

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA
ODDELEK ZA ŽIVILSTVO

Petra GLUHAR POTOČAR

**VPLIV RAZLIČNIH DEJAVNIKOV NA POJAVNOST
ALERGIJ PRI DOJENIH OTROCIH**

DIPLOMSKO DELO
Univerzitetni študij

Ljubljana, 2014

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA
ODDELEK ZA ŽIVILSTVO

Petra GLUHAR POTOČAR

**VPLIV RAZLIČNIH DEJAVNIKOV NA POJAVNOST ALERGIJ PRI
DOJENIH OTROCIH**

DIPLOMSKO DELO
Univerzitetni študij

**THE INCIDENCE OF ALLERGIES IN BREASTFED INFANTS IN
RELATION TO DIFFERENT FACTORS**

GRADUATION THESIS
University studies

Ljubljana, 2014

Diplomsko delo je zaključek univerzitetnega študija živilske tehnologije na Oddelku za živilstvo, Biotehniške fakultete, Univerze v Ljubljani.

Za mentorico diplomskega dela je imenovana prof. dr. Irena Rogelj in za recenzentko prof. dr. Nataša Fidler Mis.

Mentorica: prof. dr. Irena Rogelj

Recenzentka: prof. dr. Nataša Fidler Mis

Komisija za oceno in zagovor:

Predsednik:

Član:

Član:

Datum zagovora:

Naloga je rezultat lastnega raziskovalnega dela. Podpisana se strinjam z objavo svojega diplomskega dela na spletni strani Digitalne knjižnice Biotehniške fakultete. Izjavljam, da je delo, ki sem ga oddala v elektronski obliki, identično tiskani verziji.

Petra Gluhar Potočar

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA

ŠD	Dn
DK	UDK 616-097:57.083.32:613.2-053.2(043)=163.6
KG	alergije/ imunski sistem/ dojenčki/ dojenje/ prehrana/ PUFA/ LCPUFA/ maščobne kisline/ DHA/ probiotiki/ črevesna mikrobiota/ dedna obremenitev/ okoljski dejavniki/ porodna teža
AV	GLUHAR POTOČAR, Petra
SA	ROGELJ, Irena (mentorica)/FIDLER MIS, Nataša (recenzentka)
KZ	SI-1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101
ZA	Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo
LI	2014
IN	VPLIV RAZLIČNIH DEJAVNIKOV NA POJAVNOST ALERGIJ PRI DOJENIH OTROCIH
TD	Diplomsko delo (Univerzitetni študij)
OP	XIII, 93 str., 35 pregl., 27 sl., 6 pril., 230 vir.
IJ	sl
JI	sl/en
AI	Alergijske ali preobčutljivostne reakcije so kompleksne, zapletene in multifaktorialne imunske bolezni. Na pojav alergij vpliva več dejavnikov. V naši raziskavi smo preučevali vpliv dedne obremenitve s strani staršev ter vpliv nekaterih drugih dejavnikov matere in okolja na pojavnost alergij otrok v prvem letu življenja. V raziskavo je bilo vključenih 150 mater in 155 njihovih otrok, saj je pet mater rodilo dvojčke. Atopična obremenitev (AO) bodisi s strani ožje (91 otrok) bodisi širše družine (24 otrok) je bila prisotna pri kar 74 % otrok (pri 115 otrocih od 155). Alergija se je v prvem letu pojavila pri 13 otrocih (8 %), vsi so izhajali iz družin z AO. Potrdili smo statistično značilen vpliv dedne obremenitve s strani staršev ($p = 0,022$) in širše družine ($p = 0,018$) na pojavnost alergij pri otrocih do enega leta starosti. Ugotovili smo pozitivno povezavo med prirastom telesne mase matere tekom nosečnosti in porodno telesno maso dojenčkov, povezava porodne mase s pojavnostjo alergij je bila na meji statistične značilnosti ($p = 0,058$). Rezultati kvantifikacije celotne mikrobne populacije in različnih skupin bakterij v blatu otrok, odvzetem tri dni po rojstvu (B3), niso pokazali statistično značilnih razlik med otroci z dedno obremenitvijo ter otroci brez dedne obremenitve, prav tako ne med alergiki in nealergiki. Drugi preučevani dejavniki matere in okolja (način poroda, okolje bivanja družine, starost matere) niso statistično značilno vplivali na pojav alergij pri otrocih v prvem letu življenja.

KEY WORDS DOCUMENTATION

ND Dn
DC UDC 616-097:57.083.32:613.2-053.2(043)=163.6
CX allergies/ immune system/ infants/ breast feeding/ nutrition/ PUFA/ LCPUFA/ fatty acids/ DHA/ probiotics/ gut microbiota/ hereditary influence/ environmental factors/ birth weight
AU GLUHAR POTOČAR, Petra
AA ROGELJ, Irena (supervisor)/FIDLER MIS, Nataša (reviewer)
PP SI-1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101
PB University of Ljubljana, Biotechnical Faculty, Department of Food Science and Technology
PY 2014
TI THE INCIDENCE OF ALLERGIES IN BREASTFED INFANTS IN RELATION TO DIFFERENT FACTORS
DT Graduation Thesis, (University studies)
NO XIII, 93 p., 35 tab., 27 fig., 6 ann., 230 ref.
LA sl
AL sl/en
AB Allergic or hypersensitive reactions are complex, complicated and multifactorial immune diseases. The occurrence of allergies is the result of several factors. In our study we investigated the incidence of allergies in children's first year of life in relation to heredity from parents and the influence of some other factors of the mother and the environment. 150 mothers and 155 of their children - as the five mothers gave birth to twins - were included in the study. The atopic predisposition (AP), either by a single (91 children) either by an extended family (24 children) was present in as many as 74 % of children (115 children from 155). An allergy in the first year occurred to 13 children (8 %), all of them were from families with AP. We confirmed a statistically significant impact of the hereditary from parents ($p = 0.022$) and extended family ($p = 0.018$) in the incidence of allergies in children under one year of age. We found out a positive correlation between the body weight increment of the mother during pregnancy and the birth weight of their infant. The connection of the birth weight with an incidence of allergies was on the border of statistical significance ($p = 0.058$). The results of quantification of the total microbial population and different groups of bacteria in the faeces of children taken 3 days after birth (B3), did not show statistically significant differences between children with a AP and children without AP, nor among allergic and non-allergic children. Other factors which were studied in mothers and the environment (the mode of delivery, the family environment, the maternal age) had no statistically significant effect on the occurrence of allergies in children in the first year of life.

KAZALO VSEBINE

	str.
KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA	III
KEY WORDS DOCUMENTATION	IV
KAZALO VSEBINE	V
KAZALO SLIK	VIII
KAZALO PREGLEDNIC	X
KAZALO PRILOG	XII
OKRAJŠAVE IN SIMBOLI	XIII
1 UVOD	1
1.1 NAMEN DELA	2
1.2 DELOVNE HIPOTEZE	2
2 PREGLED OBJAV	3
2.1 IMUNSKI SISTEM	3
2.1.1 Osnove imunskega sistema	3
2.1.2 Imunski odziv in njegovo delovanje	3
2.1.3 Motnje v delovanju imunskega sistema	5
2.1.3.1 Nezaželene imunske reakcije (preobčutljivostne reakcije)	5
2.2 ALERGIJA (atopija)	6
2.2.1 Atopija in alergijske bolezni	8
2.2.2 Imunski odziv pri atopiku	9
2.2.3 Dejavniki, ki vplivajo na razvoj atopij	10
2.2.3.1 Genetski dejavniki	10
2.2.3.2 Okoljski dejavniki	11
2.3 POMEN ČREVESNE MIKROBIOTE	11
2.3.1 Vpliv črevesne mikrobiote na pojavnost alergij (atopij)	14
2.4 PREHRANA	15
2.4.1 Prehrana noseče in doječe matere	16
2.5 HUMANO MLEKO – DOJENJE	17
2.5.1 Vpliv dojenja na pojavnost alergij (atopij)	19
2.6 PROBIOTIKI	20
2.6.1 Definicija probiotikov	20
2.6.2 Osnovne značilnosti probiotikov	21
2.6.3 Varnost probiotikov	21
2.6.4 Mehanizem delovanja probiotikov ter koristni učinki na zdravje človeka	22
2.6.5 Uporaba probiotikov v pediatriji	24
2.6.5.1 Uporaba probiotikov pri zdravljenju in preprečevanju alergijskih bolezni	26

2.6.6 Vpliv PUFA na funkcionalnost probiotikov (medsebojne interakcije) ter vpliv na pojavnost alergij	34
3 BAZA PODATKOV IN METODE DELA	35
3.1 BAZA PODATKOV	35
3.2 METODE DELA	36
4 REZULTATI	37
4.1 SPLOŠNI PODATKI O PREISKOVANCIH IN NJIHOVIH DRUŽINAH	37
4.1.1 Splošni podatki o preiskovancih, vključenih v raziskavo o pojavnosti alergij ...	37
4.1.2 Splošni podatki o materah preiskovancev	38
4.1.3 Splošni podatki o alergijah v družinah preiskovancev	39
4.2 POJAVNOST ALERGIJ PRI PREISKOVANCIH	40
4.2.1 Strukturna porazdelitev alergij po spolu	40
4.2.2 Obdobje pojava alergij pri preiskovancih ter teža klinične slike	41
4.2.3 Vrste alergenov, na katere so bili občutljivi preiskovanci ter člani njihovih družin	41
4.3 VPLIV DEDNIH IN OKOLJSKIH DEJAVNIKOV NA POJAVNOST ALERGIJ PRI PREISKOVANCIH	43
4.3.1 Dedna obremenitev preiskovanca	43
4.3.1.1 Statistično preverjanje vpliva dedne obremenitve na pojavnost alergij pri otrocih (1. delovna hipoteza)	44
4.3.2 Začetna črevesna mikrobiota preiskovancev	45
4.3.2.1 Statistično preverjanje vpliva velikosti in sestave začetne mikrobiote blata otrok na pojavnost alergij (2. delovna hipoteza)	46
4.3.3 Uživanje probiotikov in dolgotrajnih večkrat nenasičenih maščobnih kislin ...	46
4.3.3.1 Vpliv uživanja probiotičnega seva <i>Lactobacillus gasseri</i> K7 (LK7) v času nosečnosti na pojavnost alergij pri otrocih v prvem letu življenja	46
4.3.3.2 Uživanje probiotičnih živil in probiotičnih prehranskih dopolnil v času nosečnosti in dojenja	50
4.3.3.3 Uživanje DHA matere pred in med nosečnostjo ter dojenjem	53
4.3.3.4 Statistično preverjanje povezanosti uživanja probiotikov in dolgotrajnih večkrat nenasičenih maščobnih kislin s pojavnostjo alergij pri otrocih (3. delovna hipoteza)	55
4.3.4 Drugi preučevani dejavniki matere in okolja	57
4.3.4.1 Porodna masa otrok, prirast telesne mase matere v času nosečnosti in pojavnost alergij pri otrocih	57
4.3.4.2 Drugi dejavniki matere in okolja	59
4.3.4.3 Statistično preverjanje povezanosti ostalih dejavnikov matere in okolja ter pojavnosti alergij pri otroku (4. delovna hipoteza)	60
5 RAZPRAVA IN SKLEPI	63
5.1 RAZPRAVA	63

5.1.1 Splošne značilnosti populacije, vključene v raziskavo	63
5.1.2 Pojav alergij pri dojenčkih, vključenih v raziskavo, v času od rojstva do enega leta starosti	64
5.1.3 Vpliv dednih in okoljskih dejavnikov na pojavnost alergij pri otrocih	65
5.2 SKLEPI	72
6 POVZETEK	73
7 VIRI	75
ZAHVALA	
PRILOGE	

KAZALO SLIK

Slika 1: Osnovna shema imunskega odziva (prirejeno po: Holt in sod., 1997; Chambers in Dack, 2009).	4
Slika 2: Mehanizem procesa senzibilizacije ter nastanka alergijske reakcije (prirejeno po: Katzung in sod., 2009; Otsu in Dreskin, 2011).	7
Slika 3: Prizadetost kože pri atopijskem dermatitisu (Mervič, 2009).	8
Slika 4: Razvoj »alergičnega« Th2 in »tolerančnega« Th1 odziva (Ouwehand, 2007).	10
Slika 5: Glavni dejavniki kolonizacije otrokovih prebavil v prvem letu življenja (Rogelj in sod., 2013).	12
Slika 6: Različni načini prenosa mikroorganizmov iz matere na otroka v pre- in postnatalnem obdobju, ki lahko vplivajo na razvoj tolerance pri otroku (Pfefferle in sod., 2013).	15
Slika 7: Prenos imunskega sistema matere na dojenega otroka s prehodom IgA protiteles iz humanega mleka na dojenčka (prirejeno po: Newburg, 2005).	20
Slika 8: Shematični prikaz mehanizmov delovanja probiotičnih mikroorganizmov (prirejeno po: Kirjavainen in sod., 1999; Ihan, 2002; Kekkonen in sod., 2009; Goubeyre in sod., 2011).	24
Slika 9: Mehanizmi, s katerimi probiotiki lahko preprečujejo pojav alergij (prirejeno po: Kirjavainen in sod., 1999; Ouwehand, 2007; Goubeyre in sod., 2011).	27
Slika 10: Medsebojne možne povezave med probiotiki, PUFA, citokini in pojavom atopije (Das, 2002).	34
Slika 11: Kvantilni diagram	36
Slika 12: Izobrazbena struktura mater preiskovancev in njihova starost	38
Slika 13: Število in odstotni delež alergikov v družinah preiskovancev	39
Slika 14: Strukturiran prikaz alergenov v družinah, obremenjenih z alergijami	40
Slika 15: Porazdelitev alergikov in nealergikov glede na spol	40
Slika 16: Število družin z obremenitvijo glede na skupino alergenov in število otrok, pri katerih se je pojavila alergija znotraj teh skupin.	42
Slika 17: Prikaz števila alergikov in nealergikov po spolu glede na družinsko obremenitev	43
Slika 18: Prikaz kvantifikacije izbranih skupin bakterij v blatu otrok, odvzetem 3 dni po rojstvu (B3), z metodo qPCR (število kopij gena za 16S rRNA log št./g blata) za alergike in nealergike	45
Slika 19: Število otrok alergikov in nealergikov za skupini LK7 in PLACEBO glede na družinsko obremenitev	47
Slika 20: Prikaz kvantifikacije izbranih bakterij v kolostrumu (M0), z metodo qPCR (število kopij gena za 16S rRNA log št./ml kolostruma) za PLACEBO in LK7 skupino	48
Slika 21: Prikaz kvantifikacije bakterij v blatu otrok, odvzetem 3 dni po rojstvu (B3), z metodo qPCR (število kopij gena za 16S rRNA log št./g blata) za PLACEBO in LK7 skupino	49
Slika 22: Pogostnost uživanja probiotikov v prehranskih dopolnilih in OTC zdravilih (P) s strani matere alergikov in nealergikov v odstotnih deležih in številčno	50
Slika 23: Pogostnost uživanja probiotikov, dodanih živilom (PŽ) s strani matere alergikov in nealergikov v odstotnih deležih in številčno	52

Slika 24: DHA iz zaužitih rib in prehranskih dopolnil pred, med nosečnostjo in v času dojenja (v mg)	54
Slika 25: Prikaz utežnih deležev DHA v mleku doječih mater otrok alergikov in nealergikov	55
Slika 26: Prikaz razmerja ω -6/ ω -3 v mleku doječih mater otrok alergikov in nealergikov	55
Slika 27: Porodna masa novorojencev z dedno obremenitvijo in prirast telesne mase matere pri alergikih in nealergikih.	59

KAZALO PREGLEDNIC

Preglednica 1: Pregled značilnosti preobčutljivostnih reakcij (Ihan, 2002; Behrman in sod., 2004).	5
Preglednica 2: Povprečna vsebnost večkrat nenasičenih maščobnih kislin v zrelem humanem mleku (Das, 2002).....	18
Preglednica 3: Mikroorganizmi, ki se najpogosteje uporabljajo kot probiotiki (Rogelj in Perko, 2003).	21
Preglednica 4: Učinki probiotikov pri preprečevanju atopijskega dermatitisa (AD) pri otrocih.....	28
Preglednica 5: Učinki probiotikov pri zdravljenju atopičnega dermatitisa (AD) pri otrocih	31
Preglednica 6: Splošni podatki o preiskovancih, vključenih v raziskavo o pojavnosti alergij	37
Preglednica 7: Splošni podatki o materah preiskovancev.....	38
Preglednica 8: Vrste alergenov, na katere so bili občutljivi člani družin preiskovancev. .	39
Preglednica 9: Obdobje pojava alergij pri preiskovancih, čas dojenja in teža klinične slike	41
Preglednica 10: Vrste alergenov pri otrocih alergikih ter njihovih družinah.....	42
Preglednica 11: Pojavnost alergij pri preiskovancih glede na spol in družinsko obremenitev	43
Preglednica 12: Kontingenčna tabela za preverjanje povezanosti med AO od širše družine in pojavnostjo alergije pri otrocih.....	44
Preglednica 13: Kontingenčna tabela za preverjanje povezanosti med AO od staršev in pojavnostjo alergije pri otrocih.....	44
Preglednica 14: Primerjava obremenjenosti družin za skupini LK7 in PLACEBO	47
Preglednica 15 : Otroci z alergijo, katerih matere so uživale LK7.	47
Preglednica 16: Primeri močno obremenjenih družin, kjer otroci v prvem letu niso razvili alergij.	48
Preglednica 17: Število otrok, ki so ali niso razvili alergije, glede na pogostnost uživanja probiotikov, dodanih živilom (PŽ), in probiotikov v prehranskih dopolnilih in OTC zdravilih (P) njihovih mater.....	50
Preglednica 18: Pogostnost in frekvenca uživanja probiotikov v prehranskih dopolnilih in OTC zdravilih (P), ločeno za matere alergikov in nealergikov	51
Preglednica 19: Vrste izdelkov in število mater, ki so uživale posamezen probiotik v prehranskih dopolnilih in OTC zdravilih (P).....	51
Preglednica 20: Pogostnost in frekvenca uživanja probiotikov, dodanih živilom (PŽ), ločeno za matere alergikov in nealergikov	52
Preglednica 21: Probiotiki, dodani živilom (PŽ), ki vsebujejo seva <i>Lactobacillus acidophilu-LA5</i> in <i>Bifidobacterium-BB12</i> . ter so jih matere otrok z družinsko atopično obremenitvijo najpogosteje uživale.	53
Preglednica 22: Drugi izdelki z dodanimi probiotiki (PŽ), ki so jih matere otrok z družinsko atopično obremenitvijo najpogosteje uživale.	53
Preglednica 23: DHA iz zaužitih rib in prehranskih dopolnil v mg	54
Preglednica 24: Utežni deleži DHA (22 : 6; ω -3) in razmerje ω -6/ ω -3 v mleku doječih mater	54

Preglednica 25: Kontingenčna tabela za preverjanje povezave med uživanjem probiotikov v prehranskih dopolnilih in OTC zdravilih (P) in pojavnostjo alergij.....	56
Preglednica 26: Kontingenčna tabela za preverjanje povezave med uživanjem probiotikov, dodanih živilom (PŽ) in pojavnostjo alergij.....	56
Preglednica 27: Primer para mati (težek alergik) – otrok (ni razvil alergije)	57
Preglednica 28: Povprečna porodna masa novorojenčkov in prirast telesne mase mater..	58
Preglednica 29: Število alergikov in nealergikov glede na porodno maso in prirast teže matere v času nosečnosti	58
Preglednica 30: Starost mater preiskovancev in pojavnost alergij pri otrocih.....	59
Preglednica 31: Izobrazbena struktura mater in pojavnost alergij pri preiskovancih	60
Preglednica 32: Prikaz alergikov in nealergikov glede na okolje bivanja	60
Preglednica 33: Kontingenčna tabela za preverjanje povezave med porodno maso novorojenca in pojavom alergij z uporabo rangov	61
Preglednica 34: Kontingenčna tabela za preverjanje povezave med starostjo preiskovančeve matere in pojavom alergij pri otrocih	61
Preglednica 35: Kontingenčna tabela za preverjanje povezave med okoljem, v katerem otrokova družina živi (mestno, podeželje) in pojavom alergij pri preiskovancih.....	62

KAZALO PRILOG

- Priloga A:** Pregled statističnih izračunov k poglavju 4.3.1.1 Statistično preverjanje povezanosti dedne obremenitve s pojavnostjo alergij (1. delovna hipoteza)
- Priloga B:** Rezultati kvantifikacije bakterij v blatu otrok (B3) in kolostrumu (M0) ter pregled statističnih izračunov k poglavju 4.3.2.1 Statistično preverjanje povezanosti začetne mikrobiote blata otroka in kolostruma matere s pojavnostjo alergij (2. delovna hipoteza)
- Priloga C:** Rezultati kvantifikacije bakterij v blatu otrok (B3) in kolostrumu (M0) za alergike in nealergike ter pregled statističnih izračunov k poglavju 4.3.3.4 Statistično preverjanje povezanosti uživanja probiotikov in dolgotrajnih večkrat nenasičenih maščobnih kislin s pojavnostjo alergij pri preiskovancih (3. delovna hipoteza)
- Priloga D:** Pregled statističnih izračunov k poglavju 4.3.4.3 Statistično preverjanje povezanosti ostalih dejavnikov matere in okolja ter pojavnostjo alergij pri otroku (4. delovna hipoteza)
- Priloga E:** Vprašalnik o alergijah
- Priloga F:** Vprašalnik o uživanju probiotikov in DHA (pred in med nosečnostjo)

OKRAJŠAVE IN SIMBOLI

Okrajšava, simbol	Pomen
AD	Atopijski dermatitis
AO	Atopična obremenitev
APC	Antigen predstavitvene celice
B3	Blato otroka po treh dneh rojstva
DHA	Dokozaheksaenojska kislina
FFQ	Metoda pogostosti uživanja posameznih živil (<i>angl.</i> »Food Frequency Questionnaire«)
GRAS	Splošno priznано kot varno(<i>angl.</i> »Generally Recognized as Safe«)
Ig	Imunoglobulini
<i>Lb.</i>	<i>Lactobacillus</i>
LCPUFA	Dolgoveržne, večkrat nenasičene maščobne kisline
LK7	<i>Lactobacillus gasseri</i> K7
M0	Kolostrum
OHM	Oligosaharidi humanega mleka
OPKP	Odprta Platforma za Klinično Prehrano
P	Probiotična prehranska dopolnila in OTC zdravila (<i>angl.</i> »Over The Counter«; zdravila namenjena predvsem preventivi, zdravljenju in lažšanju akutnih simptomov bolezni)
PUFA	Večkrat nenasičene maščobne kisline
PŽ	Probiotična živila

1 UVOD

Zdrava in uravnotežena prehrana, tako matere v času pred in med nosečnostjo ter v času dojenja, kot otroka, zlasti v prvem letu starosti, je izredno pomembna. Vpliva na razvoj otroka in ima lahko dolgoročne učinke na njegovo zdravje v odrasli dobi (Singhal in sod., 2004). Prav tako vplivata na zarodek in kasneje na razvoj novorojenca tudi imunski sistem matere in njena črevesna mikrobiota. Zaščitna vloga dojenja v razvoju novorojenca je dobro poznana (Hanson in Korotkova, 2002). V začetnem obdobju življenja novorojenec v veliki meri prevzame mikrobioto od svoje matere. Prenos bakterij iz matere na otroka je odvisen od načina poroda (vaginalni/carski rez) ter načina hranjenja novorojenca (dojenje/dodajanje mlečne formule). Kot pomembne dejavnike, ki vplivajo na sestavo črevesne mikrobiote novorojenčkov, poleg načina rojstva ter prehrane, navajajo znanstveniki tudi gestacijsko starost, hospitalizacijo, uporabo antibiotikov (Penders in sod., 2006), v zadnjem času pa tudi uporabo pre in probiotikov. Mikrobiota, ki se izoblikuje do drugega oziroma tretjega leta starosti, ima v nadaljnjem življenju pomembno vlogo. Enotne definicije, ki bi opisala značilnosti zdrave črevesne mikrobiote ni, saj vse kaže, da ima vsak posameznik unikatno mikrobno združbo prebavnega trakta. Vse več študij poroča o spremenjeni črevesni mikrobioti ob določenih boleznih (Robles Alonso in Guarner, 2013), iz česar lahko sklepamo, da je za zdravje človeka urejena mikrobiota ključnega pomena. Vse bolj jasno postaja, da bakterijska združba prebavnega trakta ne vpliva samo na lokalno zaščito pred infekcijami, temveč lahko vpliva tudi na imunski odziv gostitelja. Epidemiološke študije so pokazale povezave med spremenjeno mikrobioto, pomanjkljivim delovanju imunskega sistema in razvojem kroničnih vnetnih bolezni, kamor sodijo tudi preobčutljivostne reakcije ali alergije.

Alergijske reakcije so najpogostejše imunske bolezni, ki so v zadnjih desetletjih v izrazitem porastu. Vse večji porast alergij med drugim pripisujemo sodobnemu načinu življenja v vse bolj »bakterijsko čistem« okolju in posledično nižji stimulaciji z mikrobi, manjšemu številu srečanj z raznovrstnimi mikroorganizmi v zgodnjem otroštvu ter hkrati vse večji uporabi antibiotikov. Vse to vpliva na slabše razvito črevesno mikrobioto in posledično napake v delovanju imunskega sistema. Zaradi vse večjega zavedanja o pomembnosti vzpostavitve dobre črevesne mikrobiote, so raziskave vedno bolj usmerjene v iskanje načinov, kako doseči čim bolj stabilno mikrobno združbo prebavnega trakta. Veliko pozornosti posvečajo tudi možnosti uravnavanja črevesne mikrobiote s probiotiki. V literaturi zasledimo raziskave o uporabi probiotikov, kot preventivi pred boleznimi, povezanimi z nepravilnostmi v delovanju imunskega sistema, ki dokazujejo pozitivne vplive aplikacije probiotikov v zgodnjem otroštvu na izboljšanje strukture črevesne mikrobiote in delovanja imunskega sistema. Aplikacija probiotikov tako prispeva tudi k boljši toleranci organizma (von Hertzen in sod., 2011). Veliko vlogo pri razvoju novorojenčka in njegovega imunskega sistema pa pripisujejo tudi večkrat nenasičenim maščobnim kislinam (PUFA), predvsem imajo tu pomembno vlogo dolgoverizne, večkrat nenasičene maščobne kisline (LCPUFA), ki jih dojenček v začetnem obdobju življenja v glavnini zaužije predvsem prek materinega mleka. Vendar je treba poudariti, da sodi med pomembnejše dejavnike za pojav alergij pri otroku dedna osnova.

1.1 NAMEN DELA

Diplomsko delo je del večjega projekta »Vloga materinega mleka v razvoju črevesne mikrobiote dojenčka« oziroma »Moje mleko«, katerega cilj je bil pojasniti vlogo materine prehrane, mikrobiote in maščobno kislinske sestave humanega mleka na razvoj črevesne mikrobiote dojenčka ter zdravstveno stanje otroka v prvem letu starosti. V ta namen so raziskovalci zbirali demografske podatke in podatke o prehranskih navadah udeleženk raziskave, podatke o zdravstvenem statusu mater in otrok, vključno z antropometričnimi meritvami ter rezultate biokemijskih meritev, s poudarkom na analizah maščobno kislinske sestave mleka, mikrobiote mleka in mikrobiote otrokovega blata (www.moje-mleko.si).

Namen dela je bil ugotoviti:

- kakšna je bila pojavnost alergij v prvem letu življenja otrok mater, vključenih v raziskavo;
- ali uživanje probiotikov in količina zaužitih DHA ($22 : 6; \omega$ -3) med nosečnostjo vplivata na črevesno mikrobioto novorojenca in pojavnost alergij pri otrocih v prvem letu starosti;
- ali obstaja povezava med vrednostmi DHA in razmerjem omega maščobnih kislin (ω -6/ ω -3) v mleku doječih mater ter pojavom alergij pri otrocih in
- v kako tesni povezavi je, poleg dednosti, razvoj alergij z nekaterimi okoljskimi dejavniki (gestacijska starost otroka, način poroda, okolje bivanja, porodna masa otroka, prirast teže matere v času nosečnosti, njena starost ter izobrazba).

1.2 DELOVNE HIPOTEZE

Na podlagi pregleda literature smo postavili naslednje hipoteze:

- otrocih staršev alergikov (atopična družinska obremenitev) bodo pogosteje razvili alergične reakcije v prvem letu življenja kot njihovi vrstniki zdravih staršev;
- začetna črevesna mikrobiota otrok, pri katerih se pojavi alergija, se razlikuje od črevesne mikrobiote zdravih otrok;
- uživanje probiotikov in dolgoverižnih, večkrat nenasičenih maščobnih kislin (DHA) med nosečnostjo, bo zmanjšalo pojavnost alergij pri otrocih;
- drugi preučevani dejavniki matere in okolja ne bodo pomembno vplivali na pojav alergij.

2 PREGLED OBJAV

2.1 IMUNSKI SISTEM

2.1.1 Osnove imunskega sistema

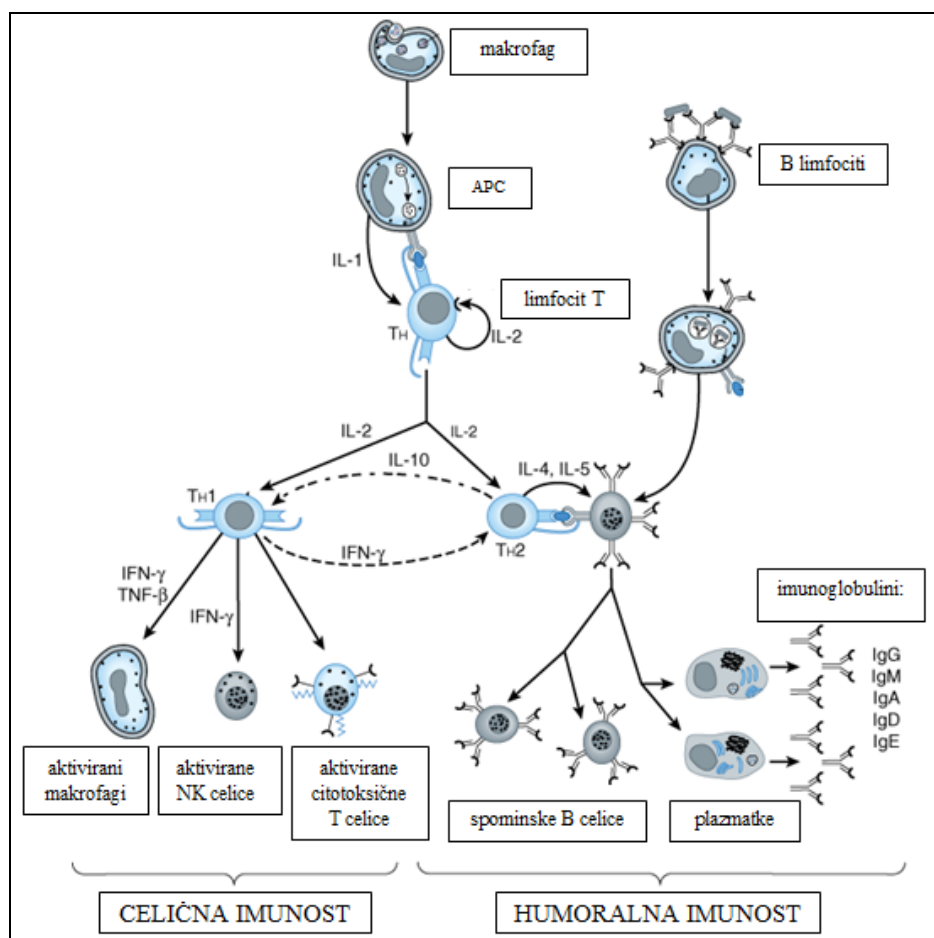
Imunski sistem je obrambni sistem organizma, ki ga imajo vsi vretenčarji (Vozelj, 2000). Je sklop specializiranih molekul, celic in organov, ki varujejo organizem pred okužbami, avtoimunimi ter malignimi obolenji (Beck in Habicht 1996). Sestavljajo ga primarni limfatični organi (kostni mozeg in timus) ter sekundarni limfatični organi (vranica, bezgavke in limfni obtok) (Warwick in Williams, 1973). Osrednje celice imunskega sistema so limfociti in nevtrofilci. Poleg celic imajo pomembno vlogo tudi molekule, kot so imunoglobulini (Ig) ter citokini (interferoni – IFN, interleukini –IL) (Beck in Habicht, 1996; Dinarello, 2000).

Imunost pomeni stanje, ko je telo zavarovano pred tujimi organizmi in snovmi (antigeni) (Vozelj, 2000). Osnovna strategija delovanja imunskega sistema je kljub zelo zapletenemu celotnemu procesu delovanja precej preprosta: prepoznati tujek, mobilizirati obrambne celice in napasti tujek (Ihan, 2000).

