n-5	A	16	n. i.		16	n. i.		8	n. i.	
	B	15	n. i.		15	n. i.		8	n. i.	
C16:1n-7	A	16	0,36	0,08	16	1,80	0,55	8	1,24	0,23
	B	15	0,35	0,08	15	1,76	0,67	8	1,17	0,23
C17:1n-7	A	16	0,00	0,01	16	n. i.		8	n. i.	
	B	15	0,01	0,01	15	n. i.		8	n. i.	
C18:1n-9 (c+t)	A	16	11,19	3,58	16	31,88	12,00	8	12,81	2,76
	B	15	12,40	2,67	15	44,62	23,41	8	13,56	4,25
C18:1n-7	A	16	2,09	0,35	16	2,02	0,62	8	0,92	0,14
	B	15	1,98	0,34	15	2,27	0,81	8	0,71	0,20
C20:1n-9	A	16	0,24	0,08	16	0,30	0,13	8	0,02	0,01
	B	15	0,29	0,06	15	0,46	0,24	8	0,02	0,01
C22:1n-11	A	16	0,01	0,01	16	0,00	0,01	8	n. i.	
	B	15	0,01	0,01	15	0,01	0,01	8	n. i.	

“se nadaljuje”

Nadaljevanje priloge C7: Koncentracija maščobnih kislin (mg/100g vzorca) plazemskih fosfolipidov, trigliceridov in estrov holesterola dojenčkov s FTT po 31-ih dneh dodajanja začetne formule
Continuation of Appendix C7: Fatty acid concentration (mg/100g sample) of plasma phospholipids, triglycerides and cholesterolesters in infants with FTT after 31 days of additional formula milk feeding

31. dan		PL			TG			CE		
		mg/100g vzorca			mg/100g vzorca			mg/100g vzorca		
	skupina	n	\bar{X}	SO	n	\bar{X}	SO	n	\bar{X}	SO
C22:1n-9	A	16	0,23	0,06	16	0,06	0,03	8	0,01	0,00
	B	15	0,26	0,05	15	0,07	0,04	8	0,01	0,01
C24:1n-9	A	16	3,88	1,14	16	0,03	0,02	8	0,02	0,01
	B	15	3,72	0,79	15	0,04	0,02	8	0,02	0,01
VNMK										
družina ω -6										
C18:2n-6 (c+t)	A	16	24,62	5,22	16	13,43	4,74	8	27,83	6,44
	B	15	26,53	4,12	15	19,39	8,80	8	23,53	8,52
C18:3n-6	A	16	0,10	0,06	16	0,25	0,11	8	0,32	0,13
	B	15	0,10	0,05	15	0,22	0,07	8	0,38	0,22
C20:2n-6	A	16	0,73	0,19	16	0,29	0,13	8	0,03	0,01
	B	15	0,72	0,13	15	0,32	0,13	8	0,03	0,01
C20:3n-6	A	16	3,92	1,19	16	0,35	0,16	8	0,44	0,17
	B	15	4,14	1,10	15	0,39	0,11	8	0,40	0,15
C20:4n-6	A	16	16,20	3,46	16	1,17	0,41	8	5,64	2,05
	B	15	12,08	3,28	15	1,04	0,43	8	2,91	1,54
C22:2n-6	A	16	0,06	0,03	16	0,02	0,01	8	0,00	0,01
	B	15	0,06	0,02	15	0,02	0,01	8	0,01	0,01
C22:4n-6	A	16	0,67	0,16	16	0,18	0,07	8	0,02	0,01
	B	15	0,62	0,12	15	0,17	0,06	8	0,04	0,06
VNMK										
družina ω -3										
C18:3n-3	A	16	0,19	0,07	16	1,05	0,58	8	0,26	0,14
	B	15	0,16	0,04	15	1,22	0,74	8	0,20	0,06
C18:4n-3	A	16	0,00	0,01	16	n. i.		8	n. i.	
	B	15	n. i.		15	n. i.		8	n. i.	
C20:3n-3	A	16	0,03	0,02	16	0,03	0,02	8	n. i.	
	B	15	0,02	0,01	15	0,04	0,01	8	n. i.	
C20:5n-3	A	16	0,47	0,16	16	0,23	0,07	8	0,20	0,10
	B	15	0,39	0,12	15	0,25	0,09	8	0,12	0,06
C22:5n-3	A	16	1,11	0,31	16	0,22	0,08	8	0,03	0,01
	B	15	1,04	0,32	15	0,21	0,08	8	0,02	0,01
C22:6n-3	A	16	6,04	1,57	16	0,57	0,21	8	0,45	0,29
	B	15	4,60	1,57	15	0,46	0,31	8	0,18	0,10
vsote in razmerja maščobnih kislin										
NMK	A	16	59,21	9,94	16	33,11	13,05	8	12,40	1,23
	B	15	58,51	8,39	15	37,35	16,44	8	10,87	2,72
ENMK	A	16	17,59	4,42	16	35,94	13,20	8	14,52	3,13
	B	15	18,46	2,69	15	49,38	23,79	8	14,99	3,70
VNMK	A	16	53,28	8,06	16	17,80	6,10	8	34,75	9,00
	B	15	50,18	7,74	15	23,99	9,47	8	29,61	11,34