2.1.2 Imunski odziv in njegovo delovanje

Sesalci so v več milijonih let razvili vrsto učinkovitih mehanizmov, da se ubranijo potencialno patogenih mikrobov. Prvi je naravna ali prirojena imunost. Prirojeni (nespecifični) imunski odzivi vključujejo anatomske, kemične, fiziološke, endocitne in fagocitne ter vnetne pregrade, ki preprečujejo infekcijskim mikrobom, da bi vdrl v telo in ga poselili. Če ti nespecifični mehanizmi niso zadostni ali odpovedo, razvije telo, v odgovor na vdor infekcijskega agensa, specifični (pridobljeni) imunski odziv. Zanj je značilno, da temelji na izkušnjah posameznika. Poleg osnovnih značilnosti imunskega odziva (različnost ter razločevanja lastnega od tujega) sta pri pridobljenem imunskem odzivu pomembna še spomin in specifičnost. Tuje snovi, ki spodbudijo specifično imunost, imenujemo antigene (Vozelj, 2000). Razločujemo dve med seboj povezani fazi: spoznavanje antigena in odgovor na ta antigen (nastanek efektorskih celic in molekul) (Vozelj, 2000).

Ključna celica imunskega odziva je limfocit T. Nezreli limfociti T nastajajo v kostnem mozgu (Vozelj, 2000). V timusu se »izšolajo« za razlikovanje med »lastnim« in »tujim«. Dozoreli limfociti T potujejo v sredico timusa, od tam naprej vstopajo v krvni obtok, nato potujejo po telesu in se ob stiku s tujo molekuljo aktivirajo. Aktivirani limfociti T sprožijo in organizirajo imunski odziv proti tujku, ki so ga prepoznali (Ihan, 2000). Poleg limfocitov T ima pomembno vlogo pri razvoju imunskega odziva tudi antigen predstavitvene celice (APC) (Vozelj, 2000). Po vstopu antigena v telo ga APC fagocitira in procesira ter predstavi T-celici pomagalki (Th celica). APC izloča interleukin 1 (IL-1), ki je nujen za aktivacijo T-celice pomagalki (Takacs in sod., 1987). Celice pomagalki regulirajo imunski odziv z neposrednim stikom z drugimi celicami ali prek citokinov, ki jih izločajo.



Slika 1: Osnovna shema imunskega odziva; APC predstavi antigen T-celici pomagalki (Th) in ga aktivira z IL-1. T-celica pomagalka prepozna ta antigen ter začne izločati citokine, ki aktivirajo B limfocite, citotoksične T-limfocite, eozinofilce, mastocite, makrofage, naravne celice ubijalke (NK) ter številne druge celice, ki sodelujejo v imunskem odzivu (prirejeno po: Holt in sod., 1997; Chambers in Dack, 2009).

Po stimulaciji s tujkom izdelujejo celice T-pomagalk predvsem interlevkin 2 (IL-2). Nadaljnji stiki s tujki pa usmerjajo razvoj celic T-pomagalk v podvrste Th1 in Th2, ki različno vplivajo na imunski odziv (Ihan, 2000). Citokini, ki jih izloča vsaka od obeh podvrst, so osnova komunikaciji med celicami, udeleženi v imunskem odzivu, ter se med seboj bistveno razlikujejo (Vozelj, 2000). Celice Th1 sodelujejo pri odzivih, ki vodijo v pozno preobčutljivost in kronično vnetje, ter uravnavajo predvsem odziv na znotrajcelične patogene (viruse), kar srečamo na primer pri avtoimunih obolenjih (Vozelj, 2000; Ihan, 2002). Delovanje celic Th2 pa v telesu povzroči nastanek protiteles IgE, ki učinkovito ščitijo pred paraziti, hkrati pa so osnovni sprožilci alergijskih pojavov (Ihan, 2000).

Specifičen (pridobljen) imunski sistem vsebuje komponente humoralnega ter celičnega imunskega odziva. Nosilci celične imunosti so limfociti T (celice T-ubijalke, celice T-pomagalk, spominski limfociti T). V celičnem imunskem odzivu sodelujejo tudi makrofagi, nevtrofilci in eozinofilci (Chapel in sod., 1999; Vozelj, 2000; Janeway in sod., 2001). Naloga celično posredovane imunosti je predvsem obramba pred znotrajceličnimi patogeni (virusi). Humoralna imunost organizma pa predvsem odstranjuje zunajcelične

bakterije in bakterijske produkte s pomočjo protiteles, prisotnih v krvni plazmi, limfi in drugih telesnih tekočinah. Nosilci humoralne imunosti so limfociti B, ki proizvajajo protitelesa – imunoglobuline različnih razredov (IgG, IgM, IgA, IgE, IgD) (Vozelj, 2000). Ključna naloga protiteles je, da se vežejo na antigene, ki jih nato fagocitne celice (fagociti, nevtrofilci) lahko odstranijo (Vozelj, 2000; Janeway in sod., 2001).

2.1.3 Motnje v delovanju imunskega sistema

Okvara ali nezadostnost delovanja ene ali več komponent imunskega sistema lahko povzroči hude in velikokrat usodne motnje, ki jih imenujemo bolezni imunske pomanjkljivosti. Te bolezni razdelimo v dve skupini, in sicer bolezni primarne imunske pomanjkljivosti (podedovane) ter bolezni sekundarne imunske pomanjkljivosti (pridobljene). Primarna imunska pomanjkljivost se kaže v pomanjkanju protiteles limfocitov B ali primarnih napakah v celično posredovani imunosti limfocitov T. Pri sekundarnih imunskih pomanjkljivostih pa gre za napako imunskega sistema zaradi bolezni pri prej zdravem človeku. Napake so reverzibilne, če je bolezen oziroma vzrok za nastanek odstranjen. Pogoste so predvsem pri hospitaliziranih pacientih (Vozelj, 2000; Behrman in sod., 2004; Stoppard, 2007).

2.1.3.1 Nezaželene imunske reakcije (preobčutljivostne reakcije)

Kadar imunski sistem začne braniti organizem pred snovmi, ki človeku niso nevarne, lahko nastane nekoristno vnetje oziroma nezaželena imunska reakcija, ki organizmu zgolj škoduje (Ihan, 2000). Nezaželena imunska reakcija, ki vodi v poškodbo tkiva, lahko poteka na več različnih načinov (Preglednica 1).

Preglednica 1: Pregled značilnosti preobčutljivostnih reakcij (Ihan, 2002; Behrman in sod., 2004).

Tip reakcije	Osnovni mehanizem	Klinična slika
I – TAKOJŠNJI	Tvorba spec. protiteles IgE, njihova vezava na mastocite, ki ob stiku z alergenom izločajo mediatorje (histamin, levkotriene ...).	– anafilaksija – astma – alergični rinitis – atopijski dermatitis – alergija na hrano in strup žuželke
II – CITOTOKSIČNI	Imunoglobulini IgG in IgM se vežejo na antigene na celici, aktivirajo se proteini komplementa.	– transfuzija neskladne krvi – Goodpasterjev sindrom – avtoimunske hemolitične anemije
III – IMUNSKI KOMPLEKSI	Arthusova reakcija – antigen in protitelo (IgG ali IgM) sta topna ter tvorita imunske komplekse, ki se odlagajo v mikrocirkulaciji, v vnetni reakciji sodeluje komplement.	– nekatere reakcije na zdravila – sistemski lupus eritematosus – nodozni eritem
IV – CELIČNA PREOBČUTLJIVOST	Ob stiku z antigenom izločajo limfociti T limfokine, s tem povzročijo imunsko povzročeno vnetje v tkivu.	– kontaktni ekcem – zavrnitev presadka – tuberkulinska reakcija

Vsi zgoraj opisani tipi preobčutljivostnih imunskih reakcij so del normalnega imunskega dogajanja pri zdravem človeku. Molekule IgE (reakcija tipa 1) so na primer koristne pri okužbah s paraziti. Ob vdoru parazita v tkivo protitelesa IgE aktivirajo bazofilce, katerih izločki privabijo eozinofilce, ki zelo učinkovito uničujejo parazite. Kadar nastaja odziv IgE proti neškodljivim antigenom (na primer beljakovine v hrani, pelodih, zdravila), pa tak imunski odziv organizmu zgolj škoduje. Protitelesa razreda G in M zagotavljajo zlasti obrambo proti zunajceličnim bakterijam. Kadar pride do napake pri tolerančnih

mehanizmih, nastajajo protitelesa tudi proti beljakovinom v lastnih celicah (avtoimunost). Imunski kompleksi so normalen odziv protitelesne obrambe. Bolezen zaradi njih (reakcija tipa 3) nastane le, kadar jih na neprimernem mestu nastaja preveč ali pa so okvarjeni mehanizmi, ki skrbijo za njihovo odstranjevanje iz organizma (fagocitne celice). Aktivacija limfocitov T po navadi zagotavlja aktivacijo in usklajeno obrambo proti mikrobom. Kadar aktivacija limfocitov T organizmu bolj škoduje, kot koristi, govorimo o reakciji tipa 4 (Ihan, 2002).

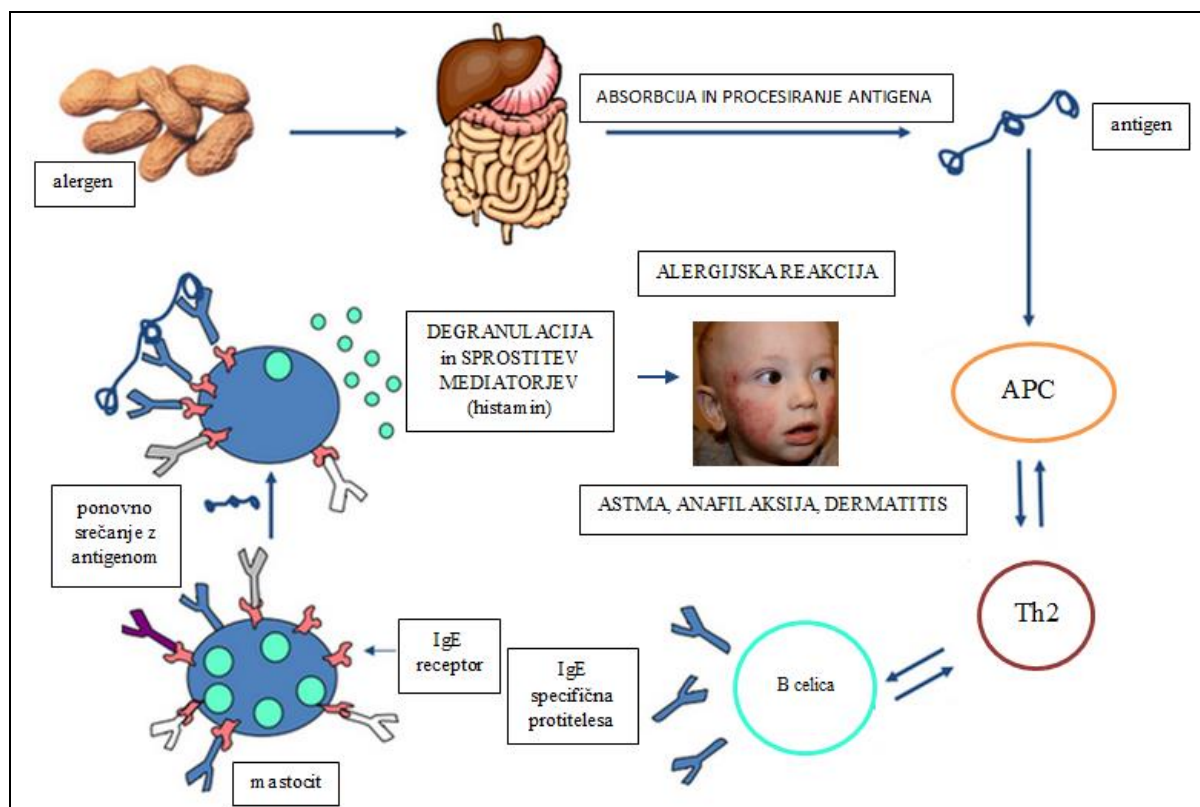
2.2 ALERGIJA (atopija)

Alergijske reakcije sodijo med nezaželene imunske reakcije, ki organizmu ne prinesejo koristi. So najpogostejše imunske bolezni, ki so v zadnjih desetletjih v izrazitem porastu (Behrman in sod., 2004).

Beseda alergija izhaja iz grških besed *allos* – drugače in *ergon* – delovati (Vozelj, 2000). Izraz alergija je prvi uporabil Van Pirqueta v letu 1906. S tem imenom je poimenoval posebno vnetje, ki nastane zaradi sprožene imunske reakcije v organizmu (Ihan, 2000). Izraz je uporabil pri bolnikih, ki so imeli »drugo stanje reaktivnosti« na običajne okoljske antigene (Behrman in sod., 2004). Danes alergijo definiramo kot specifično, pridobljeno spremembo v posameznikovi reakciji na okolje, ki jo posreduje imunski sistem, in vodi do neželenega ali pretiranega fiziološkega odgovora (Sampson, 1998). Alergija je tako časovno, kvalitativno in kvantitativno spremenljiva odzivnost (preobčutljivost) organizma, ki jo izzovejo alergeni (antigeni) (Felc, 2011).

Razvoj alergijske reakcije je posledica dveh, med seboj časovno ločenih procesov, procesa senzibilizacije ter alergijskega odgovora, ki ji sledi. Senzibilizacija je proces, v katerem imunski sistem prepozna alergen in sproži tvorbo za alergen specifičnih protiteles (IgE), ki se lahko začne že ob prvem stiku z alergenom, pogosteje pa sledi šele dolgotrajnejši izpostavljenosti. Alergijski odgovor se po navadi pojavi šele v drugem procesu, ob ponovnem stiku z alergenom, razen v primerih, ko je posameznik predhodno prišel v stik z alergenom zelo podobno snovjo, takrat govorimo o tako imenovani navzkrižni reakciji na alergen (Janeway in sod., 2001; Accetto, 2002; Felc, 2011). V drugi fazi alergijskega odziva nastane alergijsko vnetje.

Alergen je torej snov, ki vstopi v telo, razdraži imunski sistem in povzroči nastanek specifičnih protiteles. Alergeni so najpogostejše beljakovine. Vsaka tuja snov, ki povzroči imunski odziv, je potencialni alergen. Najpogostejši so prehranski (beljakovine v različni hrani) in t. i. inhalatorni (pršice, cvetni prah, živalski epitelij) alergeni (Rentschler in Antonic, 2008). Ob stiku z alergenom lahko pride do burne reakcije, v kateri se sproščajo številne snovi (mediatorji), ki dražijo različna tkiva. Ena od takšnih snovi je histamin (Felc, 2011), ki se ob izpostavitvi alergenom sprosti iz mastocitov. Histamin povzroča intenziven srbež. Skrčijo se mišice v dihalnih poteh in prebavilih. Pojavi se draženje v nosu in žrelu, kihanje ter voden izcedek iz nosu. V pljučih se dihalne poti zožijo, kar bolnik čuti kot oteženo dihanje, pojavi se kašelj (Rentschler in Antonic, 1999; Golnik, 2010).



Slika 2: Mehanizem procesa senzibilizacije ter nastanka alergijske reakcije (prirejeno po: Katzung in sod., 2009; Otsu in Dreskin, 2011).

V prvem letu starosti se otroci največkrat senzibilizirajo na prehranske alergene. Že novorojenček se lahko senzibilizira na jajčne proteine in proteine kravjega mleka, ki jih zaužije bodisi neposredno ali pa prek materinega mleka. Ocenjujejo, da se na beljakovine kravjega mleka senzibilizira približno do 7,5 % otrok (Felc in Skale, 2010). Redkeje pride do senzibilizacije na beljakovine arašidov, soje, drevesnih oreščkov in pšenice (Glavnik in sod., 1994). Alergija na kravje mleko pogosto s časom izzveni, v 85 do 90 % že do tretjega leta starosti. Nekoliko pozneje in manj pogosto izzveni tudi alergija na beljakovine jajc. Alergija na hrano se v najzgodnejšem obdobju navadno izraža s prebavno (kolike, driska, neuspevanje ali bruhanje) oziroma kožno (atopijski dermatitis, urtikarija) simptomatiko (Glavnik in sod., 1994).

Senzibilizacija na inhalatorne alergene notranjega okolja, kot sta pršica in živalska dlaka, se lahko pojavi že po 6. mesecu starosti. Po navadi se kaže z respiratornimi težavami (alergijski rinitis, astma), lahko pa tudi s kožno simptomatiko (atopijski dermatitis).

Senzibilizacija na pelode različnih dreves, trav in plevelov se po navadi razvije po tretjem letu starosti in se večinoma kaže v obliki senenega nahoda ali alergijske astme (Glavnik in sod., 1994).

Preprečevanje alergijskih reakcij temelji na izogibanju dokazanemu alergenu. Za zdravljenje alergij sta možna dva pristopa – simptomatsko zdravljenje (antihistaminiki, kortikosteroidi) ter specifična imunoterapija, ki se uporablja predvsem za zdravljenje

bolnikov z alergijskim rinokonjunktivitisom oziroma alergijsko astmo, ki imajo, kljub redni terapiji (zdravila) in izogibanju alergenom, še vedno izrazitejša težava (Vozelj, 2000; Accetto, 2002; Felc, 2011).

2.2.1 Atopija in alergijske bolezni

S pojmom atopija označujemo prirojeno nagnjenost k razvoju alergij oziroma alergijskih bolezni.

Beseda atopija je izpeljana iz grške besede atopos, ki pomeni »ni na pravem mestu« (Behrman in sod., 2004). Atopiki so nagnjeni k temu, da tvorijo specifične imunoglobuline razreda E (IgE), uperjene proti različnim alergenom iz okolja (prehranski ter inhalatorni alergeni, zdravila ...), ob tem pa običajno razvijejo simptome in znake alergijske bolezni (atopični dermatitis, astma, alergični rinokonjunktivitis) oziroma so nagnjeni k razvoju akutnih (tudi anafilaktičnih) alergijskih reakcij (Kuster in sod., 1990; Ihan, 2002; Johansson, 2009).

Atopijski dermatitis je kronična vnetna bolezen kože, za katero je značilen pojav močno srbečih ekcematoidnih kožnih lezij (Schultz Larsen in sod., 1996). Ocenjujejo, da se pojavi pri približno 20 % otrok, običajno po šestem mesecu starosti (Felc, 2011), ter da približno tretjina otrok z atopijskim dermatitisom pozneje v življenju razvije eno od alergijskih bolezni dihal (Wollenberg in Bieber, 2000). Pogostejše se pojavlja v družinah, kjer so bolniki z drugimi atopijskimi boleznimi, kot so astma, alergijski nahod ali alergijsko vnetje oči. V patogenezi bolezni ima poleg dedne predispozicije pomembno vlogo tudi senzibilizacija na prehranske alergene predvsem v prvih letih življenja. Pri dojenčkih in malih otrocih je narava vnetja akutna, pozneje v življenju subakutna ali kronična. Klinični potek bolezni je nepredvidljiv in spremenljiv. Pri starejših bolnikih ugotavljajo več senzibilizacije na inhalatorne alergene (Avčin, 2002).



Slika 3: Prizadetost kože pri atopijskem dermatitisu (Mervič, 2009).

Za astmo je značilno kronično vnetno dogajanje v spodnjih dihalnih poteh in pljučih (Behrman in sod., 2004). Poslabšanje astme lahko sproži stik z alergenom (po navadi inhalacijskim, lahko tudi prehranskim). Klinično se bolezen izraža kot občasni napadi težkega dihanja, ki ga spremljajo kašelj, stiskanje v prsih in piskanje. Težave so najizrazitejše ob telesnem naporu in v zgodnjih jutranjih urah. Poleg alergenov lahko simptome sprožijo tudi onesnažen zrak, megla, mrzel ali zelo suh zrak, smeh, čustveni pretresi in telesna obremenitev (Ihan, 2000).

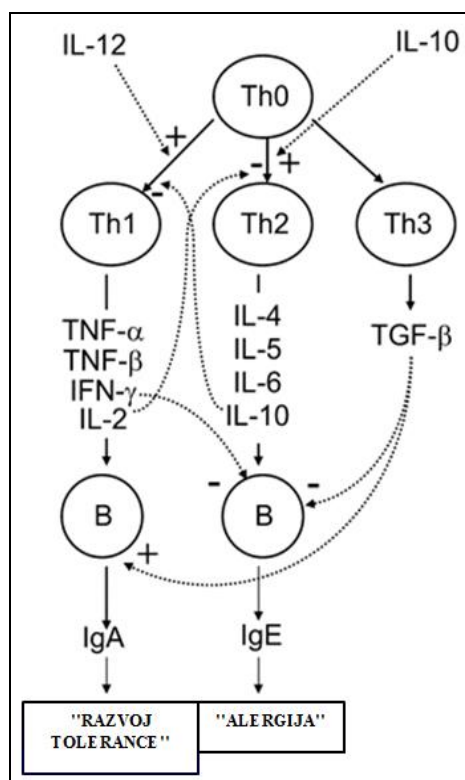
Alergijski rinitis je alergijsko vnetje v nosni votlini. Kaže se s srbenjem, izcedkom, kihanjem ter zamašenim nosom. Alergijski rinitis pogosto spremlja tudi konjunktivitis (alergijsko vnetje očesnih veznic), za katerega sta značilna solzenje in srbečica oči. Veznice so pordele ter zatekle. Težave so še izrazitejše, če se rinitisu pridruži vnetje obnosnih votlin – sinusitis (Ihan, 2000).

Najhujša oblika preobčutljivosti se kaže v obliki anafilaktične reakcije, ki nastane kot posledica sistemskega delovanja mediatorjev alergijske reakcije, kar povzroči večjo propustnost kapilar, sluznični edem in konstrikcijo gladkih mišic. Najpogostejše se kaže z respiratornimi (kašelj, stridor, zadržanost, oteklina obraza, sopenje) in ali kardiovaskularnimi simptomi (omotica, bledica, tahikardija, hipotenzija, šok). Pogostnost anafilaktičnih reakcij narašča, največkrat jih sprožijo alergeni v hrani, zdravila, piki čebel/os (Felc, 2011).

2.2.2 Imunski odziv pri atopiku

Imunski odziv atopika se razlikuje od imunskega odziva neatopika po podvrsti T-celice pomagalk. O pojavu imunske deviacije oziroma atopije govorimo, kadar ne pride do preskoka v Th1 smer oziroma je v prevladi Th2 odziv.

Pri vseh novorojenčkih (tako atopikih kot neatopikih) na začetku prevladuje Th2 odziv (von der Weid in sod., 2001), saj lahko citokini profila Th1 (IL-2, IFN, TNF- β) povzročijo splav oziroma zavrnitev plodu s strani matere (Holgate, 1997). Ob mikrobiološki stimulaciji po rojstvu se nato vzpostavi ravnovesje Th1/Th2, praviloma začne prevladovati Th1 odziv (von der Weid in sod., 2001). Citokini (INF- γ , TNF- β in IL-2), ki jih izločajo Th1 limfociti, vodijo do produkcije IgA in IgG, zmanjšajo vnetne procese ter povečajo toleranco za antigene iz hrane (Kirjavainen in Gibson, 1999; Vozelj, 2000). Ti mediatorji spodbujajo celični imunski odziv ter zavirajo delovanje IL-4, ki je osnovni spodbujevalec diferenciacije v Th2 smer. IL-4 vpliva na limfocite B tako, da ti namesto IgM in IgG sintetizirajo predvsem IgE (osnovne sprožilce alergijskih pojavov) (Vozelj, 2000). Pri atopiku prevladuje torej Th2 posredovani imunski odziv na alergene. Po stiku z alergenom Th2 limfociti sintetizirajo citokine IL-3, IL-4, IL-5, IL-13 in IL-10. Citokini podvrste Th2 pri atopiku spodbujajo eozinofilni vnetni odgovor, stimulacijo mastocitov in produkcijo IgE imunoglobulinov s strani B limfocitov. Medtem ko INF- γ (citokin profila Th1) sintezo IgE inhibira (Ihan, 2002).



Slika 4: Razvoj »alergičnega« Th2 in »tolerančnega« Th1 odziva; IL-10 stimulira odziv Th2; IL-12 stimulira odziv Th1. Limfociti Th3 s produkcijo TGF-β vodijo v razvoj višje stopnje tolerance; IgE lahko aktivirajo mastocite ter s tem povzročijo alergije; IgA preprečujejo pojav alergij (Ouweland, 2007).

2.2.3 Dejavniki, ki vplivajo na razvoj atopij

Na pojav alergije oziroma imunske deviacije vplivajo, poleg genetskih dejavnikov, tudi cepljenja, črevesna mikrobiota, higienske razmere in drugo.

2.2.3.1 Genetski dejavniki

Večjo verjetnost za razvoj atopije imajo otroci atopikov, predvsem če sta atopika oba starša. V tem primeru je incidenca alergije pri otroku kar 47-odstotna, medtem ko je pojavnost alergij pri otrocih zelo redka, kadar pri starših ni prisotnih nobenih alergij (Felc in Skale, 2010). Študije kažejo, da imajo atopijske bolezni skupno nagnjenost in genetsko osnovo. Ugotavljajo, da sta za alergijske bolezni odgovorni najmanj dve skupini genov: geni, ki kontrolirajo sistemski odziv atopije (povečano sintezo IgE in eozinofilijo), in geni, ki kontrolirajo lokalne vnetne odzive pri specifičnih ciljnih organih (koža pri atopijskem dermatitisu, pljuča pri astmi) (Behrman in sod., 2004). Iz tega lahko sklepamo, da je dednost eden od ključnih dejavnikov za incidenco alergij pri potomcih. Raziskave kažejo, da imajo otroci z atopično družinsko obremenitvijo že ob rojstvu zmanjšano sposobnost tvorbe INF-γ (Holt in sod., 1992; Noguchi in sod., 2001).

2.2.3.2 Okoljski dejavniki

Porast atopičnih in avtoimunskih bolezni v zadnjih letih raziskovalci pripisujejo med drugim tudi zmanjšani mikrobnii stimulaciji v zgodnjem otroštvu, kar naj bi povzročilo počasnejše zorenje imunskega sistema in napake v vzpostavitvi ravnovesja med celicami Th1 in Th2 (Strachan, 2000). Ruralno in nesterilno okolje, veliko število otrok v družini, slabe higienske razmere, zgodnje srečanje s paraziti namreč spodbujajo razvoj odziva Th1 (Bolte in sod., 2002). Ugotovili so, da lahko spremenjena črevesna mikrobiota povzroči vztrajanje imunskega odziva Th2 (Weston in sod., 2005). Študije so namreč pokazale, da imajo otroci z atopijami spremenjeno črevesno mikrobioto, v kateri prevladujejo bakterije rodu *Clostridium* (Favier in sod., 2002; Weston in sod., 2005), medtem ko je število bifidobakterij, v primerjavi z otroci brez atopij, precej manjše (Kalliomäki in sod., 2001; Favier in sod., 2002). Nekatere raziskave so tudi pokazale, da črevesna mikrobiota otrok brez atopične družinske obremenitve vsebuje visoko število laktobacilov (Harmsen in sod., 2000) ter bifidobakterij (Favier in sod., 2002).

Nastanek odziva Th1 močno pospešujejo tudi okužbe z virusi in bakterijami. Ponavljajoče virusne okužbe dihal v zgodnjem otroštvu spodbujajo razvoj imunskega sistema v smeri Th1, predvsem z neposredno stimulacijo naravnih celic ubijalk (NK) ali makrofagov (oboji izločajo INF- γ). Čim več bakterijskih in virusnih okužb doživi otrok v prvih letih življenja, hitreje nastanejo imunske celice Th1 in manj je možnosti, da bi otrok postal alergik. Imunski sistem, ki je neobremenjen s ponavljajočimi se virusnimi okužbami dihal, je bolj občutljiv za senzibilizacijo z alergeni iz okolja (Holgate, 1997; Ihan, 2000).

2.3 POMEN ČREVESNE MIKROBIOTE

Črevesna mikrobiota sodi med najbolj celostne sisteme. Je dobro prilagojena, izjemno stabilna in značilna za posameznika (Madigan in Martinko, 2005). Velikost mikrobne populacije, vrstna sestava in pestrost se med posamezniki lahko zelo razlikujejo (Blaut in Clavel, 2007). Pri vsakem posamezniku se razvije posebna kombinacija prevladujočih vrst in sevov bakterij, ki je dokaj stabilna (Guarner in Malagelada, 2003). Med več kot 1000 poznanih vrst črevesnih bakterij, pretežno striktnih anaerobov, je večina koristnih in potrebnih za normalno delovanje črevesja, le manjšino pa predstavljajo potencialno patogene bakterije (Zoetendal in sod., 2008).

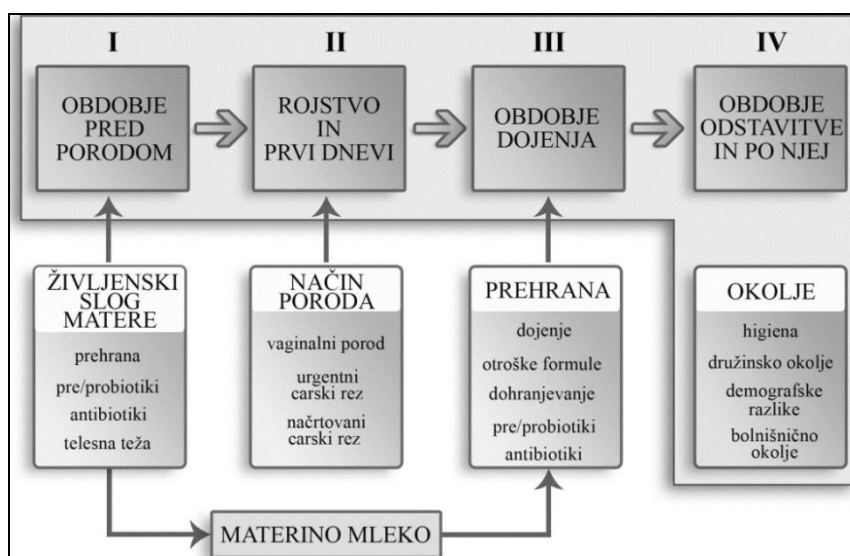
Porazdelitev mikrobiote v posameznih predelih prebavil je zelo raznolika. Vz dolž prebavne poti število mikroorganizmov narašča (Madigan in Martinko, 2005). Najmanj bakterij je v želodcu ($< 10^3$ /ml vsebine), nekoliko več jih je v tankem črevesu (10^{4-7} /g vsebine) ter največ v debelem črevesu (10^{10-12} /g blata), kjer predstavljajo kar 10 do 30 % celotne fekalne mase (Seme, 2002; Guarner in Malagelada, 2003).

Mikrobiota prebavnega trakta pri dojenčkih je razmeroma enostavna in nestabilna. V prvem obdobju življenja zelo niha, z odraščanjem pa postaja vse kompleksnejša in stabilna (Mackie in sod., 1999; Blaut in Clavel, 2007). Navadno se črevesna mikrobiota stabilizira pri dveletnih otrocih (Gismondo in sod., 1999). Začetni razvoj črevesne mikrobiote vpliva na zdravje novorojenčka, ima pa tudi dolgoročni vpliv na zdravje v odrasli dobi. Zgodnja

kolonizacija mikrobiote vpliva na metabolni fenotip in oblikuje imunski odziv gostitelja (Burcelin, 2012).

Naseljevanje črevesne mikrobiote poteka v štirih zaporednih fazah (Rogelj in sod., 2013):

- faza I – predporodno obdobje;
- faza II – rojstvo in prvi dnevi življenja;
- faza III – obdobje, ko se otrok hrani izključno z materinim mlekom;
- faza IV – obdobje, ko začne materino mleko nadomeščati z drugimi hranili, do popolne odstavitve in prehajanja v »odraslo« mikrobioto.



Slika 5: Glavni dejavniki kolonizacije otrokovih prebavil v prvem letu življenja (Rogelj in sod., 2013).

Novorojenček dobi prvotno mikrobno združbo od svoje matere (Seme, 2002). V zadnjem desetletju so številne raziskave, predvsem s pomočjo molekularnih metod, ki temeljijo na osnovi karakterizacije nukleinskih kislin (DNA in RNA), pokazale, da se razvoj novorojenčkove mikrobiote v manjši meri začne že pred porodom, kjer poteka prvo spoznavanje otroka z materino mikrobioto in priprava otrokovega imunskega sistema na stik z zunanjim okoljem (Jiménez in sod., 2005; Pettker in sod., 2007; Jiménez in sod., 2008). Intenzivnejše poseljevanje njegovega prebavnega trakta pa se začne med porodom, ob prehodu skozi porodni kanal (Mackie in sod., 1999). Kolonizacijski proces se začne z naselitvijo predvsem enterobakterij (*E. coli*) in streptokokov, ki sodijo med fakultativne anaerobe. Enterobakterije in streptokoki najverjetneje ustvarijo anaerobne razmere za naselitev striktnih anaerobnih rodov, kot so *Bacteroides*, *Bifidobacterium* in *Clostridium* (Conway, 1997; Reinhardt in sod., 2009).

Način poroda (vaginalni ali s carskim rezom) vpliva na spekter bakterij, ki poselijo novorojenčkov prebavni trakt v prvih urah življenja (Dominguez-Bello in sod., 2010). Carski rez korenito spremeni kolonizacijske vzorce pri novorojenčkih. Zaradi manjše kompeticije se pri otrocih, rojenih s carskim rezom, poveča število enterobakterij (ne *E. coli*), kot so *Klebsiella*, *Enterobacter*, ter klostridijev, vključno s *Clostridium difficile*

(Penders in sod., 2006; Adlerberth in Wold, 2009). Otroci, rojeni s carskim rezom, imajo v prvih mesecih občutno nižji nivo naselitve bifidobakterij (Huurre in sod., 2008; Biasucci in sod., 2010) in bakterij rodu *Bacteroides* (Penders in sod., 2006) ter manjšo pestrost na nivoju vrst kot otroci, rojeni z vaginalnim porodom. Še posebej je to opazno pri novorojenčkih z načrtovanim carskim rezom (Song in sod., 2013). Vendar pa je vpliv načina poroda opazen le do nekje šestega tedna starosti, nato počasi izzveni (Palmer in sod., 2007; Fallani in sod., 2010; Vaishampayan in sod., 2010), saj postane glavni dejavnik razvoja črevesne mikrobiote novorojenca njegova prehrana.

Raziskave kažejo, da se sestava črevesne mikrobiote dojenih otrok razlikuje od sestave črevesne mikrobiote otrok, hranjenih s prilagojenimi mlečnimi formulami (Viljanen in sod., 2005). Če je otrok hranjen izključno s humanim mlekom, se v enem tednu vzpostavi mikrobiota, v kateri prevladujejo bifidobakterije (> 60 %). V mikrobioti so prisotne še mlečnokislinske bakterije (streptokoki in laktobacili) in vrste rodu *Bacteroides*. Šele po odstavitvi dojenčka se razvije bolj raznolika mikrobiota, podobna odraslim. Pri zalivančkih pa se takoj razvije bolj raznolika mikrobiota: bifidobakterije, vrste *Bacteroides*, laktobacili, enterobakterije (*E. coli*), enterokoki in klostridiji (Harmsen in sod., 2000; Penders in sod., 2006).

Ker ima v razvoju in vzpostavljanju črevesne mikrobiote pomembno vlogo prehrana, raziskovalci posvečajo veliko pozornost proučevanju razlik v sestavi humanega in kravjega mleka. Ugotovili so, da humano mleko vsebuje več laktoze (Bezkorovainy, 2001), kar izboljša črevesno okolje, peristaltiko in absorpcijo kalcija, beljakovin in magnezija (Stanfield in Hui, 1997). Humano mleko ima tudi manjšo puferno kapaciteto ter manj proteinov in fosfatov kot kravje. Zaradi manjše puferne kapacitete mlečna in očetna kislina, ki jo sintetizirajo bifidobakterije, znižata vrednost pH črevesne vsebine do vrednosti 5. S tem je onemogočena rast patogenih mikroorganizmov in mnogih mikroorganizmov, ki se nahajajo v blatu zalivančkov in odraslih. Odkrili so tudi tako imenovane bifidogene dejavnike humanega mleka, ki stimulirajo rast bifidobakterij. Najpomembnejši med njimi so oligosaharidi humanega mleka (OHM), ki so odporni proti prebavnim encimom, v črevesu pa spodbujajo razmnoževanje koristnih bakterij, predvsem bifidobakterij, in delujejo kot prebiotiki. Poleg OHM pa sodi med bifidogene dejavnike tudi laktoferin, ki, kot je videti, predstavlja vir železa, ki ga bifidobakterije potrebujejo za rast (Bezkorovainy, 2001). Humano mleko vsebuje tudi bakterije, ki jih dojenček ob vsakem dojenju prejema od matere.

Poleg prehrane vplivajo na potek kolonizacije črevesja tudi drugi okoljski dejavniki, kot so demografske razlike (razviti svet ali države v razvoju) (Guarner in Malagelada, 2003) ter življenjski slog družine in s tem povezane higienske razmere. Prebavni trakt novorojenčkov, ki živijo v slabših higienskih razmerah, je po navadi prej poseljen z *E. coli*, drugimi enterobakterijami, enterokoki in laktobacili. Njihova mikrobiota je pestrejša na nivoju vrst in veliko bolj dinamična na nivoju sevov, kot pa mikrobiota novorojenčkov v razvitih deželah (Mikelsaar in sod., 2004). Dokazali so, da na oblikovanje mikrobiote vpliva tudi struktura družine. Novorojenčki s starejšimi brati in sestrmi imajo večje število bifidobakterij (Penders in sod., 2006). Adlerberth in Wold (2009) poročata, da imajo novorojenčki brez starejših bratov in sester pri enem letu starosti več klostridijev ter enterobakterij, vendar je *E. coli* prisotna v manjšem številu. Razlog za to pripisujejo

pogostejšim okužbam otrok, ki imajo starejše bratce ali sestrice, v zgodnjem otroštvu. Vendar pa so te razlike majhne. Zanimiva je tudi ugotovitev, da je bakterija *Staphylococcus aureus* manj pogosta pri novorojenčkih, ki imajo doma hišnega ljubljence (Penders in sod., 2006).

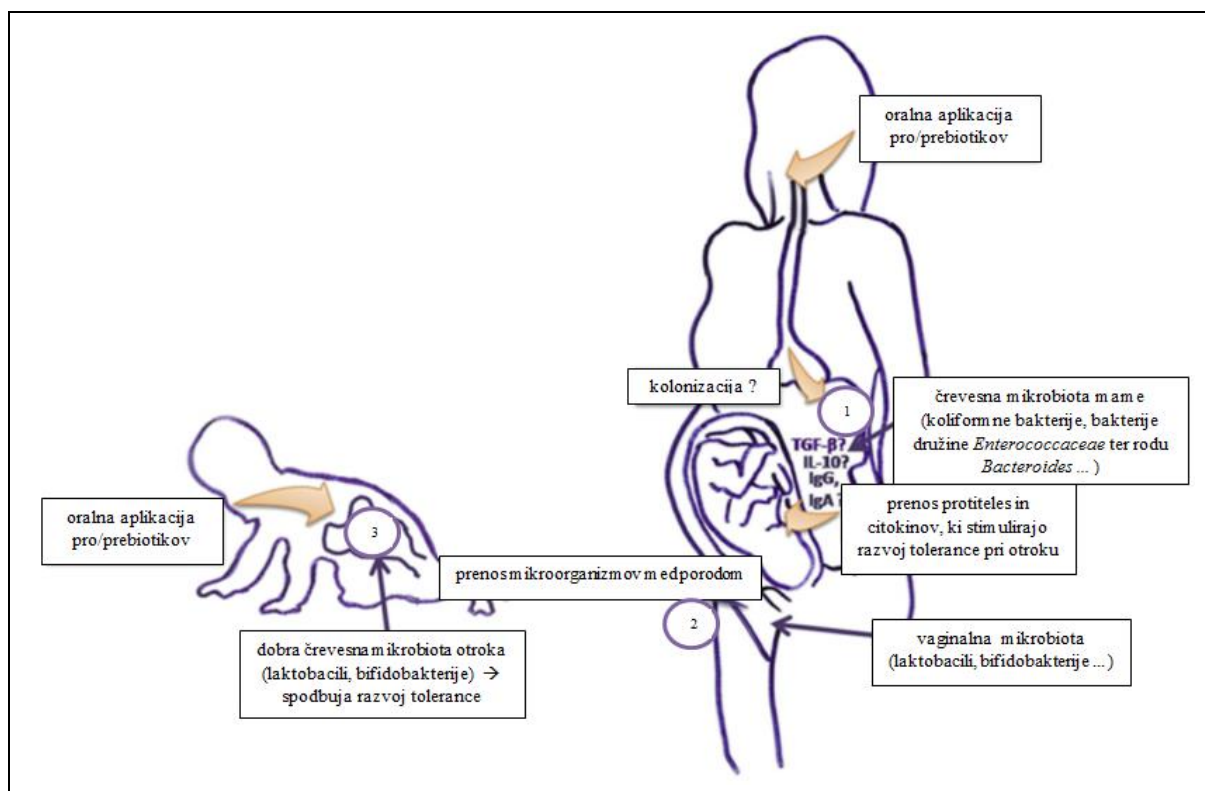
Kot kažejo raziskave, vpliva na sestavo črevesne mikrobiote dojenčkov tudi prehrana matere. Raziskava, v kateri so doječe matere uživale izključno samo organsko hrano, ki ne vsebuje ostankov sintetičnih pesticidov, konzervansov in aditivov, so pokazale, da je vsebovala mikrobiota njihovih otrok manjše število bakterij vrste *E. coli* ter bakterij iz rodu *Bacteroides fragilis* (Penders in sod., 2006).

Med dejavnike, ki vplivajo na razvoj mikrobiote, sodita tudi hospitalizacija in prezgodnje rojstvo, saj so pri nedonošenčkih opazili večjo pogostost pojavljanja *C. difficile* (Penders in sod., 2006). V eni od študij, kjer so opazovali razlike v črevesni mikrobioti nedonošenčkov (gestacijske starosti – 30 tednov) in normalno donošenih otrok, so ugotovili, da je v črevesni mikrobioti nedonošenčkov prisotno precej višje število fakultativno anaerobnih bakterij (*Enterobacteriaceae*, *Enterococcaceae* ter *Lactobacillus*, vključno z bakterijami rodu *Weissella*) ter manjše število striktnih anaerobov (bifidobakterij ter bakterij rodov *Bacteroides* in *Atopobium*). Prav tako je bilo prisotno višje število bakterij vrste *K. pneumoniae* ter potencialno patogenih bakterij, v primerjavi z donošenimi dojenčki. Rezultati so pokazali tudi spremenjeno poselitev s komensalnimi mikroorganizmi ter manjšo pestrost na nivoju vrst pri nedonošenčkih. Pri tem je treba izpostaviti, da so bili vsi preiskovanci iz iste bolnišnice, saj na vzpostavitev črevesne mikrobiote pri nedonošenčkih pomembno vplivata tudi prehrana ter bolnišnično okolje (Arboleya in sod., 2012). Naslednji pomemben dejavnik, ki lahko spremeni normalni razvoj mikrobiote, je zdravljenje novorojenčka z antibiotiki. Po daljših antibiotičnih terapijah sta spremenjena sestava mikrobiote in manjša filogenetska pestrost opazni še mesec dni po koncu zdravljenja (Penders in sod., 2006; Koenig in sod., 2011; Madan in sod., 2012).

2.3.1 Vpliv črevesne mikrobiote na pojavnost alergij (atopij)

Dobro uravnotežena mikrobiota v zgodnjem postnatalnem obdobju je ključna za ustvarjanje imunske homeostaze. Raziskovalci so ugotovili, da ima črevesna mikrobiota ne le pomembno vlogo pri uspešni obrambi novorojenčka pred okužbami, temveč tudi pri preprečevanju alergij (Wang in sod., 2004; Moro in Arslanoglu, 2005), saj prispeva k razširitvi repertoarja protiteles (Lanning in sod., 2000). Dokazano je, da je poselitev z bakterijami ključna za uspešen razvoj s črevesom povezanega limfatičnega tkiva (gut-associated lymphoid tissue – GALT) in posledično razvoj normalnega imunskega sistema pri dojenčkih (Seifert in Watzl, 2007).

Nekatere raziskave kažejo, da se razvoj tolerance lahko začne že zelo zgodaj, celo v prenatalnem obdobju (imunske programiranje). Glede na to, da sta mama in zarodek neločljiva enota, pomeni, da so tudi interakcije med njima zelo močne. Vpliv mame na otroka je večplasten. Imunski sistem mame ter njena črevesna mikrobiota imata lahko močan vpliv na zarodek in tudi kasneje na izoblikovanje dojenčkove lastne mikrobiote in imunskega sistema v postnatalnem obdobju (Pfefferle in sod., 2013).



Slika 6: Različni načini prenosa mikroorganizmov iz matere na otroka v pre- in postnatalnem obdobju, ki lahko vplivajo na razvoj tolerance pri otroku; 1. Probiotiki in prebiotiki vplivajo na črevesno mikrobioto matere, stimulirajo izločanja citokinov, ki lahko prehajajo do zarodka, ter tako vplivajo na njegov imunski sistem (razvoj tolerance). 2. Ob vaginalnem porodu novorojenček pridobi vaginalno mikrobioto matere. 3. Dodatek prebiotikov in probiotikov v otrokovo prehrano lahko izboljša homeostazo otrokove črevesne mikrobiote (Pfefferle in sod., 2013).

Zanimive so tudi ugotovitve ene najnovejših študij, kjer so Gosalbes in sod. z globinskim sekvenciranjem dvajsetih vzorcev mekonijev ugotovili, da so v vseh vzorcih mekonija novorojenčkov, pri katerih so imele matere v preteklosti težave z ekcemom ter pri dveh tretjinah otrok, pri katerih se je pojavil atopični ekcem do četrtega leta starosti, prevladovala enterobakterije (predvsem rodova *Escherichia* in *Shigella*) (Gosalbes in sod., 2013).

Podobno študijo so izvedli tudi Björkstén in sod. (2001), ki so prav tako primerjali mekonij novorojenčkov, pri katerih se je razvila alergija, z mekonijem zdravih otrok. Ugotovili so nižje število enterokokov, bifidobakterij ter bakterij rodu *Bacterioides* in večje število stafilokokov ter klostridijev pri alergičnih otrocih.

2.4 PREHRANA

Zdrava in uravnotežena prehrana matere v času pred nosečnostjo, med nosečnostjo in dojenjem ter prehrana otroka v prvem letu starosti vpliva na razvoj otroka in ima dolgoročne učinke na njegovo zdravje v odrasli dobi (Singhal in sod., 2004; Patel in Srinivasan, 2011). Govorimo o tako imenovanem presnovnem programiranju (*angl.*

metabolic programming) (Lucas, 1998) ali presnovnem vtisu (*angl.* metabolic imprinting) (Waterland in Garza, 1999).

2.4.1 Prehrana noseče in doječe matere

Pestra in uravnotežena prehrana ter redni obroki noseče in doječe matere so, poleg zadostnega vnosa tekočine, izrednega pomena za zdravje matere in njenega otroka (Koletzko in sod., 2010).

Za uspešen pre- in postnatalni razvoj dojenčka mora prehrana matere v času nosečnosti in dojenja vsebovati dovolj večkrat nenasičenih maščobnih kislin (*angl.* polyunsaturated fatty acids, PUFA), predvsem so tu pomembne dolgoverižne, večkrat nenasičene maščobne kislin (*angl.* long-chain polyunsaturated fatty acids, LCPUFA), kamor sodijo tudi omega-3 maščobne kisline, dokozaheksaenojska (DHA; 22 : 6, ω -3) in eikozapentaenojska (EPA; 20 : 5, ω -3), saj jim pripisujejo širok spekter delovanja. Med nosečnostjo se LCPUFA, posebej DHA in arahidonska kislina (AA; 20 : 4, ω -6), prenašajo iz placente v plod. Zadostna oskrba z LCPUFA, zlasti z DHA, je pomembna v času hitre rasti in diferenciacije živčnega sistema zarodka v zadnji tretjini nosečnosti ter v prvem letu življenja (Fidler Mis, 2004; Koletzko in sod., 2007). Omenjene maščobne kisline so potrebne za razvoj ostrine vida ter rast in psihomotorični razvoj. PUFA delujejo, podobno kot probiotiki, protimikrobno (na primer linolenska kislina lahko s svojo prisotnostjo onemogoči rast bakterijam *Staphylococcus aureus*) (Lacey in Lord, 1981). Ker inhibirajo škodljive bakterije, prisotne v prebavnem traktu (Kalliomäki in sod., 2001), in povečajo adhezijske sposobnosti pozitivnih bakterij, koristno sodelujejo pri kolonizaciji črevesja (Fidler in sod., 2000; Kluthe, 2010). V novejših raziskavah pa poročajo tudi o preventivnih učinkih DHA in EPA pred alergijami (Koletzko in sod., 2007). LCPUFA, kot potencialne protivnetne snovi (Das in sod., 1988; Das, 1991; Das, 1994), pomagajo pred pretiranim imunskim odzivom in zmanjšajo vnetne procese, ki lahko vodijo v različna akutna ali kronična bolezenska stanja (Calder, 2006). Protivnetni učinki se kažejo v manjšem izločanju provnetnih citokinov TNF, IL-1, IL-6 in IL-8 ter manjšem nastajanju reaktivnih kisikovih zvrsti (Calder, 2009).

Vir PUFA (ω -3 in ω -6) predstavljajo predvsem morske ribe (tudi EPA, DHA), alge (DHA), chia semena (linolenska), konoplino (linolenska), laneno (linolenska), sončnično (linolna) in koruzno olje (linolna), prav tako pa jih je nekaj tudi v mesu in jajcih (AA) (AMR, 2009). Zaradi možne vsebnosti nečistoč priporočajo nosečnicam in doječim materam, da uživajo predvsem drobne, mlade ribe, ne pa večjih plenilskih (na primer tune ali morskega psa) (EFSA, 2004).

Prehrana doječe matere mora zagotoviti dovolj hranil za tvorbo in ustrezno sestavo mleka, saj se v primeru nezadostnega vnosa hranil s prehrano ta zagotavljajo na račun praznjenja njenih zalog v organizmu (Institute of Medicine., 1991; Koletzko in sod., 2002). To velja zlasti za vsebnost kalcija, folne kisline (Mackey in Picciano, 1999), fosforja, magnezija, natrija in kalija (Institute of Medicine., 1991; Koletzko in sod., 2002). Različne študije so ugotavljale tudi pomen prehrane doječe matere na vsebnost joda (Semba in Delange, 2001) in selen (Institute of Medicine., 1991) v materinem mleku. Od prehrane doječe matere in njenih zalog v organizmu pa je odvisna tudi vsebnost vitaminov v njenem mleku (Valentine in Wagner, 2013).

Za izogibanje določenim živilom, kot preventiva pred alergijo ni utemeljenih znanstvenih dokazov (Kleine-Tebbe in sod., 2009), poleg tega pa nepotrebno omejevanje uživanja živil lahko ogrozi normalno oskrbo doječe matere z vsemi potrebnimi hranili (Koletzko in sod., 2010). Ugotavljajo celo, da lahko razvoj tolerance poteka že med nosečnostjo, ko se pri zarodku odvija proces klonske selekcije in apoptoze. To je faza, v kateri makrofagi v timusu limfocitom T predstavijo telesu lastne antigene. Limfociti T, ki nosijo T-celični receptor (TCR) za te antigene, propadejo. Ta proces, ki poteka le pri zarodku, je osnova za toleranco na telesu lastne antigene. Uživanje alergogene hrane v času nosečnosti naj bi torej po mnenju nekaterih strokovnjakov celo zmanjšalo možnosti za razvoj alergije pri otrocih (Behrman in sod., 2004).

Izsledki novejših raziskav kažejo, da lahko uživanje probiotikov v času nosečnosti in dojenja vpliva na mikrobioto mleka, pa tudi, da je lahko humano mleko vir potencialno probiotičnih bakterij, z varovalnim učinkom (Jiménez in sod., 2008; Arroyo in sod., 2010).

2.5 HUMANO MLEKO – DOJENJE

Humano mleko je edinstvena biološka tekočina, namenjena dojenčku. Dojenje predstavlja tako s prehranskega kot tudi fiziološkega in psihološkega vidika najbolj zdrav način prehranjevanja novorojenca. Mleko zdravih in dobro prehranih mater zagotavlja vse hranljive in funkcionalne snovi, ki jih otrok potrebuje za razvoj v prvem življenjskem obdobju (Smolin in Grosvenor, 2008), ter v celoti pokriva vse njegove potrebe po hranilih v prvih šestih mesecih (Chen in sod., 1997).

Sestava humanega mleka se med dojenjem spreminja. Ločimo tri različne stadije: kolostrum, mleko v prehodnem obdobju in zrelo mleko (Lutter, 2005).

Hranilne snovi, beljakovine, maščobe in ogljikovi hidrati natančno ustrezajo potrebam otroka (Skale, 2010). Poleg osnovnih hranil vsebuje humano mleko številne snovi, ki dojenčka ščitijo pred boleznimi. Te snovi imajo t. i. imunološke funkcije in zajamejo širok spekter različnih substanc, kot so protitelesa, bifidogeni dejavniki, laktoferin, rastni faktor, encim lipaza. Glede na to, da je dojenček v prvem letu starosti izpostavljen okužbam in različnim vrstam obolenj, imajo zaščitne snovi izredno pomembno vlogo (Rolfes in sod., 2006).

Humano mleko vsebuje pomembni esencialni maščobni kislini, linolno (18 : 2, ω -6) in α -linolensko kislino (18 : 3, ω -3) ter pogojno esencialne LCPUFA (Koletzko in sod., 2001), na primer DHA in AA. Delež DHA v zrelem humanem mleku znaša od najmanj 0,05 do 0,14 ut. % pri vegetarijankah (Finley in sod., 1985; Reddy in sod., 1994) do največ 1,40 ut. % pri materah, ki žive ob morju ali na otokih in uživajo veliko morskih rib (Fidler in sod., 2000; Brenna in sod., 2007).

Preglednica 2: Povprečna vsebnost večkrat nenasičenih maščobnih kislin v zrelem humanem mleku (Das, 2002).

Maščobne kisline:	ut. %
linolna kislina (18 : 2, ω -6)	10,76
γ -linolenska kislina (18 : 3, ω -6)	0,16
dihomo- γ -linolenska kislina (20 : 3, ω -6)	0,26
arahidonska kislina (AA) (20 : 4, ω -6)	0,36
α -linolenska kislina (18 : 3, ω -3)	0,81
eikozapentaenojska kislina (EPA) (20 : 5, ω -3)	0,04
dokozapentaenojska kislina (DPA) (22 : 5, ω -3)	0,17
dokozaheksaenojska kislina (DHA) (22 : 6, ω -3)	0,22
vseh ω -6 večkrat nenasičenih maščobnih kislin	11,54
vseh ω -3 večkrat nenasičenih maščobnih kislin	1,24
vseh ω -6/ ω -3 večkrat nenasičenih maščobnih kislin	9,31

Maščobnokislinska sestava humanega mleka je v veliki meri odvisna od prehrane matere v daljšem časovnem obdobju, že pred in med nosečnostjo (van Houwelingen in sod., 1995; Connor in sod., 1996) in ne le v času dojenja (Uauy in sod., 1996). V primeru, da s prehrano mati ne zaužije zadostnih količin LCPUFA, priporočajo strokovnjaki dopolnjevanje prehrane s prehranskimi dopolnili (EFSA, 2012).

Poleg hranil in zaščitnih snovi so pomembna komponenta humanega mleka tudi mikroorganizmi. Ocenjujejo, da dojenček, ki popije približno 800 ml materinega mleka, dobi od 1×10^5 do 1×10^7 bakterij. Najpogostejše najdeni mikroorganizmi v humanem mleku so stafilokoki, streptokoki, mikrokoki, laktobacili, bifidobakterije in enterokoki (Martín in sod., 2005).

Genotipizacija sevov iz materinega mleka in blata njihovih dojenčkov je pokazala, da je materino mleko pomemben vir bakterij, ki poseljujejo dojenčkov prebavni trakt (Martín in sod., 2003; Dominguez-Bello in sod., 2010). V eni od študij so raziskovali prisotnost mlečnokislinskih bakterij v humanem mleku zdravih mater ter njihov vpliv na velikost in sestavo novorojenčkove črevesne mikrobiote. Da bi ugotovili izvor teh bakterij ter ali dojenje vpliva na mikrobo kolonizacijo dojenčkovega prebavnega trakta, so vzeli vzorce tudi z bradavic, kože dojk in vagine ter izolirali mlečnokislinske bakterije iz blata dojenčkov in sluznice njihove ustne votline. Potrdili so, da mlečnokislinske bakterije, ki sestavljajo črevesno mikrobioto dojenčka, izvirajo predvsem iz materinega mleka in ne iz vaginalne mukoze ali materine kože. Sevi, izolirani iz vagine in kože, so se namreč razlikovali od sevov, izoliranih iz mleka, blata in ustne votline dojenčka. S tem so dokazali, da ima način poroda manjši vpliv na mikrobioto novorojenčka, kot so predvidevali prej (Martín in sod., 2003). Tako lahko sklepamo, da dojenje sodi med pomembne dejavnike črevesne kolonizacije novorojenčka.

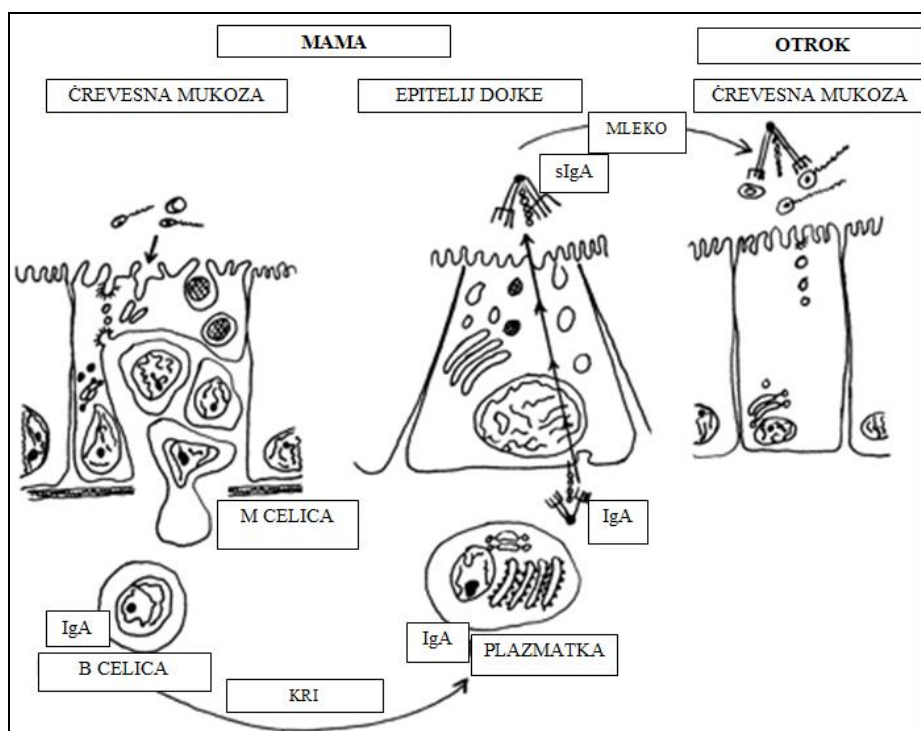
2.5.1 Vpliv dojenja na pojavnost alergij (atopij)

Poleg zaščite pred okužbami ima humano mleko dokazano tudi zaščitne učinke proti razvoju alergij in bolezni, kot sta astma in dermatitis (van den Bogaard in sod., 1993; Rolfes in sod., 2006). Še posebej pomembno vlogo ima pri otrocih z atopično družinsko obremenitvijo (Felc in Skale, 2010).

Študije kažejo, da je pojav ekcema in astme pri dojenčkih precej manjši kot pri zalivančkih. Vpliv dojenja na atopijo pa ni omejen le na čas dojenja, temveč je viden vsaj do tretjega leta starosti (Chandra, 1997), po mnenju nekaterih strokovnjakov celo do adolescence (Felc in Skale, 2010). Natančen razlog za to ni povsem znan, predvidevajo pa, da ima ravno maščobnokislinska sestava mleka pomembno vlogo. Znano je, da lahko PUFA, predvsem γ -linolenska kislina, AA, EPA in DHA ugodno vplivajo na imunski odziv ter izločanje citokinov Th1, IL-1 in TNF- α (Endres in sod., 1989; Kumar in sod., 1992; Kumar in Das, 1994). Še posebej pomembno vlogo imata EPA in DHA (Kelley in sod., 1998). Nekateri PUFA dokazano vplivajo na uravnavanje ravnotežja Th1 (okrepi) in Th2 (zmanjša), kar pripomore k zmanjšanju atopij. Nekateri raziskovalci poudarjajo, da je uravnavanje odziva Th1 in Th2 odvisno tudi od razmerja ω -3 : ω -6. Višje kot je razmerje ω -6 : ω -3, bolj gre imunski odziv v smer Th1, nižja vrednost tega razmerja pa spodbudi Th2 odziv. Ravno humano mleka pa je zelo bogat vir ω -6 (Kumar in Das, 1994).

Varovalni učinek proti pojavu atopijskega dermatitisa (AD) pa naj bi imele tudi beljakovine materinega mleka (Bratanič in sod., 2010). Humano mleko vsebuje mnoge imunoglobuline (IgA, sIgA, IgE, IgG, IgM), limfocite T in B, spominske limfocite T, komplement, IL-10, INF- γ , lizocim, antioksidante ter epiteljske rastne faktorje (Felc in Skale, 2010). Vse te snovi ščitijo otroka pred infekti in spodbujajo njegov imunski sistem. Z dojenjem se otrok izogne tudi izpostavljenosti prehranskim alergenom, upočasnjeno ali preprečeno pa je tudi vsrkavanje alergenov skozi črevesno sluznico. Z vidika alergij pomembno vlogo pripisujejo imunoglobulinom IgA. Na sliki 7 lahko vidimo prehod IgA protiteles iz matere na dojenčka. Sekretorni IgA (sIgA) iz materinega mleka se veže na antigene hrane in preprečuje njihov prehod skozi črevesno sluznico otroka, dokler je ta bolj prehodna. To je najpomembneje v zgodnjih mesecih otrokovega življenja do začetka tvorbe otrokovih lastnih sIgA. Materino mleko tako preprečuje tudi stik otroka s tujimi beljakovinami in patogeni ter upočasnjuje ali preprečuje vsrkavanje antigenov skozi otrokovo črevesno sluznico (Newburg, 2005; Felc in Skale, 2010).

Priporočilo strokovnjakov je izključno dojenje šest mesecev, kateremu sledi nadaljevanje dojenja ob uvajanju dopolnilne prehrane dve ali več let (WHO/UNICEF, 2003). Pri otrocih z genetsko nagnjenostjo za razvoj alergije na hrano, ki niso dojeni, pa se do 4. meseca starosti svetuje hranjenje z mlečnimi formulami, ki vsebujejo ekstenzivno hidrolizirane beljakovine kravjega mleka (Accetto, 2002). Po priporočilih Evropskega združenja za pediatrično gastroenterologijo, hepatologijo in nutricionistiko (ESPGHAN) naj bi se dopolnilno prehrano začelo uvajati med 17. in 26. tednom starosti (Agostoni in sod., 2008).



Slika 7: Prenos imunskega sistema matere na dojenega otroka s prehodom IgA protiteles iz humanega mleka na dojenčka; IgA protitelesa prehajajo prek epitelijske dojke, kjer se glikolizirajo (sIgA) ter preidejo v mleko (prirejeno po: Newburg, 2005).

2.6 PROBIOTIKI

2.6.1 Definicija probiotikov

Koncept probiotikov je, poleg raziskovalcev Mora in Tissiera, na prelomu iz 19. v 20. stoletje vpeljal ruski znanstvenik in nobelovec Ilya Metchnikoff, ki je menil, da je življenjska doba bolgarskih kmetov daljša zaradi uživanja fermentiranega mleka. Temeljito je opisal in poudaril pomen črevesne mikroflore za človekovo zdravje (Vasiljevic in Shah, 2008). Izraz probiotik je leta 1974 prvič uporabil Parker za opis dodatkov živalski krmi kot »organizmi in substance, ki pripomorejo k ohranjanju črevesne mikrobne združbe« (Vasiljevic in Shah, 2008).

Leta 1989 je Fuller preoblikoval definicijo probiotikov v »živ mikrobní dodatek krmi, ki ugodno vpliva na žival gostiteljico, z izboljšanjem njenega mikrobnege ravnotežja« (Fuller, 1989). Definicija je bila dolgo omejena samo na živalsko prehrano, šele leta 1992 sta Havenaar in Huis in't Veld predlagala razširitev definicije tudi na humano prehrano. Probiotike sta opisala kot »mono- ali mešane kulture živih mikroorganizmov, ki koristno učinkujejo na človeka ali žival, z uravnavanjem črevesne mikroflore« (Vasiljevic in Shah, 2008).

Danes je uveljavljena definicija, ki pravi, da je probiotik živ mikroorganizem, ki ima koristne učinke na zdravje gostitelja, kadar ga ta zaužije v zadostnem številu (FAO/WHO, 2002).