“se nadaljuje”

Nadaljevanje priloge C7: Koncentracija maščobnih kislin (mg/100g vzorca) plazemskih fosfolipidov, trigliceridov in estrov holesterola dojenčkov s FTT po 31-ih dneh dodajanja začetne formule
Continuation of Appendix C7: Fatty acid concentration (mg/100g sample) of plasma phospholipids, triglycerides and cholesterolesters in infants with FTT after 31 days of additional formula milk feeding

31. dan		PL			TG			CE		
		mg/100g vzorca			mg/100g vzorca			mg/100g vzorca		
	skupina	n	\bar{X}	SO	n	\bar{X}	SO	n	\bar{X}	SO
VNMK/NMK	A	16	0,90	0,09	16	0,56	0,13	8	2,78	0,54
	B	15	0,86	0,09	15	0,67	0,17	8	2,65	0,44
$\sum \omega-3$	A	16	7,73	1,70	16	2,02	0,78	8	0,90	0,48
	B	15	6,46	1,84	15	2,19	0,79	8	0,60	0,33
$\sum \omega-6$	A	16	45,54	6,88	16	15,78	5,46	8	33,85	8,54
	B	15	43,72	6,47	15	21,80	8,70	8	29,01	11,07
$\sum (\omega-3) + \sum (\omega-6)$	A	16	53,28	8,06	16	17,80	6,10	8	34,75	9,00
	B	15	50,18	7,74	15	23,99	9,47	8	29,61	11,34
$\sum \omega-6 / \sum \omega-3$	A	16	6,06	1,12	16	8,07	1,76	8	43,45	13,74
	B	15	7,14	1,58	15	9,92	1,10	8	51,53	10,68
$\sum \omega-3$ LCP	A	16	7,55	1,71	16	1,04	0,32	8	0,68	0,40
	B	15	6,31	1,86	15	1,01	0,34	8	0,40	0,30
$\sum \omega-6$ LCP	A	16	21,54	4,31	16	2,07	0,84	8	6,26	2,14
	B	15	17,78	4,38	15	2,04	0,63	8	4,07	2,48
$\sum \omega-6 / \sum \omega-3$ LCP	A	16	2,88	0,26	16	1,98	0,48	8	10,65	3,27
	B	15	2,87	0,35	15	2,07	0,33	8	11,05	2,49
C18:2 n-6/ C18:3 n-3	A	16	142,69	29,95	16	16,20	6,98	8	153,86	67,72
	B	15	173,64	32,24	15	19,60	8,42	8	122,35	28,12
\sum vseh kvantificiranih maščobnih kislin	A	16	132,44	22,28	16	86,96	30,66	8	62,90	11,80
	B	15	128,64	16,05	15	111,00	51,42	8	54,03	15,64
\sum NMK, ENMK, VNMK	A	16	130,08	20,56	16	86,85	30,67	8	61,67	12,26
	B	15	127,14	16,82	15	110,72	49,04	8	55,47	17,33

n. i. – za nekatere maščobne kisline v kromatogramu nismo našli pikov pri danih pogojih