2.6.2 Osnovne značilnosti probiotikov

Probiotiki so nepatogeni in netoksični mikroorganizmi, ki lahko vplivajo na fiziologijo gostitelja tako, da okrepijo črevesni in sistemski imunski odziv ter izboljšajo prehransko in mikrobovno ravnovesje v prebavilih (Rogelj in Bogović Matijašič, 2004). Probiotični mikroorganizmi morajo preživeti prehod do črevesa v zadostnem številu in biti sposobni vezave na črevesno površino. Odporni morajo biti torej proti nizki vrednosti pH ter žolčnim solem. Imeti morajo ugodne učinke na gostitelja in antagonistično delovati proti patogenim mikroorganizmom (Biavati in sod., 2000; Rogelj in Bogović Matijašič, 2004).

Sposobnost preživetja v pogojih prebavnega trakta in vsaj začasna kolonizacija sta v skladu z definicijo pomembni osnovni značilnosti probiotičnega mikroorganizma, kljub temu da nekateri raziskovalci navajajo, da imajo pozitiven vpliv na imunski sistem gostitelja tudi celični kompleksi (deli celic ali mrtve celice) in ne le žive celice (Adams, 2010).

Največ danes poznanih probiotičnih bakterij pripada rodovoma *Lactobacillus* in *Bifidobacterium*, kar je delno posledica njihove tradicionalne povezave z zdravjem, naravne prisotnosti v prebavnem traktu in fermentirani hrani, pa tudi tako imenovanega statusa GRAS (Generally Recognized as Safe), ki jim daje sloves »varnih« mikroorganizmov, saj jih ljudje v fermentirani hrani uživajo že tisočletja (Rogelj in Perko, 2003).

Preglednica 3: Mikroorganizmi, ki se najpogosteje uporabljajo kot probiotiki (Rogelj in Perko, 2003).

Rod <i>Lactobacillus</i>	Rod <i>Bifidobacterium</i>	Druge mlečnokislinske bakterije	Drugi mikroorganizmi
<i>Lb. acidophilus</i> <i>Lb. casei</i> <i>Lb. delbrueckii ssp. bulgaricus</i> <i>Lb. gasseri</i> <i>Lb. rhamnosus</i> <i>Lb. plantarum</i> <i>Lb. reuteri</i> <i>Lb. johnsonii</i> <i>Lb. fermentum</i> <i>Lb. salivarius</i>	<i>B. adolescentis</i> <i>B. lactis</i> <i>B. bifidum</i> <i>B. breve</i> <i>B. infantis</i> <i>B. longum</i> <i>B. animalis</i> <i>(lactis)</i>	<i>Enterococcus faecalis</i> <i>Enterococcus faecium</i> <i>Lactococcus lactis</i> <i>Leuconostoc mesenteroides</i> <i>Pediococcus acidilactici</i> <i>Streptococcus thermophiles</i>	<i>Escherichia</i> <i>Propionibacterium</i> <i>freudenreichii</i> <i>Saccharomyces boulardii</i>

Učinkovitost probiotikov je sečno specifična, kar pomeni, da je potrebno vsak probiotični sev preskusiti in oceniti njihove koristi za zdravje (Sanders, 2008).

2.6.3 Varnost probiotikov

Kljub dolgotrajni tradiciji uživanja mlečnokislinskih bakterij v fermentirani hrani oziroma njihovi normalni prisotnosti v človeški črevesni mikrobioti se moramo zavedati, da gre za mikroorganizme s spremenljivim genomom, zaradi česar obstaja možnost, da bi okužila gostitelja (Reid in sod., 2003). Ker so probiotični izdelki neomejeno dostopni uporabnikom, morajo imeti natančno določeno sestavo, primerno terapevtsko širino, majhno tveganje za neželene učinke in ne smejo biti genotoksični ali kancerogeni (Saarela in sod., 2002). Probiotiki morajo biti genetsko stabilni ter ne smejo vsebovati prenosljivih

genov (plazmidov) za odpornost proti antibiotikom (Mattila-Sandholm, 2003). Če vsebujejo probiotične bakterije gene za odpornost proti antibiotikom, moramo izključiti možnost, da se ti lahko prenesejo na druge bakterije (Biavati in sod., 2000).

Sevi, ki se uporabljajo kot probiotiki, morajo biti natančno taksonomsko identificirani (Mattila-Sandholm, 2003). Proizvajalci probiotikov morajo zagotoviti, da je celoten nabor pripravkov izdelan po natančno določenih selekcijskih merilih (Saarela in sod., 2002), ki določajo varnostne, funkcionalne in tehnološke postavke (Reid in sod., 2003). Zaželeno je tudi, da so humani izolati (Mattila-Sandholm, 2003).

Do nekaterih novih dognanj o varni uporabi mlečnokislinskih bakterij za humano uživanje so v obdobju od 2002 do 2006 prišli tudi v okviru evropskega projekta PROSAFE (Biosafety evaluation of probiotic lactic acid bacteria used for human consumption). Rezultat projekta so tudi priporočila za merila, standarde, zakonodajo in uvedbo novih standardiziranih metod za preskušanje varnosti probiotikov pred prihodom na tržišče ter že obstoječih na tržišču (Rastall in sod., 2005).

Uporaba probiotikov pri zdravljenju kroničnih bolezni naj ne bi imela stranskih učinkov, kar je značilno za uporabo večine zdravil. Prav tako je zaželeno, da ni negativnih medsebojnih učinkov med probiotiki in ostalimi zdravili (Baelde in sod., 2005). Vendar pa, kljub temu da se probiotični mikroorganizmi zadržijo v prebavnih poteh navadno le nekaj dni (Mattila-Sandholm in sod., 2002), še vedno obstaja majhna možnost tveganja uporabe probiotikov. V literaturi je že opisan pojav fungemije v povezavi s kvasovko *Saccharomyces boulardii* (Hennequin in sod., 2000). Za nekaj sevov iz rodu *Enterococcus* se je izkazalo, da so zmožni povzročiti okužbe, saj so bili izolirani iz kliničnih vzorcev v primerih endokarditisa, okužb ran in sečil ter še nekaterih drugih zapletih (Franz in sod., 1999). Prav tako še nimamo prepričljivih dokazov o povezavi med adhezijskimi sposobnostmi bakterij in njihovo varnostjo. Domneva se, da adhezijska in kolonizacijska sposobnost lahko povečata pojavnost okužb, kar se je pokazalo pri laktobacilih. Laktobacili, izolirani iz kliničnih vzorcev pri miokarditisu, so imeli povečano sposobnost vezave na fibronektin, fibrinogen in kolagen (Rastall in sod., 2005). Primeri okužb s sevi iz rodu *Lactobacillus* so izjemno redki in večinoma omejeni na bolnike z oslabljeno imunostjo. Opisana je tudi možnost čezmerne stimulacije imunskega sistema pri bolnikih z artritisom (Senok in sod., 2005).

2.6.4 Mehanizem delovanja probiotikov ter koristni učinki na zdravje človeka

Probiotiki delujejo po različnih mehanizmih. Že Ilya Metchnikoff je zapisal, da so predstavniki rodu *Lactobacillus* sposobni nevtralizirati amine, amonijak in druge strupene snovi ter tako vzpostaviti pravilno ravnotežje v mikrobioti, s tem pa preprečiti degenerativne bolezni in izboljšati kakovost življenja potrošnikov. Metchnikoff je tudi domneval, da bakterije tega rodu zavirajo širjenje nezaželenih mikroorganizmov ter jim tako pripisoval koristen vpliv na zdravje in staranje ljudi (Metchnikoff, 1908; Anukam in Reid, 2007; Looijer van Langen in Madsen, 2010).

Probiotiki lahko delujejo na različnih ravneh: sodelujejo v metabolizmu, delujejo protimikrobno, spodbujajo obnovo in krepitev črevesne pregrade ter učinkujejo na imunski sistem gostitelja.

Probiotične bakterije so sposobne z mehanizmom kompetitivnega izločanja zasesti mesto na črevesni sluznici, kamor se sicer pripenjajo patogene bakterije, ki tako sprožijo črevesno okužbo (Arribas in sod., 2008). Naselitev patogenov, kot so *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, β -hemolitični streptokoki, ki povzročajo infekcije ob zmanjšani imunski odpornosti (Biavati in sod., 2000; Saxelin in sod., 2005), preprečujejo tudi s tvorbo protimikrobnih snovi, kot so bakteriocini in mlečna kislina ter s kompeticijo za hranilne snovi (Arribas in sod., 2008). Čas zadrževanja probiotika v prebavilih podaljša njegova adhezijska in kolonizacijska sposobnost, kar še poveča učinkovitost odstranjevanja neželenih črevesnih bakterij (Rastall in sod., 2005).

Probiotiki delujejo tudi na črevesno motiliteto, izboljšujejo črevesno propustnost in izločanje sluzi (Ohland in Macnaughton, 2010).

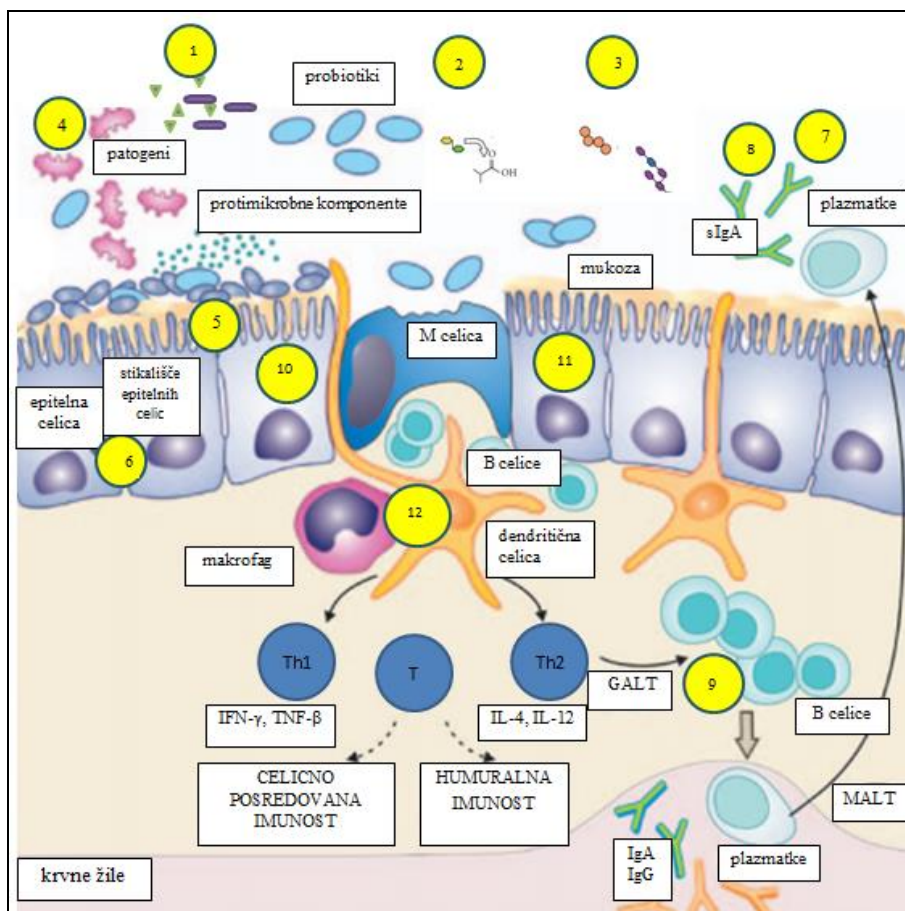
Probiotiki uravnavajo homeostazo obrambnih mehanizmov, saj so sposobni z aktivacijo imunskih celic inducirati imunske mehanizme proti kroničnim okužbam (McCracken in Gaskins, 1999). Probiotiki spodbujajo sintezo sekretijskega imunoglobulina A (sIgA) v plazmatskih celicah črevesne sluznice in vplivajo na citokinske odgovore. Obenem pa vplivajo tudi na povečanje deleža limfocitov T, makrofagov in naravnih celic ubijalk (Ouweland in sod., 2002; Reid in sod., 2003).

Dva glavna rodova probiotičnih bakterij s protimikrobnim delovanjem sta rod *Lactobacillus* in *Bifidobacterium*. Protimikrobno delujeta na več načinov: kompeticija s patogenimi mikroorganizmi za receptorska mesta in hranila, sinteza protimikrobnih snovi, sinteza kratkoveržnih maščobnih kislin, znižanje vrednosti pH črevesne svetline, sinteza mucinov in drugo. Bakterije teh rodov lahko stimulirajo ali spremenijo nespecifični in specifični imunski odziv proti patogenim bakterijam ter omogočajo zaščito pred strukturnimi in funkcionalnimi poškodbami, ki jih povzročajo enteropatogeni mikroorganizmi v enterocitih (Arnoldi, 2004; Eshach Adiv in sod., 2004).

Probiotiki sintetizirajo tudi različne aminokisline (glutamin in arginin), encime ter vitamine (Gobbetti in sod., 2010). Tako lahko gostitelja oskrbijo z določenimi biološko aktivnimi snovmi, ki jih sam ne more tvoriti. Za bifidobakterije je dokazano, da v prebavilih sintetizirajo vitamine, kot so vitamin B₁, B₂, B₆ in K. Poleg šibke proteolitične aktivnosti mlečnokislinske bakterije tudi povečajo absorpcijo kalcija iz prebavil (Singhi, 2007).

Metabolični učinki probiotikov so tudi: izboljšana absorbcija vitaminov in mineralov, manjše število toksičnih reakcij, razgradnja in izločanje žolčnih soli (kar ima za posledico zmanjšanje koncentracije holesterola v serumu), regulacija absorbcije LCPUFA ter hidroliza laktoze (Saarela in sod., 2002; Kankaanpää in sod., 2004). Probiotiki izločajo baktericidne in bakteriostatične snovi, znižujejo vrednost pH črevesne vsebine oziroma okolja, v katerem živijo, delujejo antimutageno in antikancerogeno, vzpostavijo mikrobno

ravnotežje v črevesju pri zdravljenju z antibiotiki (Biavati in sod., 2000; Saxelin in sod., 2005).



Slika 8: Shematični prikaz mehanizmov delovanja probiotičnih mikroorganizmov; 1. Tekmovanje za prebiotike in hranila; 2. Metabolizem (na primer fermentacija sladkorjev); 3. Produkcija rastnih faktorjev; vitaminov; 4. Produkcija protimikrobnih snovi (bakteriocini); neposredna inhibicija patogenov; 5. Kompetitivno izločanje (zasedanje mest na črevesnih epitelih celicah); uničenje patogenov; 6. Ojačanje barijerne funkcije; 7. Zmanjšanje vnetnih procesov; regulacija protivnetnih citokinov ter inhibicija produkcije vnetnih citokinov; 8. Stimulacija imunskega sistema; 9. Stimulacija proizvodnje IgA protiteles 10. Pospeševanje rasti epitelne celice; 11. Modulacija imunskega sistema prek epitelne celice; 12. Modulacija imunskega odziva prek dendritičnih celic in makrofagov; T – T-celice. (prirejeno po: Kirjavainen in sod., 1999; Ihan, 2002; Kekkonen in sod., 2009; Gourbeyre in sod., 2011).

2.6.5 Uporaba probiotikov v pediatriji

V zadnjem desetletju narašča tudi uporaba probiotikov pri novorojencih in otrocih (Weichselbaum, 2009).

Glede na dovzetnost otrok za okužbe in to, da v zgodnjem otroštvu črevesna sluznica še dozoreva, je uporaba probiotikov pri otrocih zelo koristna (Weichselbaum, 2009), vendar je potrebno omeniti, da tudi pri novorojenčku jemanje probiotikov ne zagotavlja stalne naselitve (Gueimonde in sod., 2006).

Probiotiki so se pokazali za koristne pri zdravljenju številnih bolezni, ki se pojavljajo v otroški dobi, kot so akutni virusni enteritis, atopični dermatitis in driska zaradi antibiotičnega zdravljenja (Weichselbaum, 2009). Ublažijo lahko laktozno intoleranco z zagotavljanjem β galaktozidaze ter zavirajo rast *H. pylori* (Biavati in sod., 2000; Saxelin in sod., 2005).

Najpogostejša indikacija in najboljši klinični učinek probiotikov je opisan pri zdravljenju in preprečevanju infekcijske driske in driske, povzročene z uporabo antibiotikov (Weichselbaum, 2009). Eden najbolj raziskanih probiotičnih mikroorganizmov pri črevesnih infekcijah je zagotovo sev *Lb. rhamnosus* GG. Prvotno je bil izbran zaradi dobre odpornosti proti kislinam in žolčnim solem, sposobnosti vezave na črevesno sluz, sposobnostičasne naselitve prebavil ter produkcije protimikrobnih snovi (Goldin in sod., 1992). Različne študije so pokazale, da sev *Lb. rhamnosus* GG zmanjša intenzivnost ter skrajša čas trajanja rotavirusnih drisk pri otrocih (Majamaa in sod., 1995; Raza in sod., 1995; Sheen in sod., 1995; Pant in sod., 1996; Saarela in sod., 2002).

Mlečnokislinske bakterije, pritrjene na epitelij, lahko prek dendritičnih celic pridejo tudi v limfni sistem in potujejo po telesu ter na ta način pridejo do mlečnih žlez (Martín in sod., 2004). Raziskovalci poročajo o neposrednem prenosu komercialnih probiotikov, ki so jih uživale doječe matere, iz njihovega črevesja v mleko (Heikkilä in Saris, 2003; Jiménez in sod., 2008). Rezultati kažejo na to, da tako komezalne bakterije, kot tudi probiotične bakterije, prisotne v običajnih mlečnih izdelkih, lahko po zaužitju prehajajo v materino mleko (Arroyo in sod., 2010) po endogeni poti (t. i. črevesno-mlečni poti) prek z mukozo povezanega limfatičnega sistema (Perez in sod., 2007; Jiménez in sod., 2008). To pomeni, da lahko mama z dodajanjem probiotikov v svojo prehrano neposredno vpliva na razvoj črevesne mikrobiote svojega otroka (Martín in sod., 2004). V eni od raziskav so doječe matere pred porodom in med dojenjem razvrstili v dve skupini. Prva skupina je uživala probiotik *Lb. rhamnosus* GG, druga pa PLACEBO. Ugotovili so, da imajo otroci mater, ki so uživale probiotik in so svoje otroke vsaj tri mesece samo dojile, bistveno več imunoglobulinov (IgM, IgA in IgG) kot otroci mater, ki so dobivale PLACEBO (Amarri in sod., 2006).

Zanimiva je raziskava, v kateri so matere, obbolele za mastitisom, dnevno uživale 10^{10} ke *Lb. salivarius* CECT5713 in enako količino *Lb. gasseri* CECT5714, ki s produkcijo vodikovega peroksida zavirata rast stafilokokov, ki povzročajo mastitis. Pri materah, ki so uživale te probiotike, se je mastitis ozdravil, medtem ko se materam v kontrolni skupini stanje ni izboljšalo. Prav tako pa so tudi v mleku mater, ki so uživale probiotika, našli oba seva laktobacilov, kar je spet dokaz, da z dodajanjem laktobacilov v prehrano doječih mater ti probiotiki pridejo tudi v njene mlečne žleze in mleko (Jiménez in sod., 2008).

Kok in sod. (1996) navajajo raziskavo, v kateri so dodajali bifidobakterije v formulo za dojenčke. Raziskovalci so našli bifidobakterije v dojenčkovem blatu že tretji dan hranjenja s tako formulo.

2.6.5.1 Uporaba probiotikov pri zdravljenju in preprečevanju alergijskih bolezni

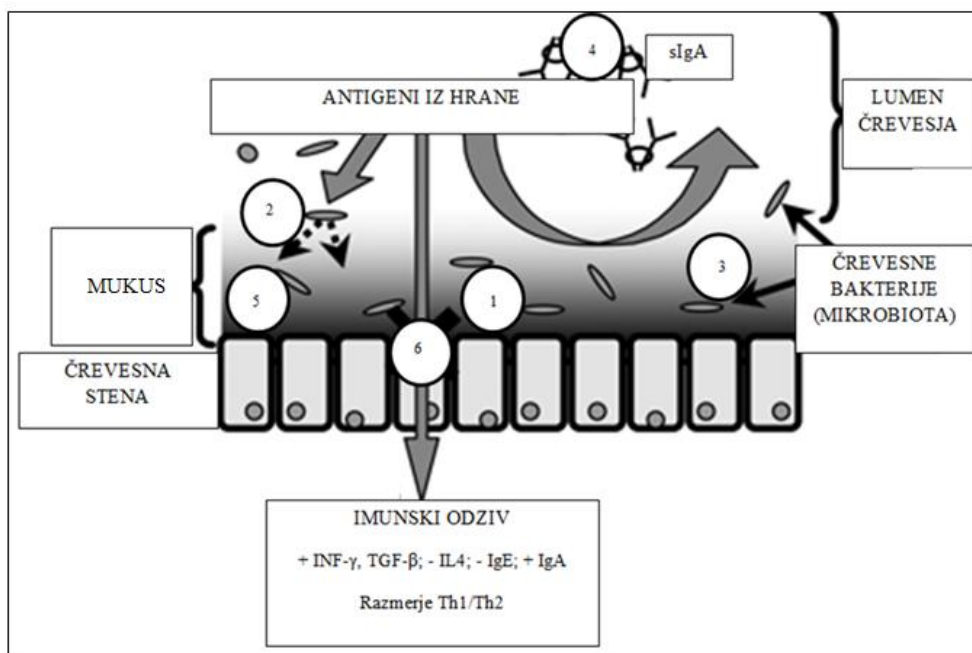
Dokazano je, da nekateri probiotični sevi vplivajo na pojavnost alergij in težo klinične slike pri atopičnih boleznih ter da zgodnja uporaba probiotikov lahko zmanjša alergijsko senzibilizacijo (Weichselbaum, 2009). Probiotiki lahko vplivajo na imunski sistem, s tem pa posledično na pojavnost alergij na različne načine: z njihovo metabolično aktivnostjo, vplivom na barierno funkcijo ali modulacijo imunskega odziva (regulacija odgovorov T-celic in dvig Th1 odziva, vpliv na humoralni odziv ...).

Znano je, da probiotiki vplivajo na delovanje črevesne pregrade in pomagajo uravnati izločanje vnetnih mediatorjev. V tem primeru je vpleteno limfno tkivo črevesja, ki predstavlja eno od treh linij naravne odpornosti v črevesju (Isolauri, 2004). Črevesna mikrobiota tvori mukozo in biofilme ter vpliva na izražanje gostiteljevih genov, vključenih v vzdrževanje bariernih funkcij in tako posledično na prehod alergenov iz hrane (Saxelin in sod., 2005; Walker, 2008). Ugotovili so, da z uživanjem probiotikov lahko vplivamo na okrepitev barierne funkcije, relativno prepustnega črevesnega epitela pri novorojenčkih, kar se je zaradi pomembnosti črevesne permeabilnosti v patogenezi prehranskih alergenov ter ekcemu pokazalo za izredno koristno (Arvola in sod., 2004). Pri otrocih, ki so imeli težave z ekcemom, sta *Lb. rhamnosus* in *Lb. reuteri* zmanjšala permeabilnost črevesne sluznice (Rosenfeldt in sod., 2004). Prav takšen vpliv je imel tudi *Lb. rhamnosus* GG pri otrocih z alergijami na kravje mleko in težavami z ekcemom (Kuitunen in sod., 2007).

Probiotiki lahko zmanjšajo preobčutljivost na prehranske antigene in pojav alergije z razgradnjo in modifikacijo teh makromolekul (Pessi in sod., 1998). Metabolizem mlečnokislinskih bakterij zniža pH vrednost v črevesju, kar izboljša razgradnjo prehranskih alergenov na manj alergene fragmente (Untersmayr in sod., 2005).

Določeni probiotični sevi dokazano učinkujejo na vnetne procese in preprečujejo/blazijo alergijske reakcije (Saarela in sod., 2002). Vemo, da lahko spremenjena črevesna mikrobiota vpliva na vztrajanje imunskega odziva Th2 (Weston in sod., 2005), ki je osnova napačnega odziva imunskega sistema na neškodljive antigene iz okolja (Ihan, 2000). Probiotiki lahko spodbudijo zamudno dozorevanje Th1 pri otrocih z dedno predispozicijo k atopičnemu dermatitisu (Taylor in sod., 2007). Odkrili so, da lipopolisaharidi sten nekaterih laktobacilov spodbujajo sintezo IL-12 v dendritičnih celicah, kar je ključnega pomena za polarizacijo limfocitov T v smeri Th1 (Holt in sod., 1997). Probiotične bakterije lahko izzovejo vnetne in protivnetne odzive prek posebnih receptorjev (TLRs) na dendritičnih celicah v epiteliju črevesja ter uravnavaajo imunski odziv, specifično glede na sev (Hart in sod., 2004; Walker, 2008). Prav tako lahko lajšajo vnetne alergijske reakcije z indukcijo (s stimulacijo) produkcije IL-12, IL-18 in IFN- γ (Majamaa in Isolauri, 1997; Miettinen in sod., 1998). *Lb. rhamnosus* GG dokazano vpliva na izločanje IFN- γ perifernih mononuklearnih celic (katere inhibirajo sintezo IgE) in s tem izboljša stanje pri otrocih z ekcemom in alergijo na kravje mleko (Pohjavuori in sod., 2004). Prav tako so pri otrocih, ki so uživali probiotični sev *Lb. fermentum*, opazili večjo sposobnost tvorbe IFN- γ ter s tem klinično izboljšanje ekcema (Prescott in sod., 2005). Ugotovili so tudi, da lahko probiotiki stimulirajo proizvodnjo TGF- β (Sanfilippo in sod., 2000), ki zavira Th2 odgovor ter tako ščiti pred pojavom atopije. V študiji, kjer so otroci s povišanim tveganjem za atopijo uživali probiotik *Lb. rhamnosus* GG, se je pojav atopije zmanjšal za polovico

(Kalliomäki in sod., 2001). Probiotikom pripisujejo tudi vpliv na humoralni odziv, saj je začetek proizvodnje IgA v prvih tednih življenja zelo odvisen od črevesne mikrobiote (Harris in sod., 2006). IgA na sluznični površini sodeluje pri odpravi antigenov in vzdržuje pregradno funkcijo sluznice (Brandtzaeg, 2002). V študijah so ugotovili, da kar nekaj probiotičnih sevov lahko spodbudi izločanje IgA (Gaskins, 1997; Cross, 2002). Protialergijski učinki seva *Lb. rhamnosus* GG se tako kažejo tudi na nivoju humoralne imunosti, saj naj bi okrepil izločanje IgA protiteles (Brandtzaeg, 2002).



Slika 9: Mehanizmi, s katerimi probiotiki lahko preprečujejo pojav alergij ; 1) okrepitev barierne funkcije 2) razpad alergenov iz hrane na manjše, manj alergene fragmente 3) modulacija črevesne mikrobiote in njenih funkcij 4) stimulacija proizvodnje IgA 5) povečana produkcija mukusa 6) vpliv na imunski odziv; regulacija citokinov, Th1/Th2 razmerja (prirejeno po: Kirjavainen in sod., 1999; Ouwehand, 2007; Gourbeyre in sod., 2011).

Učinke probiotikov pri preprečevanju ali zdravljenju atopijskega dermatitisa (AD) pri otrocih so proučevali tudi v mnogih kliničnih študijah (Preglednici 4 in 5).

Preglednica 4: Učinki probiotikov pri preprečevanju atopijskega dermatitisa (AD) pri otrocih

Študija	Populacija	Probiotiki	Tip	Čas uživanja probiotikov	Rezultati
(Kalliomäki in sod., 2001)	132 otrok z visokim tveganjem za AD	<i>Lb. rhamnosus</i> GG (1×10^{10} ke/dan)	R ^a , DB ^b , PC ^c	2–4 tedne pred predvidenim porodom in 24 mesecev v času dojenja (mama), v primeru, da se otrok ni doжил, je otrok dobival probiotike do starosti 6 mesecev	Pri starosti 2 let se je pojavnost AD razpolovila, v primerjavi s placebom.
(Rautava in sod., 2002)	62 otrok z visokim tveganjem za AD	<i>Lb. rhamnosus</i> GG (2×10^{10} ke/dan)	R, DB, PC	zadnje 4 tedne pred predvidenim porodom in celoten čas dojenja (približno 8,4 meseca)	Zmanjšanje pojava AD dojenih otrok mater, ki so uživale probiotike, v primerjavi z otroki mater, ki so uživale placebo.
(Kopp in sod., 2008)	94 otrok z visokim tveganjem za AD	<i>Lb. rhamnosus</i> GG (5×10^9 ke/dan) 2x dnevno	R, DB, PC	zadnje 4–6 tedne v času nosečnosti, potem prve 3 mesece po porodu – doječe matere in nato še nadaljnje 3 mesece otroci	Ni bilo opaziti zmanjšanja pojava AD, prav tako ne izboljšanja resnosti stanja.
(Kukkonen in sod., 2007)	925 otrok z visokim tveganjem za AD	<i>Lactobacillus rhamnosus</i> GG (5×10^9 ke), <i>Lb. rhamnosus</i> LC705 (5×10^9 ke), <i>Bifidobacterium breve</i> Bb99 (2×10^8 ke), <i>Propionibacterium freudenreichii</i> ssp. <i>shermanii</i> JS (2×10^9 ke) 2x dnevno	R, DB, PC	2–4 tedne prenatalno ter otroci po 1x/dan do 6. meseca starosti	Probiotiki so zmanjšali pojavnost AD.
(Dotterud in sod., 2010)	278 otrok brez tveganja za AD	<i>Lb. rhamnosus</i> GG (5×10^9 ke/dan), <i>Lb. acidophilus</i> La-5 (5×10^9 ke/dan), <i>Bifidobacterium animalis</i> subsp. <i>lactis</i> (5×10^9 ke/dan)	R, DB, PC	od 36. tedna nosečnosti do 3. meseca po porodu, doječe matere	Probiotiki so zmanjšali pojavnost AD pri dve leti starih otrocih.

nadaljevanje preglednice 4: Učinki probiotikov pri preprečevanju atopijskega dermatitisa (AD) pri otrocih

Študija	Populacija	Probiotiki	Tip	Čas uživanja probiotikov	Rezultati
(Huurre, Laitinen, Rautava, Korkeamäki, & Isolauri, 2008)	140 otrok z visokim tveganjem za AD	<i>Lb. rhamnosus</i> GG (1×10^{10} ke/dan) in <i>Bifidobacterium lactis</i> (1×10^{10} ke/dan)	R, DB, PC	prvi trimeser nosečnosti do konca izključnega dojenja	Tveganje za pojav AD pri otrocih, katerih mame so imele AD, se je zmanjšalo.
(Niers in sod., 2009)	102 otrok z visokim tveganjem za AD	<i>Lactococcus lactis</i> (1×10^9 ke/dan), <i>Bifidobacterium bifidum</i> (1×10^9 ke/dan), <i>Bifidobacterium lactis</i> (1×10^9 ke/dan)	R, DB, PC	zadnjih 6. tednov nosečnosti ter prvih 12. mesecev (otrok)	Probiotiki kažejo preventivni učinek v prvih dveh letih življenja na pojavnost AD pri otrocih, ki imajo visoko tveganje za pojav AD.
(Kim in sod., 2010)	112 otrok z visokim tveganjem za AD	<i>Bifidobacterium bifidum</i> (1.6×10^9 ke/dan), <i>Bifidobacterium lactis</i> (1.6×10^9 ke/dan), <i>Lb. acidophilus</i> (1.6×10^9 ke/dan)	R, DB, PC	zadnjih 8 tednov nosečnosti in prve tri mesece po porodu ter otroci, stari od 4 do 6 mesecev	Pri 6. in 12. mesecih se je prevalenca AD v skupini otrok, katerih matere so uživali probiotike, zmanjšala v primerjavi s placebom. Kumulativna incidenca AD je bila signifikantno nižja v skupini s probiotiki pri starosti 12 mesecev.
(Soh in sod., 2009)	253 otrok z visokim tveganjem za AD	<i>Bifidobacterium longum</i> (1×10^7 ke/dan), <i>Lb. rhamnosus</i> (2×10^7 ke/dan)	R, DB, PC	v prvih 12 urah po rojstvu do 6. meseca starosti (hranjeni z adaptiranim mlekom)	Probiotiki niso preprečili AD v prvem letu življenja.
(Wickens in sod., 2008)	446 otrok z visokim tveganjem za AD	<i>Lb. rhamnosus</i> (6×10^9 ke/dan) ali <i>Bifidobacterium animalis</i> subsp. <i>lactis</i> (9×10^9 ke/dan)	R, DB, PC	od 35. tedna prenatalno do 6. meseca dojenja ter otroci od rojstva do drugega leta starosti	Samo <i>Lb. rhamnosus</i> je zmanjšal kumulativno prevalenco AD pri starosti dveh let.
(West in sod., 2009)	179 otrok brez tveganja za AD	<i>Lb. F19</i> (1×10^8 ke/dan)	R, DB, PC	dojenčki od 4. meseca do 13. meseca starosti	Kumulativna incidenca AD v prvih 13. mesecih življenja je bila manjša v skupini, ki je uživala probiotike.

nadaljevanje preglednice 4: Učinki probiotikov pri preprečevanju atopijskega dermatitisa (AD) pri otrocih

Študija	Populacija	Probiotiki	Tip	Čas uživanja probiotikov	Rezultati
(Taylor in sod., 2007)	178 otrok z visokim tveganjem za AD	<i>Lb. acidophilus</i> (3×10^9 ke/dan)	R, DB, PC	od rojstva do 6. meseca (dojenčki)	Ni bilo zmanjšanja težav zaradi AD (pri 6 mesecih ali prvem letu) v nobeni skupini.
(Abrahamsson in sod., 2007)	188 otrok z visokim tveganjem za AD	<i>Lb. reuteri</i> ATCC (1×10^8 ke/dan)	R, DB, PC	od 36. tedna gestacije (mame) ter do 1. leta (otroci)	Podobna incidenca za AD v skupini, kjer so uživali probiotike, kot v placebo skupini. V skupini probiotikov je bilo manj z IgE – povezanih ekcemov v prvih dveh letih življenja.
(Boyle in sod., 2011)	250 nosečnic, ki nosijo otroka z visokim tveganjem za AD	<i>Lb. rhamnosus</i> GG (1.8×10^{10} ke/dan)	R, PC	od 36. tedna gestacije do poroda	Pri starosti 1 leta niso opazili manjše pojavnosti AD in z IgE povezanih ekcemov.
(Rautava in sod., 2006)	72 otrok na adaptiranem mleku pred 2-mi meseci starosti	2 skupini: adaptirano mleko z (1) LGG in <i>Bifidobacterium lactis</i> Bb-12 (1×10^{10} ke/dan) ter (2) placebo	R, PC	od rojstva do 1. leta	Pri ekcemih in alergiji na kravje mleko ni bilo razlik; AD – ni razlik; specifični IgA odgovor na kravje mleko – povečan; serumske koncentracije CD14-povečane; Serumski TGF- β – ni razlik.
(Böttcher in sod., 2008)	109 mater in njihovih otrok	<i>Lb. reuteri</i> (1×10^8 ke/dan)	R, DB, PC	od 36. tedna gestacije do poroda ter otroci od rojstva do 1. leta	Ugotovljena je bila povezava med uživanjem probiotika in nizkimi koncentracijami TGF- β -2 v kolostrumu; Otroci mater z nizkimi koncentracijami TGF- β -2 so bili v prvih dveh letih manj občutljivi in manj dovzetni za pojav ekcema.

^a naključna (R); ^b dvojna slepa (DB); ^c kontrolirana s placebom (PC)

Preglednica 5: Učinki probiotikov pri zdravljenju atopičnega dermatitisa (AD) pri otrocih

Študija	Populacija	Probiotiki	Tip	Čas uživanja probiotikov	Rezultati
(Majamaa in Isolauri, 1997)	37 otrok (1. študija) in 11 dojenih otrok (2. študija)	<i>Lb. rhamnosus</i> GG (5×10^8 cfu/g formule ali 2×10^{10} cfu 2x dnevno doječi materi)	R ^a , DB ^b , PC ^c	1. študija: ukinitve kravjega mleka in adaptiranega mleka z ali brez probiotikov za 4 tedne. 2. študija: LGG dodatek materam tekom dojenja z dobo 4 tednov	Po 4 tednih znatno izboljšanje: intenzivnost in subjektivna ocena (SCORAD) v probiotični skupini. Po 2 mesecih med skupinama ni razlik.
(Isolauri in sod., 2000)	27 otrok z AD med dojenjem	<i>Lb. rhamnosus</i> GG (3×10^8 ke/g) ali <i>Bifidobacterium lactis</i> Bb-12 (1×10^9 ke/g)	R, DB, PC	4 tedne dodatek probiotikov v adaptirano mleko	Pri 2 mesecih znatno izboljšanje SCORAD vrednosti v probiotični skupini.
(Kirjavainen in sod., 2002)	21 otrok s kliničnimi znaki AD (med 4. in 11. mesecem)	<i>Bifidobacterium lactis</i> Bb-12 (1×10^9 ke/g)	R, DB, PC	v času izključnega dojenja	Probiotiki izboljšajo simptome AD pri otrocih.
(Kirjavainen in sod., 2003)	35 otrok (5,5 meseca srednja starost) z AD in sumom na alergijo na kravje mleko	Žive bakterije <i>Lb. GG</i> (1×10^9 ke/g) ali toplotno obdelane bakterije LGG	R, DB, PC	7,5 tednov	Znatno znižanje SCORAD vrednosti v skupini z aktivnimi LGG.
(Weston in sod., 2005)	53 otrok (6–18 mesecev starosti) z AD	<i>Lb. fermentum</i> (1×10^9 ke) 2x dnevno	R, DB, PC	8 tednov – otroci	Probiotiki izboljšajo simptome AD pri otrocih.
(Brouwer in sod., 2006)	50 otrok (< 5 mesecev starosti) z AD in sumom na CMA	<i>Lb. rhamnosus</i> (3×10^8 ke/g) ali <i>Lb. GG</i> (3×10^8 ke/g)	R, DB, PC	12 tednov – otroci	Niso opazili kliničnih ali imunoloških učinkov probiotikov na stanje AD.

nadaljevanje preglednice 5: Učinki probiotikov pri zdravljenju atopičnega dermatitisa (AD) pri otrocih

Študija	Populacija	Probiotiki	Tip	Čas uživanja probiotikov	Rezultati
(Fölster-Holst in sod., 2006)	54 otrok (1–55 mesecev starosti) z zmernim ali resnim AD	<i>Lb. rhamnosus</i> GG (5×10^9 ke) 2x dnevno	R, DB, PC	8 tednov – otroci	Niso opazili pozitivnih učinkov probiotika.
(Grüber in sod., 2007)	102 otroka (3–12 mesecev starosti) z blagim ali zmernim AD	<i>Lb. rhamnosus</i> GG (5×10^9 ke) 2x dnevno	R, DB, PC	12 tednov – otroci	Niso opazili pozitivnih učinkov probiotikov pri blagem in zmernem AD.
(Nermes in sod., 2010)	37 otrok (6,5 meseca srednja starost) z AD	<i>Lb. rhamnosus</i> GG ($3,4 \times 10^9$ ke/g) dnevno	R, DB, PC	12 tednov – otroci	SCORAD vrednost se je zmanjšala, tako v probiotični skupini, kot placebo skupini.
(Gore in sod., 2012)	144 otrok (3–6 mesecev starosti) z AD	<i>Lb. paracasei</i> (10^{10} ke) ali <i>Bifidobacterium lactis</i> (10^{10} ke) dnevno	R, DB, PC	12 tednov – otroci	Ni bilo statističnih razlik v SCORAD vrednostmi med skupinami, na katerem koli nivoju, vse do treh let starosti.
(Viljanen in sod., 2005)	230 otrok (srednja starost 6,4 meseca) z AD in sumom na alergijo na kravje mleko	LGG (5×10^9 ke) ali mešanica: LGG (5×10^9 ke), <i>Lb. rhamnosus</i> LC705 (5×10^9 ke), <i>Bifidobacterium breve</i> (2×10^8 ke), <i>Propionibacterium freudenreichii</i> ssp. <i>shermanii</i> JS (2×10^9 ke) 2x dnevno	R, DB, PC	4 tedne – otroci	Zmanjšanje SCORAD vrednosti le pri otrocih, ki so imeli z IgE povezan AD in so uživali LGG.
(van der Aa in sod., 2010)	82 otrok (0–7 mesecev starosti) z AD, hranjeni izključno z adaptiranim mlekom	<i>Bifidobacterium breve</i> ($1,3 \times 10^9$ ke/100 ml) in prebiotik	R, DB, PC	12 tednov – otroci	Prebiotik in probiotik nista signifikantno vplivala na izboljšanje klinične slike pri otrocih z AD.

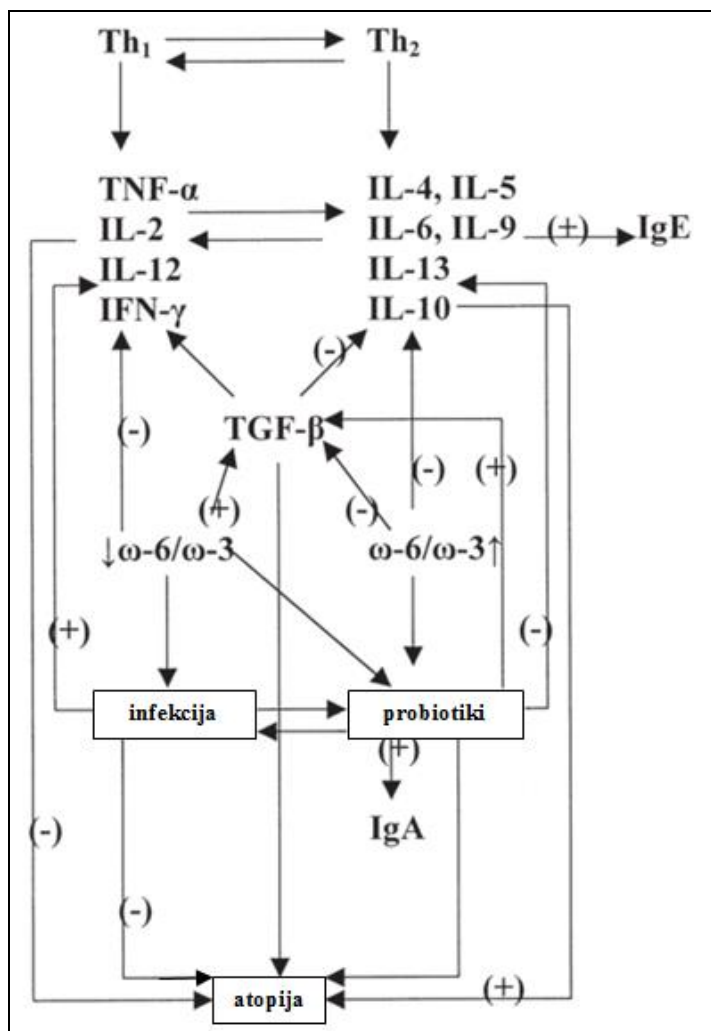
nadaljevanje preglednice 5: Učinki probiotikov pri zdravljenju atopičnega dermatitisa (AD) pri otrocih

Študija	Populacija	Probiotiki	Tip	Čas uživanja probiotikov	Rezultati
(Taniuchi, 2005)	17 izbranih otrok (srednja starost 9,5 meseca) z AD in CMA, ki so imeli v mikrobioti blata < 30 % bifidobakterij	2 skupini: skupina, ki je prejela <i>Bifidobacterium breve</i> M-16 V ($5-15 \times 10^9$ ke/dan) (1) in placebo (2). Čas uživanja: 3 mesece	R, PC	12 tednov – otroci	Splošna klinična slika se je izboljšala v skupini, ki je uživala probiotike.

^a naključna (R); ^b dvojna slepa (DB); ^c kontrolirana s placebom (PC); *Lb.* = *Lactobacillus*; SCORAD (**sc**oring **at**opic **d**ermatitis) = klinično merilo za ugotavljanje prizadetosti kože pri atopijskem dermatitisu; CMA (**c**ow **m**ilk **a**llergy) = alergija na kravje mleko

2.6.6 Vpliv PUFA na funkcionalnost probiotikov (medsebojne interakcije) ter vpliv na pojavnost alergij

V literaturi lahko zasledimo poročanja o ugodnem medsebojnem vplivu med PUFA in probiotiki. Raziskave kažejo, da lahko proste PUFA povečajo učinke probiotikov. Vplivajo lahko na maščobnokislinsko sestavo bakterijskih maščob ter posledično na fizikalne lastnosti, hidrofobnost in adhezijsko sposobnost probiotičnih bakterij (Kankaanpää in sod., 2001; Kankaanpää in sod., 2004). Dokazano je, da PUFA, predvsem α -linolenska kislina, spodbuja adhezijo probiotičnih bakterij *Lb. casi* na površini mukoze črevesja, kar izboljša funkcionalne učinke probiotikov v črevesju (Kankaanpää in sod., 2001). Znanstveniki poročajo tudi o večji adhezijski sposobnosti *Lb. Casei* Shirota na sluz iz blata zdravih otrok ob prisotnosti AA (pri 10 ug/ml) (Kankaanpää in sod., 2004). Na shemi (Slika 10) so prikazane povezave med probiotiki, (LC)PUFA, citokini in pojavom atopij.



Slika 10: Medsebojne možne povezave med probiotiki, PUFA, citokini in pojavom atopije; (+) povečanje produkcije/pojava; (-) zmanjšanje produkcije/pojava; IFN, interferon; Ig, imunoglobulin; IL, interleukin; TGF, transformirajoči rastni faktor (dejavnik); Th, T-celica pomagalka (Das, 2002).

3 BAZA PODATKOV IN METODE DELA

3.1 BAZA PODATKOV

V študijo »Moje mleko« je bilo od decembra 2010 do oktobra 2012 vključenih 294 nosečnic iz treh slovenskih regij (Ljubljana in okolica, Maribor in Nova Gorica/Izola). 185 mater je sodelovalo tudi v kliničnem delu raziskave (Bogovič Matijašič in sod., poslano v objavo). V diplomskem delu smo analizirali le podatke 155 otrok (od teh 5 dvojčkov), za katere so bili izpolnjeni tudi vprašalniki o alergijah.

Informacije o preiskovancih in njihovih starših smo pridobili iz kliničnega dela študije, kjer so s pomočjo anketnih vprašalnikov, antropometričnih meritev ter pregledov pri pediatru raziskovalci pridobili informacije o splošnih podatkih ter zdravstvenem stanju preiskovancev in njihovih staršev.

Podatke o prisotnosti alergij v družinah preiskovancev in otrocih smo pridobili iz vprašalnikov (Priloga E), ki so ga prostovoljke izpolnile pri zadnjem pregledu v okviru kliničnega dela, ko so bili otroci stari eno leto.

Prav tako so bili s pomočjo vprašalnikov pridobljeni podatki o probiotičnih izdelkih, prehranskih probiotičnih dopolnilih ter ribah, ribjih izdelkih in prehranskih dopolnilih z omega maščobnimi kislinami (DHA), ki so jih uživale matere (Priloga F). Matere so oba vprašalnika izpolnile v okviru kliničnega dela preiskav, obdelana pa sta bila na Biotehniški fakulteti na Rodici ter Pediatrični kliniki.

Podatki za vrednosti DHA, zaužitih pred nosečnostjo ter v času nosečnosti in dojenja, so vrednoteni z Vprašalnikom pogostosti uživanja živil (*angl.* »Food Frequency Questionnaire«; FFQ), ki je ena najprimernejših metod za ocenjevanje prehranskih navad v epidemioloških študijah. FFQ poda podatek o povprečju prehranskega vnosa določenega živila v daljšem časovnem obdobju (Health Norwegian Institute of Public, 2010; Birgisdottir in sod., 2008). Vprašalnik je bil sestavljen iz treh delov: seznama živil, pogostnosti uživanja posameznega živila ter velikosti porcije. Zajemal je 31 različnih rib in ribjih izdelkov, razdeljenih v štiri kategorije (morske ribe, sladkovodne ribe, morski sadeži in ribji izdelki) ter nekaj vprašanj, povezanih z uživanjem prehranskih dopolnil z DHA (ribje olje, omega-3 maščobne kisline ribjega izvora). Za vsako živilo posebej si je prostovoljka izbrala eno od devetih navedenih frekvenc uživanja, ki so se gibale od »nikoli« do »več kot enkrat na dan«. V primeru, da so podale frekvenco uživanja, so ocenile tudi velikost porcije (mala: 100 g; srednja: 125 g; velika: 175 g). Podatki o prehranskih dopolnilih so bili zbrani za obdobje nosečnosti in dojenja, ne pa tudi za obdobje pred nosečnostjo. Količina zaužite DHA je bila izračunana s pomočjo Odprte Platforme za Klinično Prehrano (OPKP, <http://opkp.si>) (OPKP, 2014) na podlagi pridobljenih podatkov (tip živila, frekvenca oziroma pogostnost uživanja, velikost porcije).

Vzorci za določanje maščobnokislinske sestave mleka doječih mater so bili odvzeti mesec po porodu. Matere so bile naprošene, da si ročno izbrizgajo mleko iz iste dojke pred začetkom (prvo mleko) in po koncu dojenja (zadnje mleko). Maščobnokislinsko sestavo humanega mleka (aliquotni del homogenega vzorca prvega in zadnjega izbrizganega

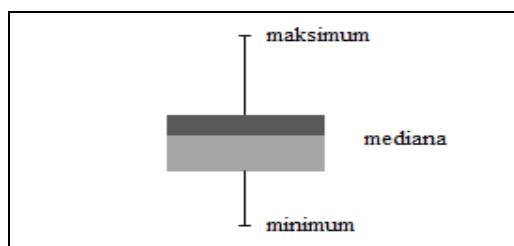
mleka) so določili v Službi za specialno laboratorijsko diagnostiko Pediatrične klinike v Ljubljani s plinsko kromatografijo s plamensko ionizacijskim detektorjem (GC-FID; AGLIENT 7890A).

Mikrobiološke analize kolostruma ter blata novorojenčkov tretji dan po porodu so bile opravljene na Inštitutu za mlekarstvo in probiotike, Biotehniške fakultete, Univerze v Ljubljani. Velikost in sestavo mikrobnih populacij so določali s klasičnimi mikrobiološkimi metodami cepljenja vzorcev na selektivne hranljive podloge in metodo PCR v realnem času (qPCR).

3.2 METODE DELA

Osnovne podatke o preiskovancih ter prevalenco in klinično sliko alergijskih bolezni smo številčno in v odstotnih deležih prikazali v preglednicah ter grafično v programu Excel. Povezavo genetskih dejavnikov in različnih dejavnikov matere in okolja s pojavnostjo alergij pri preiskovancih smo statistično ovrednotili z računalniškim programom SPSS proizvajalca IBM. Podatke smo razvrstili v kontingenčne tabele, povezave ugotavljali s hi-kvadrat testom ali Mann-Whitney U-testom, za ugotavljanje tesnosti povezav pa izračunali Pearsonov koeficient korelacije. Če v kontingenčni tabeli ni bil izpolnjen pogoj, da je v vsaki celici najmanj pet enot (majhni vzorci), smo uporabili Fisherjev eksaktni test. Vseh povezav, zaradi majhnega števila primerov in ali pomanjkanja nekaterih podatkov, statistično ni bilo smiselno obdelati.

Rezultati kvantifikacije celotne mikrobne populacije in različnih skupin bakterij v kolostrumu in blatu otrok, odvzetem tri dni po rojstvu (B3), z metodo qPCR (število kopij gena za 16S rRNA/g blata ali ml kolostruma), so prikazani v logaritmiranih vrednostih v obliki kvantilnih diagramov (*angl.* »box plot«) (Slika 11). Osrednji, pobarvan del grafa ponazarja območje, znotraj katerega se nahaja 50 % vrednosti vzorcev. Meja med svetlim in temnim razdelkom je mediana. To je vrednost, ki se med vsemi nahaja točno na sredini, tako ima 50 % podatkov manjšo in 50 % večjo vrednost. Območje grafa s svetlo-sivim obarvanjem zajema 25 % rezultatov, ki imajo nižjo vrednost od mediane, območje s temno-sivim obarvanjem pa ponazarja tiste vrednosti, ki so za 25 % višje od mediane. Ročaje grafa določata najnižja (minimum) in najvišja (maksimum) vrednost med podatki populacije.



Slika 11: Kvantilni diagram

Vzorcem, katerih število kopij gena za 16S rRNA/g blata ali ml kolostruma je bilo pod mejo detekcije, so v namene izračuna mediane pripisane polovične vrednosti meje detekcije za posamezno reakcijo.

4 REZULTATI

4.1 SPLOŠNI PODATKI O PREISKOVANCIH IN NJIHOVIH DRUŽINAH

4.1.1 Splošni podatki o preiskovancih, vključenih v raziskavo o pojavnosti alergij

Med 155 preiskovanci, vključenimi v raziskavo o pojavnosti alergij, je bilo 54 % dečkov in 46 % deklic. 92 % otrok je bilo donošenih, 7 % nedonošenih, ena deklica pa je bila prenošena. S carskim rezom se je rodilo 20 % otrok, vaginalno 77 %, za 4 preiskovance pa nimamo podatka. Rangirani podatki o porodni masi novorojencev kažejo, da je bila dobra polovica težkih med 2,5 do 3,5 kg, le 6 % novorojencev je tehtalo manj kot 2,5 kg, kar 39 % pa jih je bilo težkih 3,5 kg ali več. Večina dojenčkov (76 %) je bila dojenih več kot 6 mesecev. Podatki o kraju bivanja kažejo, da so prostovoljke v raziskavi izhajale pretežno iz mest, le 28 % preiskovank je bilo iz podeželja. Bolj podroben prikaz podatkov po spolu novorojenca je v preglednici 6.

Preglednica 6: Splošni podatki o preiskovancih, vključenih v raziskavo o pojavnosti alergij

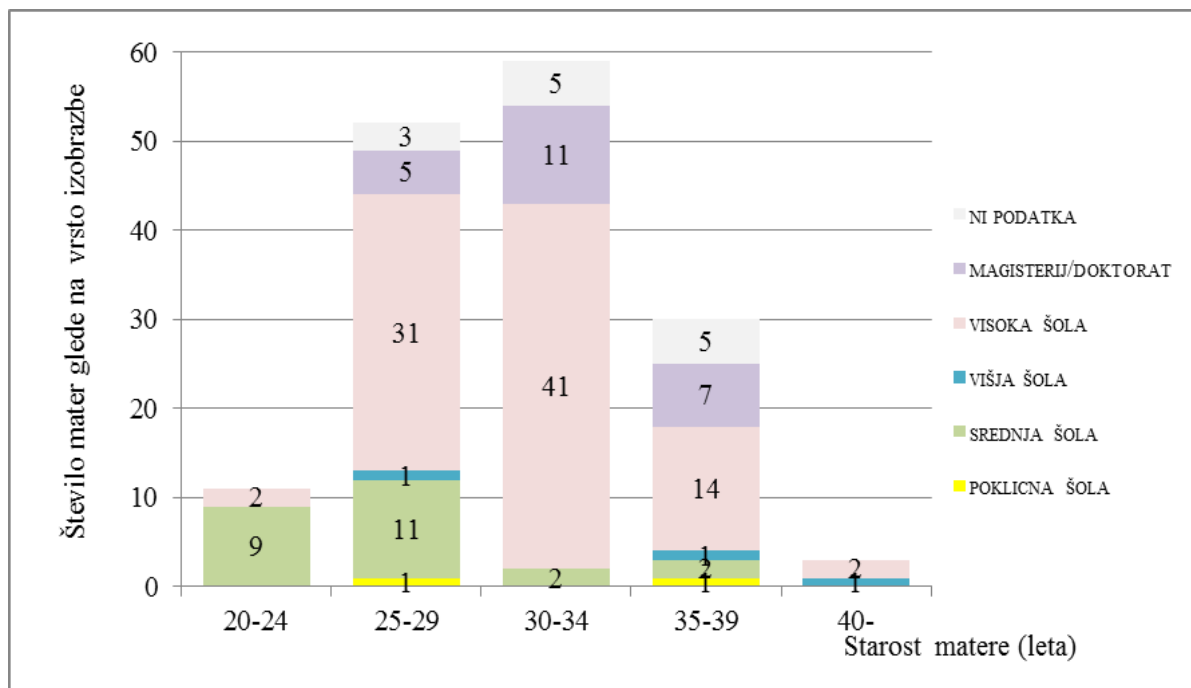
	Števílo otrok			
	Deček (83)	Deklica (72)	Skupaj (155)	
	53,5 %	46,5 %		100 %
Gestacijska starost (tedni)				
32–36	6	5	11	7,1
37–41	77	66	143	92,3
42–		1	1	0,6
Način poroda				
carski rez	19	12	31	20,0
vaginalen	63	57	120	77,4
v tem induciran	1	5	6	3,9
v tem vakuumski	3	2	5	3,2
ni podatka	1	3	4	2,6
Porodna masa (g)				
1500–2499	3	6	9	5,8
2500–3499	40	45	85	54,8
3500–	40	20	60	38,7
ni podatka		1	1	0,6
Okolje bivanja				
mesto	60	52	112	72,3
podeželje	23	20	43	27,7
Čas dojenja (meseči)				
do vključno 6	20	14	34	21,9
nad 6	61	57	118	76,1
ni podatka	2	1	3	1,9

4.1.2 Splošni podatki o materah preiskovancev

Izobrazbena struktura mater je bila zelo visoka, saj jih je imelo kar 75 % vsaj višješolsko izobrazbo. Samo 7 % mater je bilo mlajših od 24 let in 2 % starejših kot 39 let. Samo 39 % nosečnic je imelo normalno, zdravo težo, 48 % je bilo pretežkih, 13 % pa debelih. 59 % se jih je v času nosečnosti zredilo do 15 kg, 27 % med 15 in 20 kg, kar 13 % pa več kot 20, nekatere celo do 30 kg. Več podatkov o materah je prikazano v preglednici 7, izobrazbena struktura in starost pa tudi na sliki 12.

Preglednica 7: Splošni podatki o materah preiskovancev

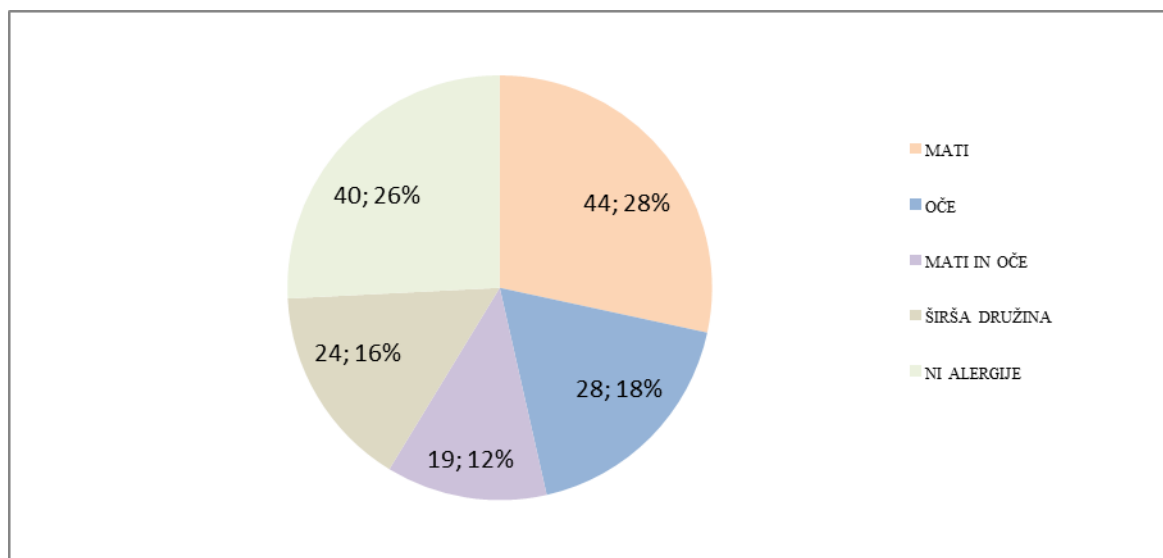
Starost matere (leta)	20–24	25–29	30–34	35–39	40–44	
Število (%)	11	52 (34)	59 (38)	30	3	
Izobrazba matere	ni podatka	poklicna šola	srednja šola	višja šola	visoka šola	magisterij/ doktorat
Število (%)	3	2	24	3	90 (58)	23
ITM nosečnice	do 18,49	18,5–24,99	25–29,99	30–34,99	35–39,99	40 in več
Število (%)	0	61 (39)	74 (48)	15	2	3
Telesna masa pred zanositvijo (kg)	do 49,99	50–59,99	60–69,99	70–79,99	80–89,9	90–115
Število (%)	9	44 (28 %)	72 (46)	19	6	5
Telesna masa pred porodom (kg)	do 59	60–69,99	70–79,99	80–89,99	90–129	
Število (%)	10	25	58 (37)	42 (27)	20	
Prirast telesne mase v nosečnosti (kg)	ni podatka	do 9,99	10–14,99	15–19,99	20–24,99	25–30
Število (%)	1	18	73 (47)	42 (27)	18	3



Slika 12: Izobrazbena struktura mater preiskovancev in njihova starost

4.1.3 Splošni podatki o alergijah v družinah preiskovancev

V analizirani skupini je bila družinska atopična obremenitev bodisi s strani ožje bodisi širše družine prisotna v 74 % oziroma pri 115 otrocih. Od teh je imelo 91 otrok (59 %) atopično obremenitev s strani staršev (mati in/ali oče). Samo v 40 družinah ni bilo prisotnosti alergij. Na sliki 13 je strukturiran prikaz prisotnosti alergij pri družinskih članih preiskovanca.

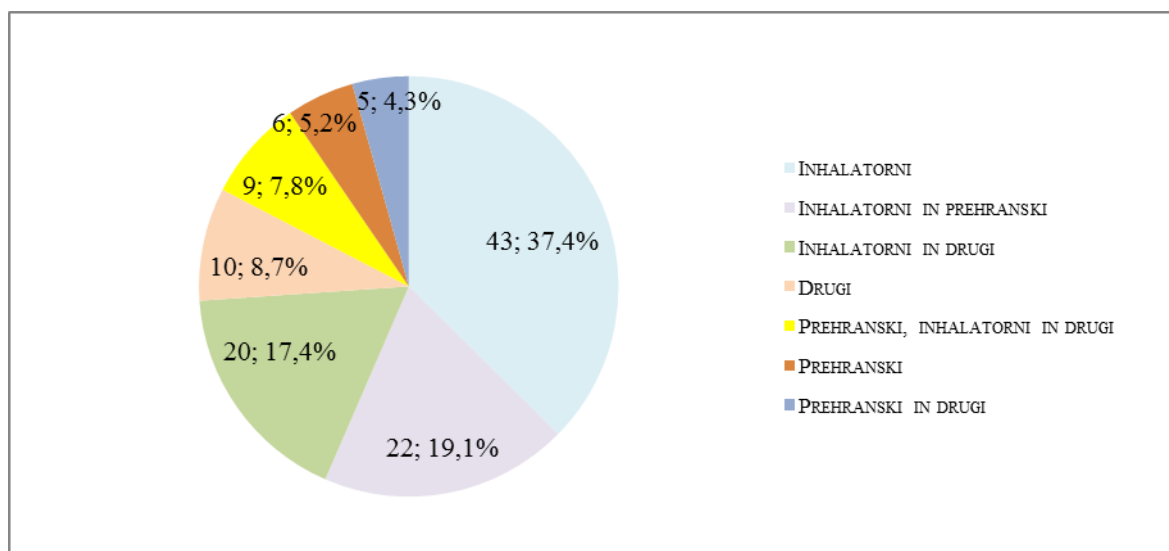


Slika 13: Število in odstotni delež alergikov v družinah preiskovancev

Preglednica 8: Vrste alergenov, na katere so bili občutljivi člani družin preiskovancev.

Vrste alergenov	Skupaj	Inhalatorni	Prehranski	Drugi	Brez alergenov
Brez alergenov	40				40
Inhalatorni	43	43			
Inhalatorni in drugi	20	20		20	
Inhalatorni in prehranski	22	22	22		
Inhalatorni, prehranski in drugi	9	9	9	9	
Prehranski	6		6		
Prehranski in drugi	5		5	5	
Drugi	10			10	
	155	94	42	44	40

Alergija na inhalatorne alergene je bila prisotna v kar 94 družinah od 115 družin z alergijami, izključno na inhalatorne alergene v 43 (37,4 %) obremenjenih družinah, v 51 družinah pa v kombinaciji z drugimi in ali prehranskimi alergeni. Preostali alergeni (zdravila, piki čebel, kemikalije, mraz, sonce ...) in prehranski alergeni so se pojavljali največkrat v kombinaciji z inhalatornimi, kot samostojni so se preostali alergeni pojavili pri 8,7 %, prehranski pa pri 5,2 % obremenjenih družin (Slika 14).

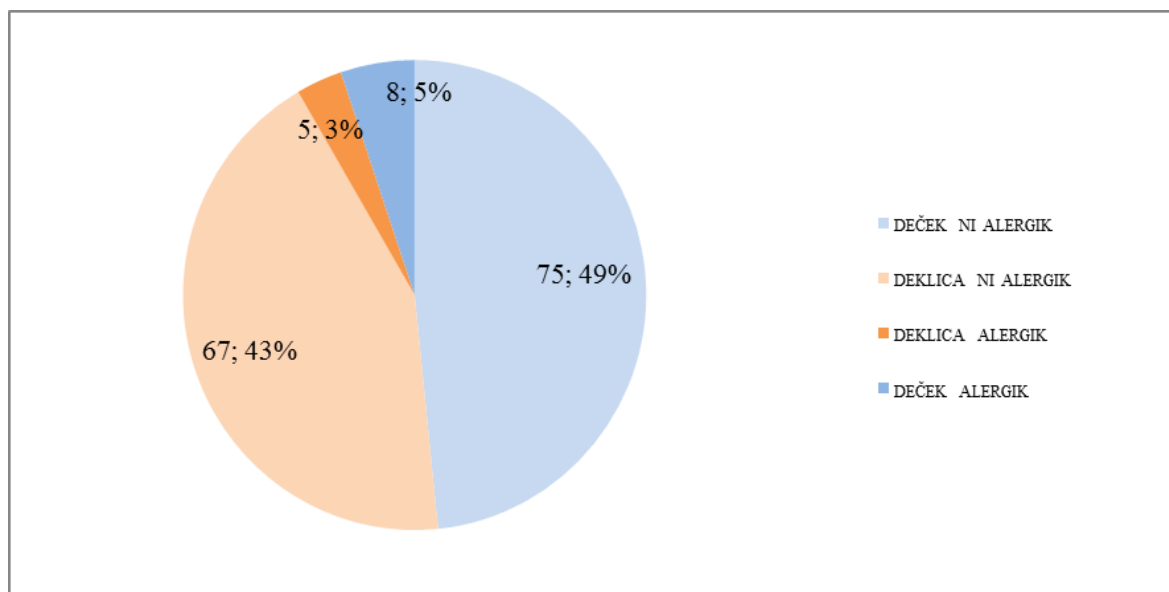


Slika 14: Strukturiran prikaz alergenov v družinah, obremenjenih z alergijami

4.2 POJAVNOST ALERGIJ PRI PREISKOVANCIH

4.2.1 Strukturna porazdelitev alergij po spolu

V analizirani skupini 155 preiskovancev se je alergija v prvem letu življenja pojavila le pri 13 otrocih (8,4 %), če pogledamo po spolu pri 5 (3,2 %) oziroma 6,9 % vseh deklic in 8 (5,2 %) oziroma 9,6 % vseh dečkov (Slika 15).



Slika 15: Porazdelitev alergikov in nealergikov glede na spol

4.2.2 Obdobje pojava alergij pri preiskovancih ter teža klinične slike

Alergija se je v 92 % pojavila do 6. meseca starosti, pri večini še v času dojenja. V 5 primerih je bil potek alergije zelo težek (težave se pojavljajo 6 ali večkrat letno), v 3 primerih srednje težek (težave se pojavljajo 4 krat letno), 5 preiskovancev pa je imelo le blage alergijske reakcije (težave se pojavljajo 2 krat letno). Pri blagem poteku je bila predpisana dieta (izogibanje določeni hrani), izraženi so bili predvsem kožni znaki. Pri srednje težkih in težkih primerih je bilo potrebno zdravljenje (Fenistil, Lokiodol, Kusidin, mazilo Elocon ...), v večini primerov so bili izraženi le kožni znaki, le pri dveh tudi splošna prizadetost in pri enem otroku črevesni znaki.

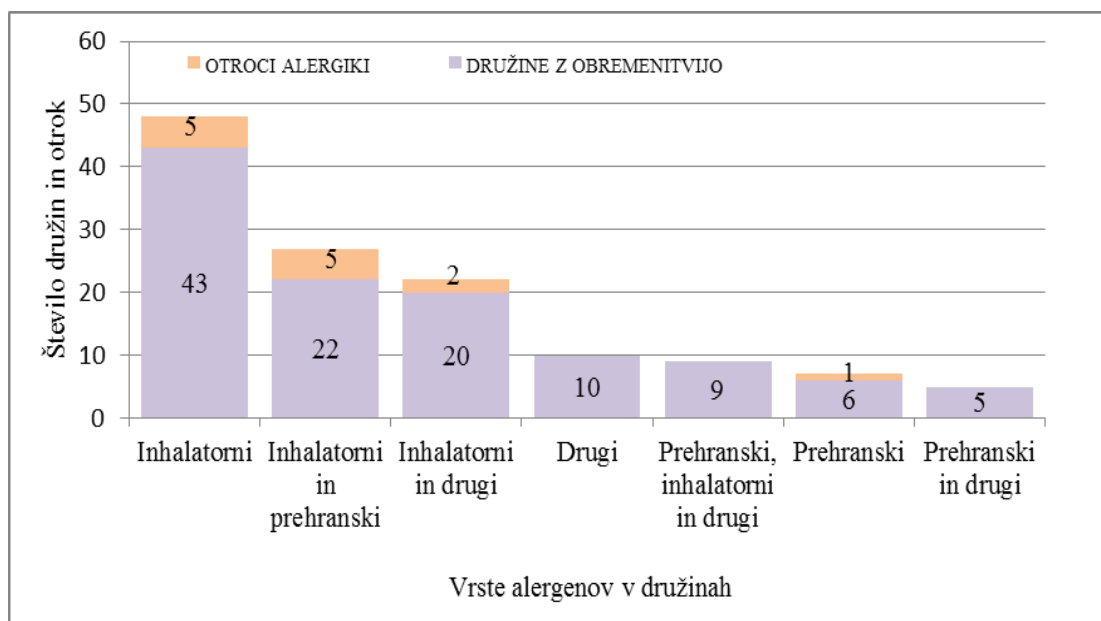
Podrobnejši prikaz teže alergičnih reakcij je viden v preglednici 9, ki vključuje tudi način hranjenja (dojenje/dodajanje formule) in podatek o tem, kdo je bil v družini alergik.

Preglednica 9: Obdobje pojava alergij pri preiskovancu, čas dojenja in teža klinične slike

Mesec pojava alergije	Potek alergije	Alergik v družini	Čas dojenja v mesecih	Način hranjenja do 3. meseca starosti
0–6	blag (1 otrok)	mati	8,5	izključno dojenje
0–6	blag (2 otroka)		5–12	dojenje/dodajanje formule
0–6	srednje težek (1 otrok)		12	dojenje/dodajanje formule
0–6	težek (3 otroci)		9–12	dojenje/dodajanje formule
0–6	srednje težek (2 otroka)	oče	11–12	izključno dojenje
0–6	težek (2 otroka)		9–12	izključno dojenje
0–6	blag (1 otrok)	mati, oče, sorojenec	12	izključno dojenje
7–12	blag (1 otrok)	širša družina	4	dojenje/dodajanje formule

4.2.3 Vrste alergenov, na katere so bili občutljivi preiskovanci ter člani njihovih družin

Kot je bilo že prikazano (Preglednica 8, Slika 14), so pri članih družin z obremenitvijo prevladovali inhalatorni alergeni, zato ni presenetljivo, da je 5 otrok alergikov prihajalo iz družin, v katerih so se pojavljali izključno inhalatorni alergeni, 5 iz družin, kjer so se poleg prehranskih pojavljali še inhalatorni alergeni, 2 otroka iz družin, kjer so navajali inhalatorne in druge alergene ter samo 1 otrok je izhajal iz družine, v kateri so bili mati in širša družina (stric in babica) alergični samo na prehranske alergene. V preostalih skupinah ni bilo otrok alergikov (Slika 16).



Slika 16: Število družin z obremenitvijo glede na skupino alergenov in število otrok, pri katerih se je pojavila alergija znotraj teh skupin.

Pri preiskovancih so se v večini primerov pojavile alergije na jajca in mleko, ponekod tudi na arašide in nekatere druge prehranske alergene. Alergija na inhalatorne alergene se je pojavila v treh primerih. Podrobni podatki o vrstah alergij pri otrocih in v njihovih družinah so prikazani v preglednici 10.

Preglednica 10: Vrste alergenov pri otrocih alergikih ter njihovih družinah

Preiskovanec (13 otrok)		Sorojenec (1)	Mati (7)	Oče (6)	Širša družina (8)
jajce	1		I	pršice	
jajce, P, I	1			P, I	I
	1			pršice, I	I
	1	jajce, arašidi, pršice, I			mleko, jajce, I
mleko, jajce	1			I	I
	1		pršice, I		
	1		arašidi, pršice, P, I		
	1		drugo		I
mleko, jajce, P	1			I	
	1		P		P
mleko, jajce, arašidi, P	1		I		
	1		arašidi pršice, I		mleko, jajce
mleko, jajce, arašidi, ribe, P	1			pršice, I	Drugo

I = drugi inhalatorni alergeni; P = drugi prehranski alergeni

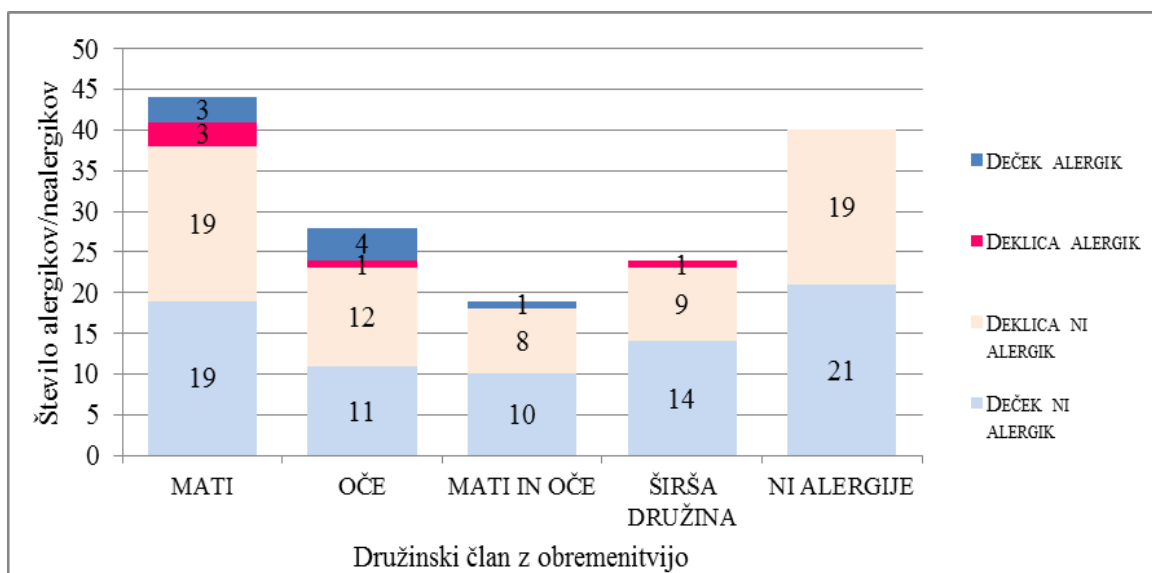
4.3 VPLIV DEDNIH IN OKOLJSKIH DEJAVNIKOV NA POJAVNOST ALERGIJ PRI PREISKOVANCIH

4.3.1 Dedna obremenitev preiskovanca

Vsi otroci, pri katerih se je v prvem letu življenja pojavila alergija, so izhajali iz družin z obremenitvijo. Od 13 otrok, pri katerih so se pojavile alergične reakcije, je imelo 12 družinsko atopično obremenitev (AO) s strani staršev. Pri 50 % (6) otrok alergikov je bila alergik mati, pri 42 % (5) oče, pri 1 otroku (8 %) alergiku sta bila alergika oba starša. Samo 1 otrok alergik je bil obremenjen s strani širše družine (alergijo sta imela sorojenec in teta). V primeru, da je bila alergik samo mati, je alergijo razvilo 13,6 % otrok (6 od 44), 17,8 %, če je bil alergik samo oče (5 od 28), ter 5,2 % (1 od 19), če sta imela alergijo oba starša (Preglednica 11, Slika 17).

Preglednica 11: Pojavnost alergij pri preiskovancih glede na spol in družinsko obremenitev

ALERGIK V DRUŽINI	Deček		Deklica		Skupaj otrok			% otrok alergikov znotraj alergikov v družini	% otrok alergikov celoti
	alergik	ni alergik	alergik	ni alergik	alergik	ni alergik	Skupaj		
Mati	3	19	3	19	6	38	44	13,6	3,9
Mati in oče	1	10		8	1	18	19	5,2	0,6
Oče	4	11	1	12	5	23	28	17,8	3,2
Širša družina		14	1	9	1	23	24	4,2	0,6
Ni alergije		21		19		40	40		
Skupaj	8	75	5	67	13	142	155	8,4	8,4



Slika 17: Prikaz števila alergikov in nealergikov po spolu glede na družinsko obremenitev

4.3.1.1 Statistično preverjanje vpliva dedne obremenitve na pojavnost alergij pri otrocih (1. delovna hipoteza)

Zanimal nas je vpliv AO s strani staršev in širše družine na pojavnost alergij pri otrocih. Pri preverjanju vpliva AO staršev smo upoštevali 131 otrok (brez obremenitve, obremenitev s strani staršev), pri preverjanju vpliva celotne družine (tudi širše) pa smo upoštevali vseh 155 otrok (brez obremenitve, obremenitev s strani staršev ter obremenitev s strani širše družine). Za preverjanje hipotez smo uporabili kontingenčni tabeli s hi-kvadrat testom, kjer smo izračunali Pearsonov koeficient.

Preglednica 12: Kontingenčna tabela za preverjanje povezanosti med AO od širše družine in pojavnostjo alergije pri otrocih

		Dedna obremenitev		Skupaj
		Ni obremenitve	Starši in širša družina	
Otrok alergik	Ne	40	102	142
	Da	0	13	13
Skupaj		40	115	155

Preglednica 13: Kontingenčna tabela za preverjanje povezanosti med AO od staršev in pojavnostjo alergije pri otrocih

		Dedna obremenitev		Skupaj
		Ni obremenitve	Starši	
Otrok alergik	Ne	40	79	119
	Da	0	12	12
Skupaj		40	91	131

Ker v kontingenčnih tabelah ni bil izpolnjen pogoj, da je v vsaki celici najmanj 5 enot, smo namesto Pearsonovega koeficienta uporabili Fisherjev eksaktni test. Test je pokazal, da lahko zavrnemo ničelni hipotezi in sprejmemo alternativni hipotezi, ki pravita, da obstaja povezava med dedno obremenitvijo in pojavnostjo alergij pri otrocih. V obeh primerih je bila statistična značilnost (p) manjša od 0,05 (v primeru obremenitve celotne družine 0,022, v primeru obremenitve s strani staršev pa 0,018). Izračuna sta v prilogi A.

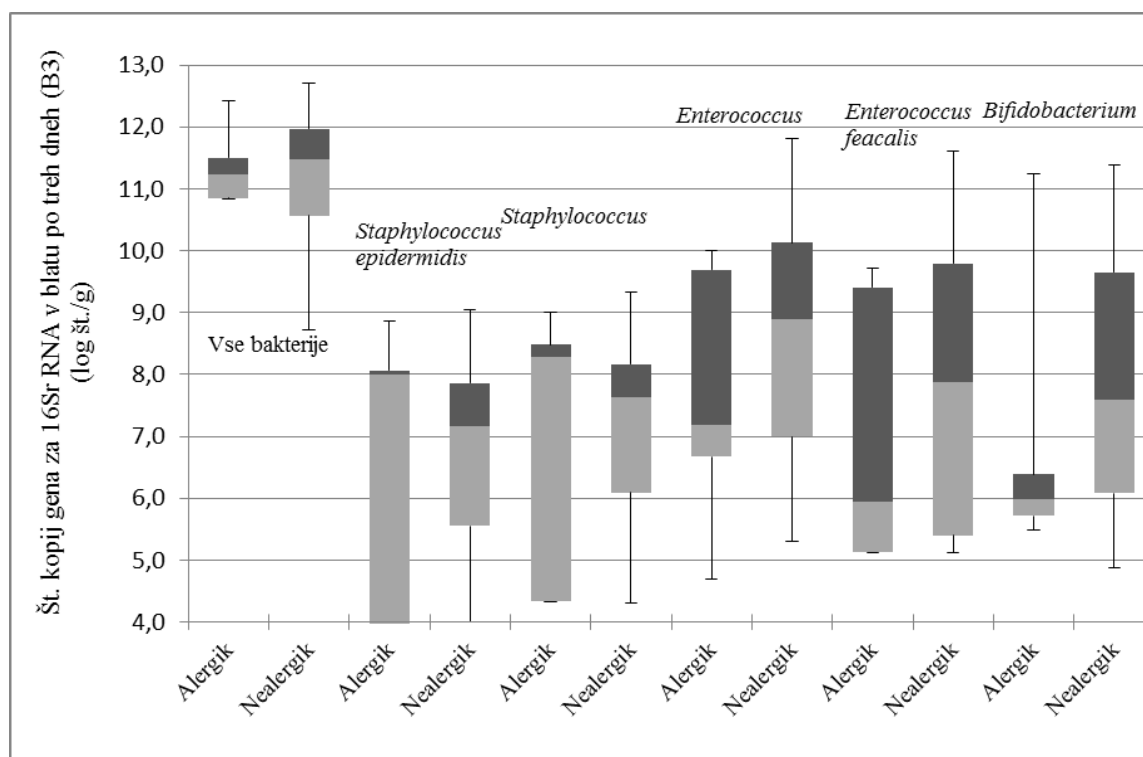
Zaključimo lahko, da bodo otroci staršev alergikov (družinska AO) pogosteje razvili alergične reakcije v prvem letu življenja kot njihovi vrstniki zdravih staršev. Z dedno AO se torej povečuje pojavnost alergij pri otrocih, še zlasti, če so alergiki starši.

Glede na to, da se je dednost, predvsem s strani staršev, izkazala kot močen dejavnik za pojavnost alergij pri preiskovancih, smo v nadaljnjih analizah v večini primerov obravnavali le tiste otroke, ki so imeli dedno AO s strani staršev in otroke brez AO.

4.3.2 Začetna črevesna mikrobiota preiskovancev

Različne študije navajajo, da imajo otroci z atopijami spremenjeno črevesno mikrobioto. Študije poročajo o večjem številu stafilokokov, klostridijev in enterobakterij (predvsem *E. coli*), nižjem številu enterokokov, bifidobakterij ter bakterij rodu *Bacterioides* pri otrocih z alergijami v primerjavi z otroki brez alergij, zato smo želeli preveriti tudi rezultate za naše preiskovance.

Rezultati kvantifikacije celotne mikrobne populacije in različnih skupin bakterij v blatu otrok, odvzetem 3 dni po rojstvu (B3), z metodo qPCR (število kopij gena za 16S rRNA/g blata), prikazani v logaritmiranih vrednostih, so v prilogi B1. V obliki kvantilnih diagramov pa so prikazane skupine bakterij, kjer so se nakazale razlike v medianah med otroci alergiki in nealergiki.



Slika 18: Prikaz kvantifikacije izbranih skupin bakterij v blatu otrok, odvzetem 3 dni po rojstvu (B3), z metodo qPCR (število kopij gena za 16S rRNA log št./g blata) za alergike in nealergike

Tudi rezultati kvantifikacije celotne mikrobne populacije in različnih skupin bakterij v kolostrumu (M0), z metodo qPCR (število kopij gena za 16S rRNA/ml kolostruma), v logaritmiranih vrednostih so v prilogi B2. Ker je bilo veliko vrednosti na meji ali celo pod mejo detekcije, poleg tega pa smo imeli samo 2 vzorca kolostruma v skupini otrok, ki so v prvem letu razvili alergijo, statistična obdelava razlik v mikrobni sestavi kolostruma mater, katerih otroci so ali niso razvili alergije, ni bila smiselna (Priloga B3b). Na podlagi izračunanih median (Priloga B2) pa lahko vidimo, da se število kopij za vse bakterije giblje okoli 8,4 log/ml ter da največji delež predstavljajo *Clostridium leptum* ter *Clostridium coccoides*.

4.3.2.1 Statistično preverjanje vpliva velikosti in sestave začetne mikrobiote blata otrok na pojavnost alergij (2. delovna hipoteza)

Naredili smo dve primerjavi rezultatov mikrobioloških analiz blata B3, za otroke z dedno AO in brez AO ter ločeno še za otroke alergike in nealergike. Uporabili smo Mann Whitney U-test. Razlike v medianah za različne skupine obravnavanih bakterij med obremenjenimi in neobremenjenimi otroci niso bile statistično značilne. Torej lahko zaključimo, da se velikost in sestava mikrobiote blata otrok z AO s strani staršev ter otrok brez AO, vzorčenega 3 dni po porodu, nista statistično značilno razlikovali. Prav tako nismo ugotovili statistično značilnih razlik med velikostjo in sestavo začetne mikrobiote blata otrok, ki so pozneje razvili alergijo, in zdravih otrok. Statistični izračuni za oba primera so prikazani v prilogi B3 in B3a.

Na podlagi razpoložljivih podatkov in opravljenih statističnih testov torej ni možno posplošiti, da se začetna črevesna mikrobiota otrok, pri katerih se pojavi alergija, razlikuje od črevesne mikrobiote zdravih otrok, se pa na majhnem vzorcu, ki smo ga analizirali in tudi grafično prikazali s kvantilnim diagramom, zazna razlike v sestavi začetne črevesne mikrobiote otrok, pri katerih se je pojavila alergija, in zdravih otrocih. Mediani velikosti mikrobnih populacij skupin *Staphylococcus epidermidis* in *Staphylococcus* sta bili za 0,8 in 0,6 log večji, mediane velikosti mikrobnih populacij skupin *Enterococcus*, *Enterococcus faecalis* in *Bifidobacterium* pa za 1,7; 1,9 in 1,6 log manjše v blatu otrok, pri katerih se je pojavila alergija.

4.3.3 Uživanje probiotikov in dolgotrajnih večkrat nenasičenih maščobnih kislin

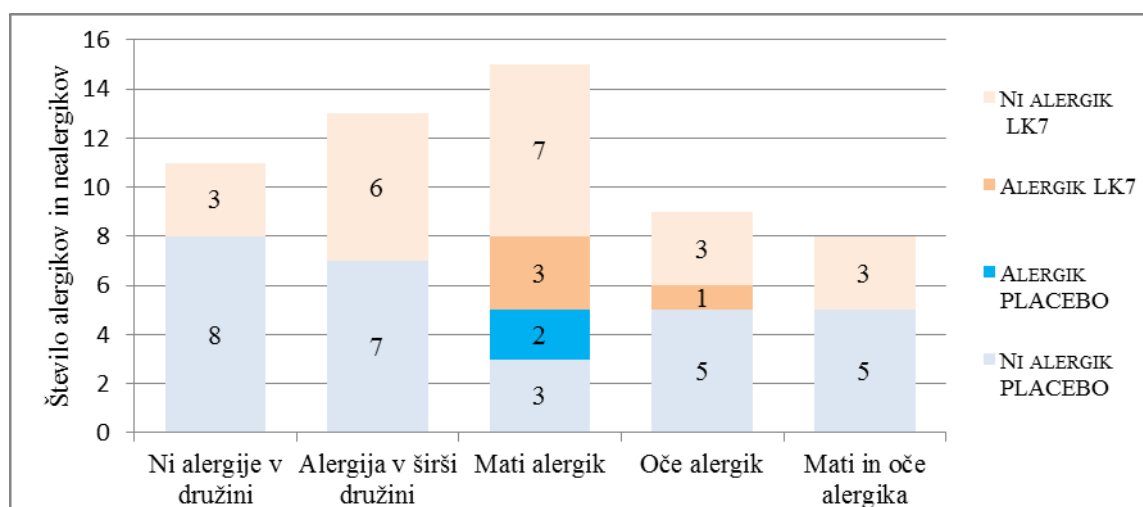
4.3.3.1 Vpliv uživanja probiotičnega seva *Lactobacillus gasseri* K7 (LK7) v času nosečnosti na pojavnost alergij pri otrocih v prvem letu življenja

V okviru študije »Moje mleko« so v pilotni študiji, na majhni skupini prostovoljk preučevali vpliv seva LK7 na mikrobioto mleka in blata novorojencev. V naši analizi smo upoštevali 26 mater, ki so uživale LK7 (skupina LK7), in 30 mater, ki so uživale PLACEBO, ker smo samo zanje imeli izpolnjene vprašalnike o alergijah.

Na sliki 19 vidimo, da se je alergija pojavila pri 4 otrocih skupine LK7, v PLACEBO skupini pa pri 2 otrocih. V LK7 skupini je bila v 65 % družin prisotna alergija s strani staršev, medtem ko je bila prisotnost alergij s strani staršev v PLACEBO skupini 50 %, še večja pa je bila razlika v številu alergij pri materah, številčno jih je bilo v LK7 skupini 13 oziroma ena polovica, v PLACEBO pa 10 oziroma ena tretjina (Preglednica 14). V LK7 skupini je bila pri dveh alergikih obremenitev zelo velika, saj je bila v družini prisotna tudi astma. Podrobni podatki, v katerih skupinah se je razvila alergija pri otrocih, so vidni na sliki 19, podrobneje pa so alergije pri skupini LK7 prikazane v preglednici 15.

Preglednica 14: Primerjava obremenjenosti družin za skupini LK7 in PLACEBO

Obremenitev družine	LK7	Delež	PLACEBO	Delež
Ni alergije v družini	3	12	8	27
Alergija v širši družini	6	23	7	23
Alergija v ožji družini (starši)	17	65	15	50
Mati alergik	10	38	5	17
Mati in oče alergik	3	12	5	17
Oče alergik	4	15	5	16
	26	100	30	100



Slika 19: Število otrok alergikov in nealergikov za skupini LK7 in PLACEBO glede na družinsko obremenitev

Preglednica 15 : Otroci z alergijo, katerih matere so uživale LK7.

Spol	Opis alergije otroka	Kdo ima v družini alergijo	Opis alergije v družini	Zdravila, ki so jih uživale matere
deklica	mleko, jajca, arašidi in drugi prehranski alergeni	mati	dermatitis, astma, seneni nahod	Euthyrox, Lamictal, Seratide, v nosečnosti še: Folacin, Legofer, Ranital
deklica	mleko, jajca	mati	pršica, dlaka	Ferrum, Aerus
deklica	jajca, mleko	mati, širša družina	sonce, drugi inhalatorni alergeni	
deček	mleko, jajca	oče, tudi širša družina	astma	Tifol, Retafer

Posebej smo analizirali še otroke iz družin, kjer je bila AO močna, saj so imeli alergije tudi sorojenci (Preglednica 16), preiskovanci pa kljub temu v prvem letu niso razvili alergij. Ugotovili smo, da so v tej rizični skupini devetih otrok kar 3 prostovoljke od 8 (ena je rodila dvojčka) uživale probiotik LK7. To nakazuje, da je uživanje seva LK7 med

nosečnostjo varno in ne poveča tveganja za pojav alergij pri otrocih, ki izhajajo iz obremenjenih družin. Da bi ugotovili, ali lahko uživanje seva LK7 v času nosečnosti prispeva k zmanjšanju tveganja za pojav alergij pri otrocih z obremenitvijo, pa bi morali imeti večji vzorec.

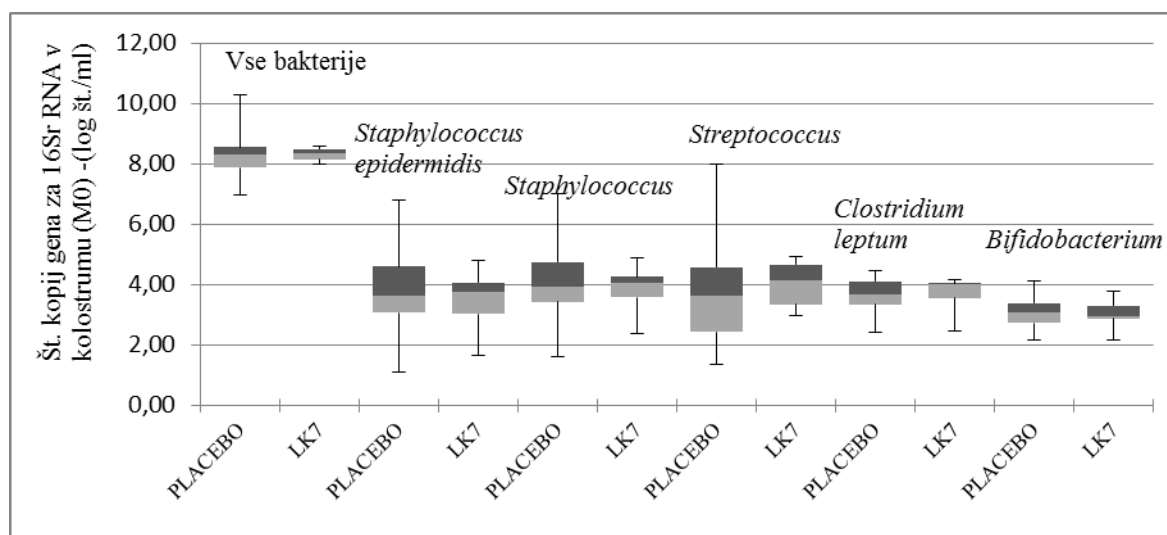
Preglednica 16: Primeri močno obremenjenih družin, kjer otroci v prvem letu niso razvili alergij.

Kdo ima alergijo	Vrsta alergije			
	Sorojenec	Mati	Oče	Širša družina
*mati	arašidi	pršica		
*mati	mleko	pršica, I		
mati	pršica, I	I		P, I
oče	mleko, jajca, P		I	
oče	pršica		pršica	
oče/mati	I	I	I	zdravila, drugo
ŠD	pršica, P, I			
*ŠD	pršica			I
*ŠD	pršica			I

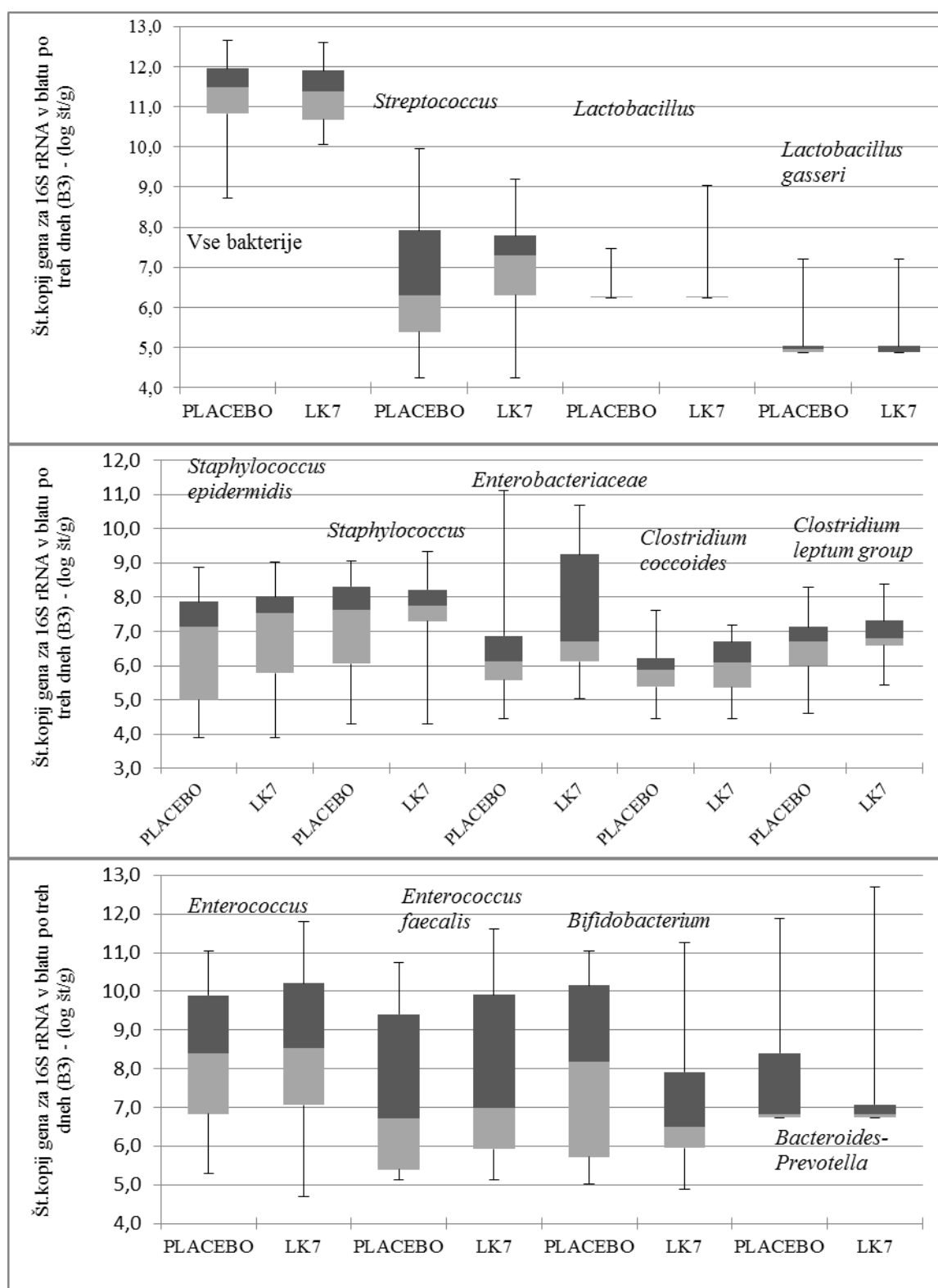
P = drugi prehranski alergeni; I = drugi inhalatorni alergeni; * mati uživala *Lactobacillus (Lb.) gasseri* K7.

Rezultati kvantifikacije celotne mikrobne populacije in različnih skupin bakterij v blatu otrok, odvzetem 3 dni po rojstvu (B3), in kolostrumu (M0), z metodo qPCR (število kopij gena za 16S rRNA log št./g blata oziroma /ml kolostruma) za PLACEBO in LK7 skupino so v prilogi C1 oziroma C2.

Iz prikazane slike za mikrobno populacijo bakterij v kolostrumu (Slika 20) se vidi, da ni večjih razlik med skupinama, skupina LK7 ima le manj razstresene rezultate (50 % vzorcev je bolj homogenih).



Slika 20: Prikaz kvantifikacije izbranih bakterij v kolostrumu (M0), z metodo qPCR (število kopij gena za 16S rRNA log št./ml kolostruma) za PLACEBO in LK7 skupino



Slika 21: Prikaz kvantifikacije bakterij v blatu otrok, odvzetem 3 dni po rojstvu (B3), z metodo qPCR (število kopij gena za 16S rRNA log št./g blata) za PLACEBO in LK7 skupino

4.3.3.2 Uživanje probiotičnih živil in probiotičnih prehranskih dopolnil v času nosečnosti in dojenja

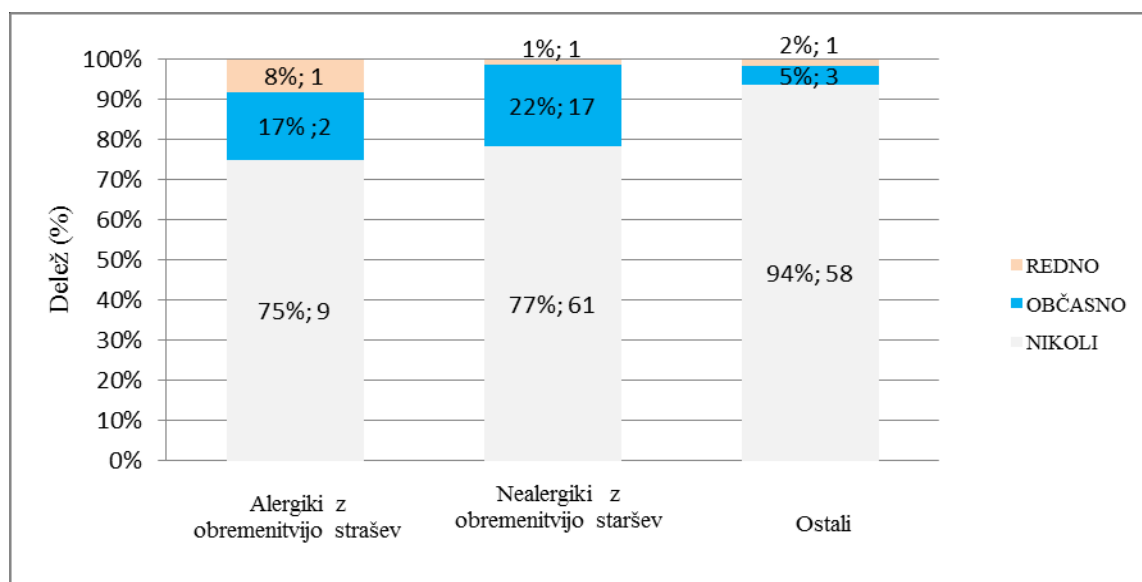
V preglednici 17 je prikazano, kako pogosto so matere v času nosečnosti in dojenja uživale probiotike, dodane živilom (PŽ), in probiotike v prehranskih dopolnilih in OTC zdravilih (P). Vidimo, da med skupinama otrok s povečanim tveganjem za razvoj alergij (z AO), pri katerih se je alergija razvila (12 otrok), in pri tistih, brez alergij (79 otrok), ni opaznih razlik glede uživanja PŽ in P.

Preglednica 17: Število otrok, ki so ali niso razvili alergije, glede na pogostnost uživanja probiotikov, dodanih živilom (PŽ), in probiotikov v prehranskih dopolnilih in OTC zdravilih (P) njihovih mater.

Pogostnost uživanja PŽ in/ali P	Alergiki AO	Nealergiki AO	Drugi	Skupaj
Nič P/nič PŽ	1	9(-3)*	5(-2)	15(-5)
Nič P/občasno PŽ	2	18	22	42
Nič P/redno PŽ	6	34	31	71
Občasno P/občasno PŽ	1	3	1	5
Občasno P/redno PŽ	1	14	2	17
Redno P/redno PŽ	1	1	1	3
Ni podatka.			2	2
Skupaj	12	79(-3)	64(-2)	155(-5)

*Število v oklepaju predstavlja dvojčke, da ne bi podvajali podatkov mater.

P so redno (več kot enkrat tedensko) ali občasno (manj kot enkrat mesečno) uživale 3 matere iz skupine otrok alergikov in le 18 mater nealergikov. Odstotni delež rednega ali vsaj občasnega uživanja P je prikazan na sliki 22.



Slika 22: Pogostnost uživanja probiotikov v prehranskih dopolnilih in OTC zdravilih (P) s strani matere alergikov in nealergikov v odstotnih deležih in številčno

Matere z družinsko AO otrok so uživale 15 različnih P. Pogostnost in frekvenca uživanja P sta prikazani v preglednici 18, vrsta P, ki so jih matere uživale v času nosečnosti in ali dojenja, pa v preglednici 19, ločene za matere alergikov in nealergikov.

Preglednica 18: Pogostnost in frekvenca uživanja probiotikov v prehranskih dopolnilih in OTC zdravilih (P), ločeno za matere alergikov in nealergikov

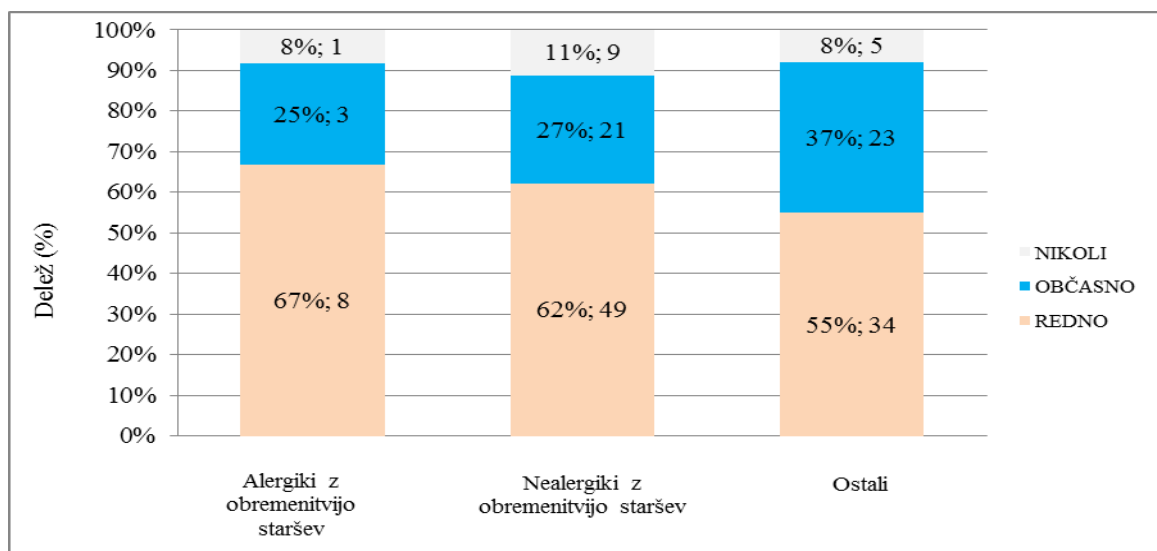
Število P		Občasno					Redno		
		0	1	2	3	4	0	1	2
Število mater alergikov	12	10		1	1		11	1	
Število mater nealergikov	76	58	13	3	1	1	75		1
Skupaj število mater	88	58	14	6	5	5	86	1	1

Iz preglednice 18 vidimo, da sta pri otrocih alergikih le 2 materi občasno uživali po 2 do 3 P in 1 mati 1 P izdelek redno, pri otrocih nealergikih pa so matere občasno uživale od 1 do 4 izdelke P in le 1 mati 2 P redno.

Preglednica 19: Vrste izdelkov in število mater, ki so uživale posamezen probiotik v prehranskih dopolnilih in OTC zdravilih (P).

P	Občasno		Redno		Skupaj
	Alergik	Nealergik	Alergik	Nealergik	
LINEX		8	1		9
LINEX FORTE	1	6			7
GYNOPHILUS	1	2		1	4
PROLIFE (pastile)		2			2
BIOGAIA		1			1
BION 3 SENIOR		1			1
LACTOGYN (kapsule)	1				1
LEPICOL		1			1
PROBIOLEX (kapsule)		1			1
PROBIOLEX (vrečke)		1			1
PROLIFE (kapsule)	1				1
PROLIFE (stekleničke)	1				1
WAYA AB		1			1
WAYA IT		1			1
YOGERMINA 100 (stekleničke)		1			1

Matere z družinsko AO otrok so uživale 30 različnih PŽ. 8 mater otrok alergikov je PŽ uživalo redno in 3 občasno. Med materami nealergikov jih je 49 uživalo PŽ redno in 21 občasno. Odstotni deleži ne kažejo večjih razlik, nekoliko višji delež uživanja PŽ se je pokazal celo pri skupini mater, katerih otroci so imeli alergije (Slika 23).



Slika 23: Pogostnost uživanja probiotikov, dodanih živilom (PŽ) s strani matere alergikov in nealergikov v odstotnih deležih in številčno

Podrobnejši prikaz o pogostnosti in frekvenci PŽ, ki so jih uživale matere, je v preglednici 20. Matere alergikov so uživale do 6 izdelkov redno in do 5 občasno, matere nealergikov pa do 8 redno in do 16 izdelkov občasno. Najpogostejši PŽ, ki so jih uživale matere družinsko obremenjenih otrok, so prikazani v preglednici 21 in 22. PŽ so rangirani po številu mater, ki so uživale izdelek.

Preglednica 20: Pogostnost in frekvenca uživanja probiotikov, dodanih živilom (PŽ), ločeno za matere alergikov in nealergikov

	Občasno												Redno							
Število PŽ	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	16	0	1	2	3	4	5	6	8	
Število mater alergikov 12	3	2		3		4						4	2	3	1	1		1		
Število mater nealergikov 76	17	10	11	10	11	7	4	2	1	2	1	28	25	13	3	3	2		2	
Skupaj število mater 88	20	12	11	13	11	11	4	2	1	2	1	32	27	16	4	4	2	1	2	

Preglednica 21: Probiotiki, dodani živilom (PŽ), ki vsebujejo seva *Lactobacillus acidophilus*-LA5 in *Bifidobacterium*-BB12 ter so jih matere otrok z družinsko atopično obremenitvijo najpogosteje uživale.

PŽ	Občasno		Redno		Skupaj matere
	alergik	nealergik	alergik	nealergik	
EGO probiotični jogurt	5	27	4	18	54
LCA probiotični jogurt	7	25	3	13	48
LCA probiotični sir	4	12	1	4	21
LCA probiotični napitek	2	12	1	5	20
Probiotični napitek Zdravo življenje	1	12	1	5	19
Milfina probiotični jogurt		8		2	10
Bio probiotični jogurt KREPKO		7		2	9
Spar LCA probiotični jogurt		4	1	1	6
LC probiotični jogurt Tuš		5		1	6
ProNutri pinjenec		3		2	5
ProNutri jogurt		2		1	3
Spar Vital probiotični napitek	1	1			2

Preglednica 22: Drugi izdelki z dodanimi probiotiki (PŽ), ki so jih matere otrok z družinsko atopično obremenitvijo najpogosteje uživale.

PŽ	Občasno		Redno		Skupaj matere
	alergik	nealergik	alergik	nealergik	
ACTIVIA	2	17	2	8	29
ACTIVIA YOGURT DRINK	4	17	1	6	28
Probiotični jogurt Zdravo življenje	2	13	3	10	28
ACTIMEL	1	16	3	6	26
Spar Natur pur biojogurti	1	4	1	1	7
Spar Vital probiotična posneta skuta		5		1	6
SenSia	1	4		1	6
Milfina probiotični jogurt		3		3	6
b.Aktiv LGG		4		1	5
BIFIDUS		4		1	5
Probiotični napitek Mercator		2		2	4
Milfina probiotični jogurt		3		1	4
YOSOI Valsoia sojin jogurt		3		1	4
SOJADE sojin jogurt		2		1	3
Provamel Bio Soia Yofu sojin jogurt		2		1	3
DELIUP, DELISSE		2			2
Spar Vital sir v rezinah s pinjencem		1			1
JOYA sojin jogurt		1			1

4.3.3.3 Uživanje DHA matere pred in med nosečnostjo ter dojenjem

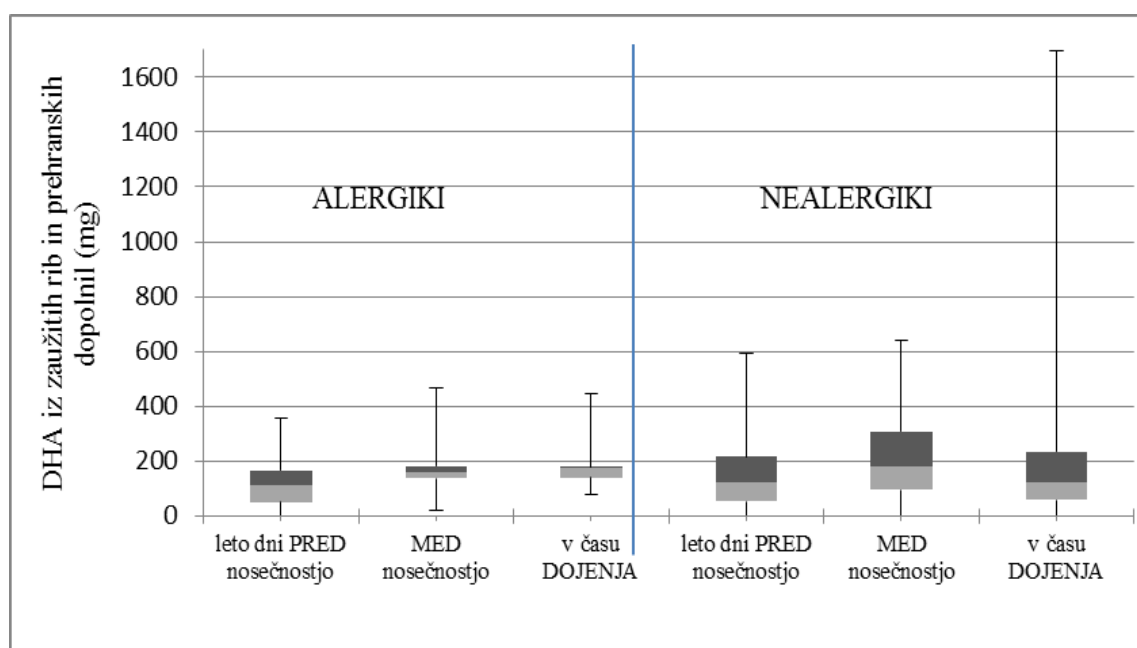
V preglednici 23 so prikazane vrednosti, izračunane iz podatkov, ki smo jih pridobili s pomočjo vprašalnika, za količine DHA v mg, ki so jih matere zaužile pred in med nosečnostjo ter v času dojenja v obliki rib in prehranskih dopolnil. Upoštevali smo samo podatke za otroke z AO od staršev.

Matere alergikov so pred in med nosečnostjo zaužile manj rib in ribjih izdelkov kot matere nealergikov, medtem ko so v času dojenja več rib in ribjih izdelkov zaužile matere alergikov.

Preglednica 23: DHA iz zaužitih rib in prehranskih dopolnil v mg

	ALERGIKI			NEALERGIKI		
	leto dni PRED nosečnostjo	MED nosečnostjo	v času DOJENJA	leto dni PRED nosečnostjo	MED nosečnostjo	v času DOJENJA
MIN	0,00	19,79	75,44	0,00*	0,00	0,00
Q1	50,52	135,46	139,34	51,74	95,31	57,32
Q2(Me)	112,40	157,09	173,31	122,51	177,89	119,73
Q3	166,51	181,12	179,56	214,68	306,55	235,17
MAX	356,97	465,41	444,98	592,48	639,17	1698,44
Povprečje	122,71	189,65	195,73	149,80	206,21	178,56
SD	99,61	123,64	105,16	126,10	149,70	227,40

*0,00 = nič rib in prehranskih dopolnil

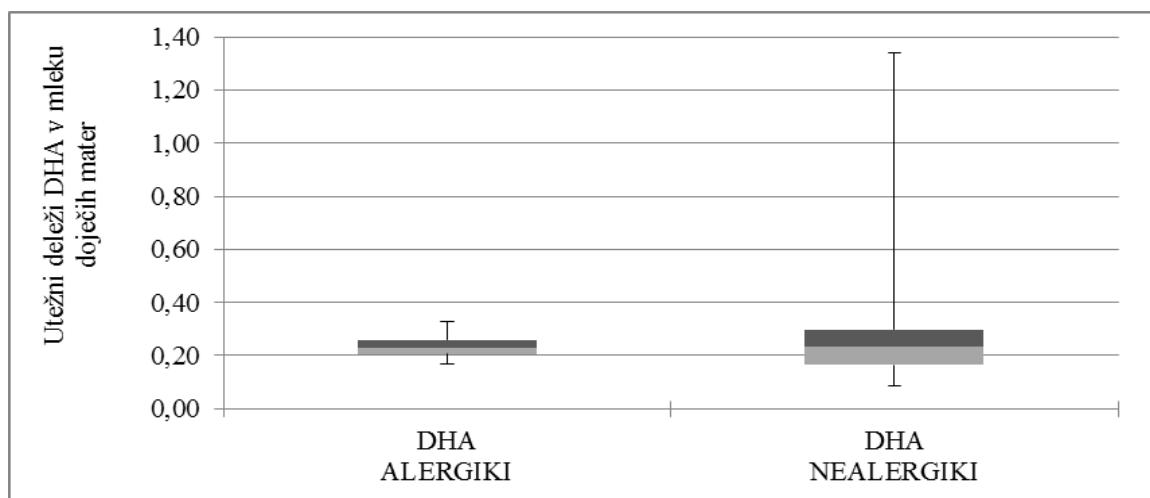


Slika 24: DHA iz zaužitih rib in prehranskih dopolnil pred, med nosečnostjo in v času dojenja (v mg)

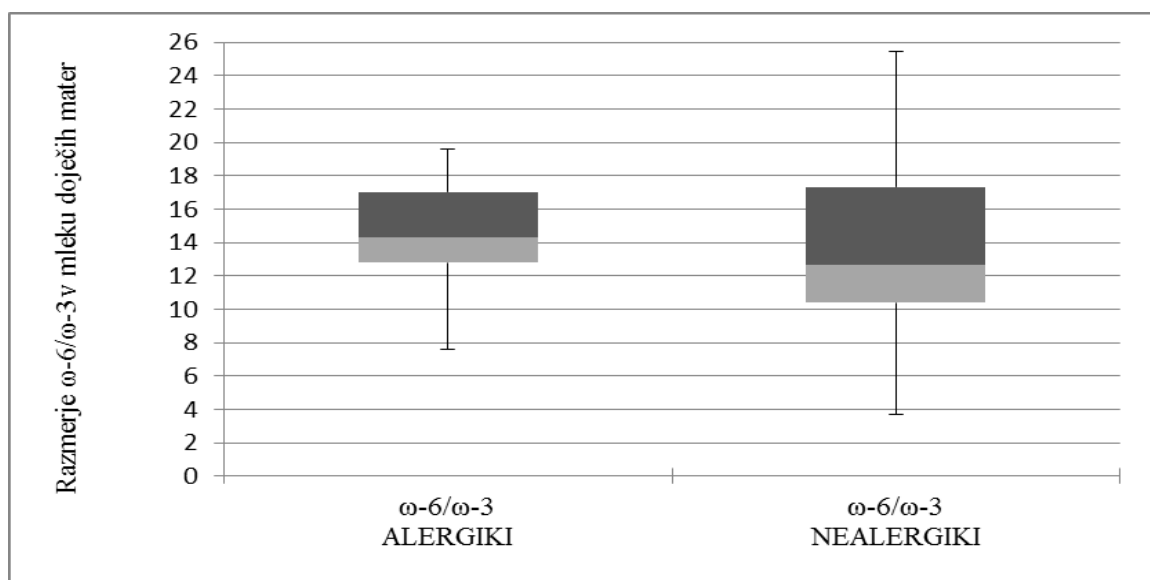
Zanimala nas je tudi povezava med količino DHA, ki so jo matere zaužile z ribami in prehranskimi dopolnili, in količino DHA ter razmerjem omega maščobnih kislin (ω -6/ ω -3) v zrelem mleku doječih mater 30 dni po porodu. Tudi tu smo upoštevali samo podatke za otroke staršev z AO.

Preglednica 24: Utežni deleži DHA (22 : 6; ω -3) in razmerja ω -6/ ω -3 v mleku doječih mater

	ALERGIKI		NEALERGIKI	
	22 : 6; ω -3	ω -6/ ω -3	22 : 6; ω -3	ω -6/ ω -3
MIN	0,17	7,56	0,09	3,70
Q1	0,21	12,78	0,16	10,38
Q2(Me)	0,23	14,33	0,23	12,67
Q3	0,26	17,04	0,30	17,33
MAX	0,33	19,62	1,34	25,41



Slika 25: Prikaz utežnih deležev DHA v mleku doječih mater otrok alergikov in nealergikov



Slika 26: Prikaz razmerja ω -6/ ω -3 v mleku doječih mater otrok alergikov in nealergikov

4.3.3.4 Statistično preverjanje povezanosti uživanja probiotikov in dolgoverižnih večkrat nenasičenih maščobnih kislin s pojavnostjo alergij pri otrocih (3. delovna hipoteza)

S statistično analizo podatkov smo želeli preveriti:

- ali obstaja povezava med uživanjem probiotikov v času nosečnosti in dojenja ter pojavom alergij pri preiskovancih

Ločeno smo obravnavali vpliv uživanja PŽ in P. V obeh primerih smo najprej uvedli novo spremenljivko pri uživanju P in PŽ, ki je združila občasno in redno uživanje v eno vrednost, nikoli pa pustili ločeno. Nato smo oblikovali kontingenčni tabeli. Pri obeh tabelah je v eni celici manjkal pogoj minimalno 5 enot, zato smo poleg Pearsonovega koeficienta izračunali tudi Fisherjev eksaktni test. Test je pokazal, da ne moremo zavrniti

ničelne domneve, ki pravi, da med jemanjem P oziroma PŽ in pojavnostjo alergij pri otrocih ne obstaja povezava ($p = 1$), ter sprejeti alternativne hipoteze o povezavi med uživanjem probiotikov in pojavom alergij. Izračuna sta prikazana v prilogi C3.

Preglednica 25: Kontingenčna tabela za preverjanje povezave med uživanjem probiotikov v prehranskih dopolnilih in OTC zdravilih (P) in pojavnostjo alergij

		Mati uživala P		Skupaj
		Nikoli	Občasno, redno	
Otrok alergik/nealergik	Ne	61	18	79
	Da	9	3	12
Skupaj		70	21	91

Preglednica 26: Kontingenčna tabela za preverjanje povezave med uživanjem probiotikov, dodanih živilom (PŽ) in pojavnostjo alergij

		Mati uživala PŽ		Skupaj
		Nikoli	Občasno, redno	
Otrok alergik/nealergik	Ne	9	70	79
	Da	1	11	12
Skupaj		10	81	91

- b) ali obstaja povezava med količino zaužite DHA (z uživanjem rib ali prehranskih dopolnil) matere pred nosečnostjo, med nosečnostjo in v času dojenja ter pojavnostjo alergij pri preiskovancih

Za preverjanje hipoteze smo znova iskali razliko v povprečnih vrednostih zaužite DHA (pred in med nosečnostjo ter v času dojenja) med otroci, ki niso razvili alergij, in tistimi, pri katerih se je v prvem letu pojavila alergija. Analiza podatkov je pokazala, da imamo kar nekaj manjkajočih vrednosti, predvsem pri podatkih v času dojenja (12,1 %). Manjkajoče vrednosti smo se odločili nadomestiti z metodo EM (expectation-maximization). V ta namen smo izračunali Little MCAR (*angl.* »missing completely at random«) test, ki je pokazal ($p = 0,084$; ni statistično značilen), da obstaja velika verjetnost, da so manjkajoči podatki naključni. Odločili smo se za uporabo vstavljanja manjkajočih vrednosti in v ta namen ustvarili novo mapo s SPSS podatki. Nato smo izračunali razlike v povprečjih s t-testom. Pri vseh treh spremenljivkah so variance enako porazdeljene, vendar razlike niso statistično značilne (pri vseh je $p > 0,05$). Sprejememo sklep, da ne obstajajo razlike v vrednostih zaužite količine DHA pred nosečnostjo, med nosečnostjo in v času dojenja ter pojavnostjo alergij pri otrocih. Hipotezo smo zavrnili. Izračun je prikazan v prilogi C4.

- c) ali obstaja povezava med količino DHA (22 : 6; ω -3) in razmerjem omega maščobnih kislin (ω -6/ ω -3) v mleku doječih mater ter pojavom alergij pri otrocih

Ker je pregled podatkov znova pokazal veliko manjkajočih vrednosti, smo se tudi v tem primeru odločili za vstavljanje manjkajočih vrednosti s pomočjo expectation-maximization (EM) metode. Pri obeh spremenljivkah smo imeli skoraj 30 % manjkajočih vrednosti. Little MCAR test je tokrat pokazal, da podatki niso manjkajoči popolnoma naključno, zato se nismo odločili za vstavljanje manjkajočih vrednosti, temveč za uporabo neparametričnih

testov, ki so primerni, kadar imamo majhno število enot oziroma podatki niso normalno porazdeljeni. Mann-Whitney U-test, ki smo ga uporabili, ni pokazal povezave med vrednostjo DHA in razmerjem ω -6/ ω -3 v mleku doječih mater ter pojavnostjo alergij pri otrocih ($p > 0,05$; za obe spremenljivki). Izračun je prikazan v prilogi C5.

Kljub temu da nismo ugotovili značilnega vpliva uživanja DHA in probiotikov na pojav alergij v prvem letu življenja otrok z družinsko obremenitvijo, pa za konec predstavljamo zanimiv primer para mati-otrok, v katerem je mati težek alergik, vendar otrok v prvem letu življenja ni razvil alergije.

Iz preglednice 27 je razvidno, da je mati, glede na priporočila (250 mg/dan) (EFSA, 2012), uživala izjemno visoke količine DHA z ribami, ribjimi izdelki in prehranskimi dopolnili predvsem med nosečnostjo in dojenjem, poleg tega pa je uživala še vrsto probiotičnih mlečnih izdelkov. Seveda ostaja vprašanje, ali je prehrana matere, z visoko količino zaužite DHA in uživanjem probiotičnih fermentiranih mlečnih izdelkov, prispevala k zaščiti otroka in zmanjšanju tveganja za pojav alergij, odprto.

Preglednica 27: Primer para mati (težek alergik) – otrok (ni razvil alergije)

1. Obremenjenost otroka z alergijami v družini						
mati		oče		širša družina		
Mleko, jajca, arašidi, ribe, drugi preh. alergeni in drugi alergeni (topila)		Pršica in drugi inhalatorni alergeni		Inhalatorni alergeni (babica)		
2. DHA – količine iz zaužitih rib in ribjih izdelkov oz. iz dopolnil v mg/dan						
leto dni PRED nosečnostjo		MED nosečnostjo		V času DOJENJA		
ribji izdelki	ribji izdelki	dopolnila	skupaj	ribji izdelki	dopolnila	skupaj
189	298	72	370	598	1.100	1.698
3. Uživanje probiotikov – frekvenca in vrste PŽ						
Uživa P nikoli		občasno		Uživa PŽ redno		
		jogurt: Activia, LCA napitek: Mercator, Zdravo življenje sojin jogurt: Provamel Bio Soia Yofu, Yosoi Valsoia		jogurt: Zdravo življenje posneta skuta: Spar Vital		

4.3.4 Drugi preučevani dejavniki matere in okolja

4.3.4.1 Porodna masa otrok, prirast telesne mase matere v času nosečnosti in pojavnost alergij pri otrocih

Otroci, pri katerih se je pojavila alergija, so ob rojstvu tehtali med 2820 in 4045 g oziroma povprečno 3505 g. Porodna masa za 9 otrok (69 %), pri katerih se je alergija pojavila v prvem letu, je bila višja od 3500 g (podrobnejši prikaz je v preglednici 29).

Matere alergikov so med nosečnostjo pridobile povprečno 16,8 kg, najmanj 8,0 in največ 27,9 kg. Povprečna vrednost prirasta telesne mase za celotno analizirano skupino prostovoljk (142 mater; izločene matere dvojčkov) pa je znašala 14,2 kg. Povprečni prirast

telesne mase mater dvojčkov je bil 15,7 kg, vendar v tej skupini ni alergikov (Preglednica 28).

Preglednica 28: Povprečna porodna masa novorojenčkov in prirast telesne mase mater

	Prirast telesne mase mater (kg)	Povprečna porodna masa otrok (g)
Nealergiki brez dvojčkov	13,95	3.369,85
Alergiki	16,75	3.505,77
Skupaj brez dvojčkov	14,12	3.382,11
Dvojčki	15,72	2.577,00

Naredili smo še pregled podatkov samo za otroke z družinsko atopično obremenitvijo staršev (91 otrok). Povprečni prirast telesne mase mater med nosečnostjo pri alergikih (12 otrok) je bil 16,68 kg, medtem ko je bil pri materah nealergikov 13,73 kg. Povprečna porodna telesna masa otrok nealergikov, z dedno atopično obremenitvijo staršev je bila 3238,48 g (3294,66 brez dvojčkov), alergikov pa 3502,08 g.

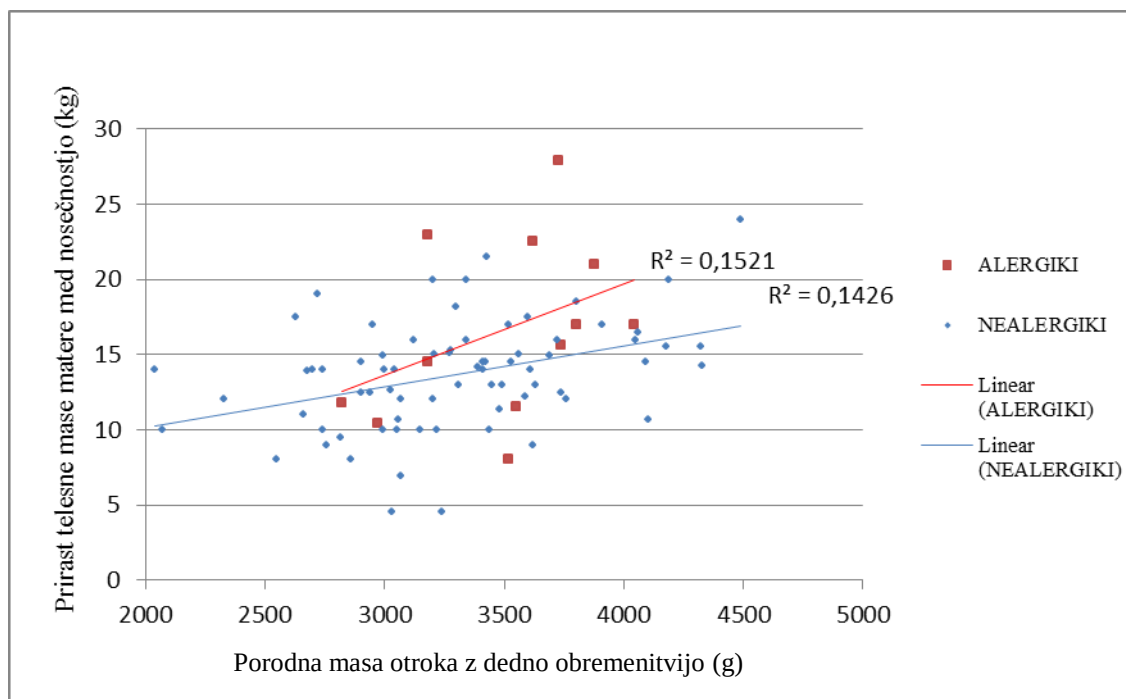
Preglednica 29: Število alergikov in nealergikov glede na porodno maso in prirast teže matere v času nosečnosti

Porodna masa otroka	Prirast telesne mase matere v kg	Alergiki	Nealergiki z obremenitvijo staršev	Drugi nealergiki	Skupaj
1500–2499 g	10–14,99		3	1	4
2500–3499 g	0–9,99		7	5	12
	10–14,99	3	28	16	47
	15–19,99		9	5	12
	20–	1	3	4	8
Ni podatka.				1	1
nad 3500 g	0–9,99	1	1	3	5
	10–14,99	1	10	9	20
	15–19,99	3+1*	10	9	23
	20–	3	2	6	11
Skupaj brez dvojčkov		13	73	59	143
do 2499 g	10–14,99		1	0	1
	15–19,99		2	0	2
	20–			2	2
do 3499 g	10–14,99		2	2	4
	15–19,99		1		1
Skupaj dvojčki			6	4	10
Ni podatka.			0	2	2
Skupaj vsi preiskovanci		13	79	65	155

*Z obremenitvijo širše družine.

Pregledali smo tudi prehranske dnevnike mater alergikov. Po prehranskih navadah se niso bistveno razlikovale od drugih mater, pri nekaterih je bil le vnos hranil ter sladkih živil nekoliko višji. Vse matere alergikov so bile v času nosečnosti vsejede, v času dojenja samo ena ni uživala mesa. Po večini so vse uživale prehranska dopolnila (vitaminsko mineralna, Ca, B-complex, Fe, vitamin C, vitamin E, folno kislino in Mg).

Na sliki 27 je prikazana porodna masa novorojenčkov v odvisnosti od prirasta telesne mase matere pri alergikih in nealergikih.



Slika 27: Porodna masa novorojencev z dedno obremenitvijo in prirast telesne mase matere pri alergikih in nealergikih.

4.3.4.2 Drugi dejavniki matere in okolja

Od drugih dejavnikov matere in okolja, ki bi lahko vplivali na pojavnost alergij, smo obravnavali starost in izobrazbo matere ter okolje bivanja (mesto/podeželje). Vpliva gestacijske starosti otroka in načina poroda na pojavnost alergije nismo analizirali, saj med alergiki ni bilo nedonošenih ali prenošenih otrok, le dva otroka pa sta bila rojena s carskim rezom. Prav tako nismo analizirali načina hranjenja, saj so bili vsi otroci alergiki dojeni.

Vse matere alergikov so bile starejše od 25 let, njihova povprečna starost je bila 30 let, najstarejša je bila stara 36, najmlajša pa 25 let. Več podatkov je prikazanih v preglednici 30.

Preglednica 30: Starost mater preiskovancev in pojavnost alergij pri otrocih

Starost	Povprečna starost matere	Matere skupaj/alergiki		Otrok alergik	Otrok ni alergik	Delež otrok alergikov
od 20 do 24 let	22,00	11	4		11	0 %
od 25 do 29 let	27,88	52	16	7	45	13 %
od 30 do 34 let	31,56	59	27	4	56	7 %
od 35 do 39 let	36,00	30	14	2	28	7 %
od 40 do 44 let	42,50	3	2		3	0 %
Skupaj	31,35	155	63	13	142	8 %

Iz preglednice 31 je razvidno, da se je večje število alergij pojavilo pri otrocih, katerih matere so imele visoko šolo. V tej skupini je bilo tudi največ mater alergikov, 36 od 90, v 5 primerih (od 36) je imel tudi otrok alergijo, po 1 otrok alergik je bil iz družine, kjer je imela mati srednjo šolo ali magisterij/doktorat in je bila tudi sama alergik.

Preglednica 31: Izobrazbena struktura mater in pojavnost alergij pri preiskovancih

	skupaj	Izobrazbena struktura matere		Alergik	
		družine z AO staršev	družine brez AO staršev	Mati*	Otrok
Poklicna šola	2	1	1	1	
Srednja šola	24	11	13	9 (1)	1
Višja šola	3	2	1	1	
Visoka šola	90	56	34	36 (5)	8 + 1**
Magisterij/doktorat	23	13	10	10 (1)	3
Ni podatka.	13	8	5	6	
Skupaj	155	91	64	63 (7)	12 + 1

*V oklepaju pri materi alergiku so navedeni primeri, ko je tudi otrok alergik, pod otrok alergik pa so vsi alergiki.

**1 otrok izhaja iz družine s širšo družinsko obremenitvijo (mati in ali oče nista alergika).

Kar 72 % otrok, vključenih v raziskavo, je izhajalo iz družin, ki so živele v mestu. Iz mestnih družin z obremenitvijo staršev je razvilo alergijo 15,9 % otrok, iz družin s podeželja pa 4,5 % otrok (Preglednica 32).

Preglednica 32: Prikaz alergikov in nealergikov glede na okolje bivanja

	AO staršev				AO širše družine		Brez AO nealergik	Skupaj	
	alergik	ne-alergik	skupaj	% alergikov	skupaj	% alergikov		vsi	%
Mesto	11	58	69	15,9 %	14	7,1 %	29	112	72 %
Podeželje	1	21	22	4,5 %	10	0,0 %	11	43	28 %
Skupaj	12	79	91	13,2 %	24	4,2 %	40	155	100 %

4.3.4.3 Statistično preverjanje povezanosti ostalih dejavnikov matere in okolja ter pojavnosti alergij pri otroku (4. delovna hipoteza)

Želeli smo dobiti odgovore na vprašanja:

- ali obstaja povezava med prirastom telesne mase matere tekom nosečnosti in porodno maso novorojenca

Izračunani korelacijski koeficient je statistično značilen in znaša 0,330, kar ga uvršča med pozitivne in kaže na šibko-srednje močno linearno povezavo. S tem smo potrdili pozitivno povezavo med prirastom telesne mase matere tekom nosečnosti in porodno maso novorojenca (Priloga D1).

- b) ali višja porodna masa matere in porodna masa otroka vplivata na pojavnost alergij pri otroku

V statistično analizo smo vključili samo podatke za preiskovance z obremenitvijo staršev. Najprej smo porodno maso otrok razdelili v range. Uporabili smo kontingenčno tabelo s Fisherjevim eksaktnim testom.

Preglednica 33: Kontingenčna tabela za preverjanje povezave med porodno maso novorojenca in pojavom alergij z uporabo rangov

		Otrok alergik/nealergik		Skupaj
		Ne	Da	
Porodna masa rang (g)	do 2500	6	0	6
	od 2500 do 3500	50	4	54
	nad 3500	23	8	31
Skupaj		79	12	91

Vrednost Fisherjevega eksaktnega testa je ravno nad statistično mejo ($p = 0,058$), kar pomeni, da povezava ni statistično značilna. Glede na to, da je vrednost p zelo blizu meje 0,05, lahko nakazuje, da z višanjem porodne mase raste tveganje za pojav alergij, vendar bi bil potreben za tako sklepanje večji vzorec. Vprašanje zato še vedno ostaja odprto (Priloga D2).

- c) ali obstaja povezava med starostjo preiskovančeve matere in pojavom alergij pri otrocih

V ta namen smo naredili dve starostni skupini, eno do vključno 24 let in vse ostale. Uporabili smo kontingenčno tabelo s Fisherjevim eksaktnim testom.

Preglednica 34: Kontingenčna tabela za preverjanje povezave med starostjo preiskovančeve matere in pojavom alergij pri otrocih

		Starost matere		Skupaj
		Do vklj. 24 let	25 let in več	
Otrok alergik/nealergik	Ne	4	75	79
	Da	0	12	12
	Skupaj	4	87	91

- d) ali obstaja povezava med okoljem, v katerem otrokova družina živi (mestno, podeželje) in pojavom alergij pri preiskovancih?

Za preverjanje hipoteze o vplivu življenjskega okolja družine na pojavnost alergij pri otrocih smo najprej uporabili kontingenčno tabelo s hi-kvadrat testom, kjer smo izračunali Pearsonov koeficient. V kontingenčni tabeli ni bil izpolnjen pogoj, da je v vsaki celici najmanj 5 enot, zato smo naredili še Fisherjev eksaktni test.

Preglednica 35: Kontingenčna tabela za preverjanje povezave med okoljem, v katerem otrokova družina živi (mestno, podeželje) in pojavom alergij pri preiskovancih

		Otrok alergik/nealergik		Skupaj
		Ne	Da	
Okolje bivanja	Mesto	58	11	69
	Podeželje	21	1	22
Skupaj		79	12	91

Test ni pokazal povezave med okoljem in pojavnostjo alergij med preiskovanci ($p = 0,191$) zato smo zaključili, da okolje bivanja nima pomembnega vpliva na pojav alergij pri otrocih (Priloga D4). Prav tako drugi preučevani dejavniki matere in okolja, ki smo jih statistično preverjali glede pojavnosti alergij pri otrocih, niso statistično značilni, nakazuje se le vpliv povečane telesne mase matere v času nosečnosti.

5 RAZPRAVA IN SKLEPI

5.1 RAZPRAVA

Alergijske reakcije so multifaktorialne bolezni. Vse do danes je bilo narejenih že ogromno raziskav, vendar kljub obsežnemu napredku v razumevanju imunskega odgovora še ni bil odkrit temeljni vzrok za nastanek alergij. Te še vedno predstavljajo enega večjih izzivov v sodobni medicini ter aktualno temo v dietiki, javnem zdravstvu in šolstvu. Znano je, da je njihova pojavnost vse bolj tesno prepletena z modernim slogom življenja, zato bo njihova prevalenca sčasoma verjetno vedno večja, s tem pa tudi raziskovanje tega področja vse pomembnejše.

Čas prenatalnega obdobja ter zgodnje otroštvo je z vidika zorenja imunskega sistema in morebitnega razvoja določenih bolezni, ki segajo tudi v odraslo dobo, zelo pomemben. Prav tako ugotavljajo, da je klinična slika alergijskih bolezni, poleg prirojenih dejavnikov, tudi posledica medsebojnega sodelovanja posameznika in okoljskih dejavnikov, ki vplivajo na izoblikovanje črevesne mikrobiote v zgodnjem otroštvu. V diplomskem delu smo bili zato osredotočeni na najmlajšo populacijo. Pogledali smo, koliko ter na kakšne načine lahko v tem času vplivamo na razvoj alergijskih bolezni.

5.1.1 Splošne značilnosti populacije, vključene v raziskavo

V raziskavi je sodelovalo 150 mater (prostovoljk) s svojimi otroki. Pet mater je imelo dvojčke, kar pomeni, da smo skupno analizirali podatke za 155 preiskovancev (pri starosti 1 leto). Populacijo je sestavljalo 54 % dečkov in 46 % deklic. V preiskovani skupini je bilo 92 % donošenih otrok ter 7 % nedonošenih, ena deklica pa je bila prenošena. Vaginalno se je rodilo 77 % otrok, s carskim rezom 20 %, za 4 otroke pa nismo imeli podatka.

Najprej smo naredili pregled klinične slike ter pogledali prevalenco alergijskih bolezni pri preiskovancih ter njihovih družinah. V analizirani skupini otrok se je alergija pojavila pri 5 deklicah in 8 dečkih oziroma pri 8 % od 155 vključenih otrok. Rezultati raziskave o prevalenci alergijskih bolezni pri otrocih v 10 evropskih državah iz leta 2007, v katero je bila vključena tudi Slovenija, so pokazali, da ima alergijo približno 4,7 % otrok, znotraj te skupine pa so najvišji odstotek alergij (kar 7,2 %) zabeležili pri otrocih med 2. in 3. letom starosti (Steinke in sod., 2007). Podatka o prevalenci alergij do enega leta starosti nismo zasledili, je pa znano, da je incidenca (pojavnost) alergij v tem obdobju po navadi najvišja. Starostno obdobje, ki smo ga obravnavali, v literaturi namreč smatrajo za najbolj rizično obdobje z vidika pojava alergij (Accetto, 2002), zato bi bilo logično, da je odstotek nekoliko višji kot pri otrocih med 2. in 3. letom starosti. Znano je, da po prvem letu starosti veliko alergij, predvsem na kravje mleko in jajca, izzveni. Raziskovalci navajajo, da alergija na kravje mleko po prvem letu starosti izzveni v kar 85 do 90 % do tretjega leta starosti. Nekoliko pozneje in manj pogosto izzveni tudi alergija na jajca, navadno na beljakovine rumenjaka prej kot na beljakovine beljaka (Glavnik in sod., 1994). Alergijo na kravje mleko in jajca lahko nato zamenjajo drugi prehranski in ali inhalatorni alergeni, nekateri otroci pa jo celo prerastejo. Pomembno je tudi dejstvo, da se je alergija pri preiskovancih pojavila z različno intenziteto kliničnih znakov. Potek alergije je bil zelo težek le v 5 primerih, medtem ko je bil v 3 primerih srednje težek, 5 preiskovancev pa je

imelo le blage alergijske reakcije (kožne spremembe). Treba je tudi omeniti, da struktura naših preiskovancev ni popolnoma reprezentativna za slovensko populacijo, saj ima kar 75 % mater prostovoljk, vključenih v raziskavo o pojavnosti alergij pri njihovih otrocih do enega leta starosti, najmanj višješolsko izobrazbo. Po podatkih IVZ-ja za leto 2010 je bil za slovensko povprečje delež višje ali visoko izobraženih 36,3 % (Mihevc Ponikvar in Rudolf, 2012). Nobena vključena prostovoljka ni imela samo osnovnošolske izobrazbe. To lahko vpliva na več dejavnikov, povezanih z razvojem alergij, kot so prehrana, higiena, zdravstveno varstvo, življenjski slog in drugi. Glede na izobrazbeno strukturo prostovoljk lahko predvidevamo, da je bilo znanje prostovoljk o zdravi prehrani v povprečju dobro, morda boljše od povprečne slovenske populacije, poleg tega pa je navadno višja izobrazba tudi v pozitivni povezavi s kupno močjo, ki je pomemben dejavnik pri izbiri živil in prehranskih dopolnil ter posledično prehranskih navadah. Hkrati pa je višja izobrazba lahko povezana tudi z nekaterimi negativnimi dejavniki, kot so na primer več stresa (višji delovni položaj ...), okolje bivanja družine (več družin iz mest), manj sorojencev, pretirana higiena (»sterilnost«) in večja uporaba zdravil (antibiotikov) ter nekatere druge. To nam potrjujejo tudi podatki o kraju bivanja, saj je iz mest prihajalo kar 72 % vseh prostovoljk, vključenih v raziskavo. Po podatkih Erhart (2007) naj bi leta 2005 približno 19 % slovenskega prebivalstva živel v mestih, 34 % v primestnem okolju ter 47 % na podeželju, kar pomeni, da naj bi približno polovica slovenskega prebivalstva živela v urbanih naseljih (mestih in primestnem okolju), druga polovica pa na podeželju.

5.1.2 Pojav alergij pri dojenčkih, vključenih v raziskavo, v času od rojstva do enega leta starosti

Kot smo že omenili, se je v analizirani skupini otrok (155) alergija pojavila pri trinajstih otrocih. Alergija se je v večini primerov, in sicer kar pri 92 % otrok, pojavila do 6. meseca starosti še v času dojenja. Vzrok temu je lahko prevladujoč imunski odziv Th2 v tem obdobju, ki predvidoma prevladuje do 4. meseca starosti, zaradi katerega so otroci v prvih mesecih bolj nagnjeni k razvoju alergije, prag za senzibilizacijo pa je nižji. Lahko bi rekli, da ima pojavljanje alergij in klinična slika bolezni v otroški dobi določene zakonitosti in specifičnosti, ki so posledica dosežene stopnje razvoja in dozorevanja specifičnega imunskega sistema in vzpostavljanja barijerne funkcije sluznice prebavil, dihal in kože (Accetto, 2002; Sampson, 2004). Znano je, da je v prvem letu starosti tudi prepustnost nezrele kože za snovi iz zunanjega okolja večja, zato je, zlasti pri otrocih z atopijskim dermatitisom možno, da se alergija na hrano pojavi zaradi senzibilizacije, sprožene po vnosu antigena hrane prek kože (Lack, 2008). Šele v 4. letu starosti naj bi se, po nekaterih podatkih, vzpostavila popolna barierna zaščita sluznice prebavil in normalna prebava hrane, kar zmanjša vnos večjih beljakovinskih molekul prek sluznice (Accetto, 2002).

Pri preiskovancih so bili glavni vzrok alergij prehranski alergeni. V večini primerov so se pojavile alergije na jajca (13-krat) in mleko (9-krat). Alergijo na mleko je razvilo približno 6 % vseh preiskovancev, na jajca pa 8 %. Ponekod se je pojavila tudi reakcija na arašide in nekatere druge prehranske alergene. Alergija na inhalatorne alergene pa je bila poleg prehranskih alergenov prisotna le v treh primerih (približno pri 2 %). Tudi drugi raziskovalci navajajo, da je v prvem letu starosti najpogostejša senzibilizacija na prehranske alergene, predvsem beljakovine kravjega mleka in jajc, šele pozneje se razvije senzibilizacija na inhalatorne alergene. Študij za prevalenco prehranskih alergij pri eno leto

starih otrocih nismo zasledili, prav tako tudi nobene večje epidemiološke študije, izvedene na slovenski populaciji otrok, ki bi pokazala, kakšna je prevalenca drugih prehranskih alergij pri tako majhnih otrocih pri nas. Ocenjujejo, da je alergičnih na hrano med 2 do 10 % ljudi razvitega sveta, vendar pa je treba poudariti, da se epidemiološki podatki precej razlikujejo predvsem glede na starost preiskovane populacije, pa tudi glede na geografsko področje in lokalne prehranjevalne navade (Accetto, 2002). Omenjeni odstotki torej niso najprimernejši za primerjavo z našimi rezultati glede na to, da obravnavamo ravno najbolj rizično starostno skupino z vidika prehranskih alergij. Glede prehranskih alergij je zanimiv tudi podatek, da se je v zadnjih treh desetletjih 20. stoletja prevalenca prehranskih alergij več kot podvojila. Spremenile so se tudi vrste prehranskih alergij. Spremembe pripisujejo novim prehranskim navadam, ki so se zgodile v zadnjem desetletju prejšnjega stoletja, in uvedbi novih tehnoloških postopkov v živilski industriji, ki so po eni strani povečali obstojnost in izboljšali videz izdelkov, po drugi pa, zaradi množične uporabe različnih zaščitnih sredstev in aditivov, tudi njihovo alergogenost (Accetto, 2002).

Pri odrasli populaciji so bile alergije prisotne v 37 % (110 od 300 staršev) oziroma pri 63 materah in 47 očetih. V 19 primerih sta imela alergijo oba od staršev, kar pomeni, da je bilo 91 oziroma 59 % otrok (od 155) obremenjenih z alergijami staršev. Alergija na inhalatorne alergene je bila prisotna v kar 94 družinah od 115 družin z alergijami, izključno na inhalatorne alergene v 43 (37 %) obremenjenih družinah, v 51 pa v kombinaciji z drugimi in ali prehranskimi alergeni. Preostali alergeni (zdravila, piki čebel, kemikalije, mraz, sonce ...) in prehranski alergeni so se pojavljali največkrat v kombinaciji z inhalatornimi, kot samostojni so se preostali alergeni pojavili pri 9 %, prehranski pa pri 5 % obremenjenih družin. Pri odrasli populaciji so prevladovali torej inhalatorni alergeni, kar se sklada tudi z literaturo, v kateri je večkrat poudarjeno, da lahko veliko prehranskih alergij z leti izzveni, pri tem pa se lahko pojavi več alergij na inhalatorne alergene. V literaturi najdemo celo podatek, da približno 80 % otrok z atopijskim dermatitisom pozneje v življenju razvije eno od alergijskih bolezni dihal (Wollenberg in Bieber, 2000).

5.1.3 Vpliv dednih in okoljskih dejavnikov na pojavnost alergij pri otrocih

Drugi del diplomskega dela smo posvetili analizi dejavnikov, ki vplivajo na razvoj alergij. Pogledali in ovrednotili smo dedno atopično obremenitev s strani staršev in širše družine ter ali obstajajo kakšne povezave med razvojem alergij in nekaterimi okoljskimi dejavniki.

Raziskave kažejo, da imajo atopijske bolezni skupno nagnjenost in genetsko osnovo ter da je dednost eden od pomembnejših dejavnikov za pojav alergijskih bolezni (Prescott in sod., 2003), zato smo najprej želeli preveriti težo dednih dejavnikov na pojavnost alergij. V skupini, ki smo jo obravnavali, je bila družinska atopična obremenitev bodisi s strani ožje (91 otrok) bodisi širše družine (24 otrok) prisotna pri kar 74 % otrok (pri 115 otrocih od 155), kar pomeni, da samo 40 otrok (26 %) ni imelo družinske atopične obremenitve. Kljub temu so se v prvem letu življenja pojavile alergije samo pri 13 otrocih, vsi so izhajali iz družin z atopično obremenitvijo, od tega 12 otrok z družinsko atopično obremenitev s strani staršev (v 50 % primerih je bila alergik mati; v 42 % oče; v 8 % sta bila alergika oba starša) in samo 1 otrok s strani širše družine (alergijo sta imela sorojenec in teta). Že iz tega smo lahko sklepali, da je dednost eden ključnih dejavnikov, ki vplivajo na pojav alergij, kar je pokazala tudi statistična obdelava podatkov, ki je potrdila statistično značilen vpliv

dedne obremenitve s strani staršev ($p = 0,018$) in širše družine ($p = 0,022$) na pojavnost alergij pri otrocih do enega leta starosti. S tem smo potrdili hipotezo, da bo pojavnost alergij večja pri otrocih z atopično družinsko obremenitvijo, predvsem kadar so alergiki njihovi starši. Hipoteza, ki smo jo potrdili, se sklada tudi z literaturo, ki pravi, da imajo večjo verjetnost za razvoj atopije otroci atopikov, medtem ko je pojavnost alergij pri otrocih zelo redka, kadar pri starših ni prisotnih nobenih alergij (Felc, 2011). Navajajo tudi, da je incidenca alergije pri otroku 29-odstotna, če je alergičen le eden od staršev, medtem ko naj bi bila precej višja v primeru, kadar sta atopika oba od staršev. Odstotki se od študije do študije nekoliko razlikujejo. V našem primeru je alergijo razvilo približno 13 % otrok, kjer je bil atopik vsaj eden od staršev (14 % otrok, od tistih, kjer je bila alergik samo mati; 18 % otrok, kjer je bil alergik samo oče ter le 5 % vseh tistih otrok, ki so imeli atopično obremenitev s strani obeh staršev).

V nadaljevanju smo se posvetili pomenu nekaterih prehranskih in okoljskih dejavnikov, ki lahko vplivajo na pojavnost alergij. Vemo, da lahko preventiva oziroma zdrav življenjski slog v veliki meri zmanjšata pojavnost različnih bolezni ali jih celo preprečita. Zelo pomembna, če ne celo najpomembnejša, sta že prenatalno obdobje in zgodnje otroštvo.

Znano je, da ima vzpostavljanje črevesne mikrobiote pomembno funkcijo pri zorenju novorojenčkovega imunskega sistema, začetna kolonizacija in razvoj črevesne mikrobiote pa sta odvisni od mikrobiote matere, okolja in prehrane. Zato nas je zanimalo, ali se začetna črevesna mikrobiota atopično obremenjenih otrok in neobremenjenih razlikujeta, prav tako, ali se začetna mikrobiota otrok, pri katerih se pojavi alergija, razlikuje od črevesne mikrobiote zdravih otrok (nealergikov). Različne študije navajajo, da imajo otroci z atopijami spremenjeno črevesno mikrobioto. Študije poročajo o večjem številu stafilokokov, klostridijev in enterobakterij (predvsem *E. coli*) ter nižjem številu enterokokov, bifidobakterij ter bakterij rodu *Bacterioides* pri otrocih z alergijami, v primerjavi z otroki brez alergij (Harmsen in sod., 2000; Björkstén in sod., 2001; Kalliomäki in sod., 2001; Favier in sod., 2002; Gosalbes in sod., 2013). Prav tako zasledimo podatke o spremenjeni mikrobioti pri otrocih z dedno atopično obremenitvijo. Analize kažejo višje število laktobacilov ter bifidobakterij pri otrocih brez atopične družinske obremenitve, kot pri otrocih z obremenitvijo (Harmsen in sod., 2000; Favier in sod., 2002). Znano je, da tudi mikrobioto ob rojstvu v veliki meri prevzamemo od svoje matere. Ugotavljajo celo, da lahko matere, ki imajo alergije, prenesejo specifične seve njihove mikrobiote na svoje potomce ter s tem vplivajo na spremenjeno (neobičajno) mikrobioto novorojencev, ki lahko predisponira otroke k razvoju alergijskih bolezni (Tsaouri in sod., 2013). Zanimive so tudi ugotovitve ene najnovejših študij, da so v vseh vzorcih mekonija novorojenčkov, pri katerih so imele matere v preteklosti težave z ekcemom ter pri dveh tretjinah otrok, pri katerih se je pojavil atopični ekcem do četrtega leta starosti, prevladovala enterobakterije (predvsem rodova *Escherichia* in *Shigella*) (Gosalbes in sod., 2013).

V diplomskem delu smo statistično preverili nekaj hipotez, vezanih na mikrobioto matere in otroka v povezavi s pojavnostjo alergij. Opravili smo analizo primerjave sestave mikrobiote blata preiskovancev (tretji dan po porodu) z atopično obremenitvijo in brez atopične obremenitve staršev ter ločeno še za alergike in zdrave otroke (nealergike). Uporabili smo Mann Whitney U-test. Rezultati kvantifikacije celotne mikrobne populacije

in različnih skupin bakterij v blatu otrok, odvzetem 3 dni po rojstvu (B3), z metodo qPCR (število kopij gena za 16S rRNA/g blata), so pokazali, da razlike v medianah med otroci, ki imajo dedno obremenitev, ter otroci brez dedne obremenitve niso bile statistično značilne, prav tako ne razlike v medianah med alergiki in nealergiki.

Na podlagi razpoložljivih podatkov in opravljenih statističnih testov torej ni možno posplošiti, da se začetna črevesna mikrobiota otrok, pri katerih se pojavi alergija, razlikuje od črevesne mikrobiote zdravih otrok, se pa na majhnem vzorcu, ki smo ga analizirali in tudi grafično prikazali s kvantilnim diagramom, zazna razlike v sestavi začetne črevesne mikrobiote otrok, pri katerih se je pojavila alergija in zdravih otrocih. Mediani velikosti mikrobnih populacij skupin *Staphylococcus epidermidis* in *Staphylococcus* sta bili za 0,8 in 0,6 log večji, mediane velikosti mikrobnih populacij skupin *Enterococcus*, *Enterococcus faecalis* in *Bifidobacterium* pa za 1,7; 1,9 in 1,6 log manjše v blatu otrok, pri katerih se je pojavila alergija.

V drugi fazi smo se usmerili na preučevanje vpliva prehrane matere, s poudarkom na uživanju probiotikov in omega maščobnih kislin med nosečnostjo, na pojavnost alergij v rizični skupini otrok (otroci z obremenitvijo). Glede na podatke iz literature lahko tako probiotiki kot večkrat nenasičene maščobne kisline vplivajo na sestavo črevesne mikrobiote novorojenca, ta pa posredno na zorenje njegovega imunskega sistema.

Skupino otrok z dedno AO s strani staršev smo razdelili na tiste, pri katerih se je alergija razvila ter na nealergike. Nato smo naredili analizo pogostnosti uživanja probiotičnih živil (PŽ) in probiotičnih prehranskih dopolnil (P) njihovih mater med nosečnostjo. Razlik v uživanju PŽ in P pri materah otrok s povečanim tveganjem za razvoj alergij, pri katerih se je alergija razvila (12 otrok) in pri tistih brez alergij (76 otrok), nismo ugotovili, zato smo v nadaljevanju analizo izvedli tudi bolj podrobno. Podrobneje smo pogledali redni ter občasni vnos probiotikov, ločeno po posameznih segmentih, in frekvenco ter vrsto izdelkov, ki so jih matere uživale. Odstotni deleži ne kažejo večjih razlik, nekoliko višji delež uživanja PŽ se je pokazal celo pri skupini mater, katerih otroci so v prvem letu razvili alergije. PŽ smo zaradi preglednejše slike razdelili še v dve skupini ter posebej obravnavali tiste, ki vsebujejo seva *Lactobacillus acidophilus*-LA5 in *Bifidobacterium*-BB12 ter PŽ z drugimi probiotičnimi bakterijami (Preglednica 21). Med skupinama znova ni bilo zaznati pomembnejših razlik. Tudi statistika ni pokazala povezave med uživanju P in PŽ matere tekom nosečnosti in dojenja ter pojavom alergij pri preiskovancih. Znova smo se osredotočili le na atopično obremenjene otroke. Pri obeh spremenljivkah (P, PŽ) je Fisherjev eksaktni test pokazal, da ni povezave med uživanjem P in PŽ ter pojavom alergij. Hipotezo smo torej na podlagi statistične analize zavrnil. Pri tem je treba omeniti, da smo imeli v študiji zelo malo primerov mater (od 7 % matere neobremenjenih otrok do 25 % matere alergikov), ki so uživale P občasno ali redno, zato moramo rezultate obravnavati z veliko mero previdnosti. Opazili pa smo nekaj zanimivih posameznih primerov. Tako na primer otrok prostovoljke, ki je redno uživala *Lb.rhamnosus* GG (probiotični jogurt b. Activ LGG), po mnogih študijah eden od učinkovitejših probiotičnih sevov pri preventivi ter kurativi alergijskih bolezni ter tudi otroci 4 mater, ki so ta jogurt uživale občasno, kljub družinski obremenitvi, niso razvili alergije. Probiotična prehranska dopolnila, ki so jih občasno uživale nekatere nosečnice (Lactogyn, Lepicol, Waya IT, Waya AB), tega seva niso vsebovala. Čeprav mnogi raziskovalci navajajo ugodne učinke uživanja probiotikov v

času nosečnosti na prenatalno stimulacijo dozorevanja imunskega sistema pri otrocih z dedno AO (Walker in sod., 2006; Vandenplas in sod., 2013), je treba poudariti, da se mnenja raziskovalcev od študije do študije še vedno razlikujejo. V preglednih člankih še vedno poročajo o tem, da še ni zadostnih dokazov za predpisovanje probiotikov za zdravljenje ali lajšanje alergijskih simptomov. Več kot deset let je že od prvega poročanja o kliničnih študijah o probiotikih, kljub temu pa je še vedno veliko negotovosti o tem, kakšni so optimalni pogoji (prenatalna in ali postnatalna aplikacija, trajanje uživanja, sestava – idealni sev oziroma sevi, tarčna populacija in kakšen odmerek je potreben) za klinično uporabo probiotikov. Za dokazovanje koristnosti probiotikov pri alergijskih boleznih bi bilo torej treba izvesti študijo, ki bi bila zasnovana in klinično izvedena na enako številčni populaciji z manjšim in večjim tveganjem za jasno demonstriranje koristi pri alergijskih boleznih, kar navajajo tudi nekateri drugi raziskovalci (Pfefferle in sod., 2013). Znano je, da obstajajo različni tipi alergij ter da so na primer za blaženje atopijskega dermatitisa primernejši drugi probiotični sevi kot za zdravljenje in preprečevanje astme. V prihodnosti lahko pričakujemo še veliko napredka na tem področju, kajti cilji današnjih študij so vse bolj usmerjeni v boljše razumevanje bakterijskih procesov in nastalih metabolitov ter posledično izboljšanju učinkovitosti probiotikov. Trenutno pa ostaja odprtih še veliko vprašanj.

Posebno pozornost smo posvetili še otrokom, katerih matere so zadnji mesec pred porodom uživale probiotično bakterijo LK7. V diplomskem delu nas je zanimala pojavnost alergij v tej skupini otrok v primerjavi s skupino otrok, katerih matere so uživale zadnji mesec pred porodom PLACEBO (enak preparat brez LK7). Statistična analiza povezave uživanja LK7 mater in pojavnostjo alergij pri otrocih ni bila smiselna, saj smo imeli premajhno število podatkov. Alergija se je pojavila pri 4 otrocih, katerih matere so uživale LK7 (pri teh otrocih je bila tudi atopična obremenitev velika; pri dveh je bila v družini prisotna tudi astma), 22 preiskovancev pa v prvem letu ni razvilo alergij. V PLACEBO skupini pa se je pojavila alergija pri dveh otrocih. Glede na dobljene rezultate nas je zanimalo, ali sta si skupini približno enakovredni s strani rizika za razvoj alergij, zato smo se posvetili še podrobni analizi genetske obremenitve preiskovancev, katerih matere so uživale probiotični sev LK7 ali PLACEBO. Ugotovili smo, da je bila PLACEBO skupina precej manj obremenjena glede prisotnosti alergij v družinah.

Tu lahko izpostavimo tudi primer, iz katerega bi lahko sklepali, da LK7 deluje prej zaščitno na pojav alergij, kot da bi jih povzročal. V segmentu, kjer smo posebej analizirali otroke iz družin, kjer je bila atopična obremenitev močna (alergijo so imeli sorojenci, prav tako vsaj en član ožje oziroma širše družine), preiskovanci pa kljub temu niso imeli alergij, smo ugotovili, da so v tej rizični skupini (9 otrok) kar 3 prostovoljke od 8 (ena je rodila dvojčka) uživale probiotik LK7.

Drugi ključni element v prehrani nosečih in doječih mater so omega maščobne kisline. V analizi smo zajeli količine DHA (22 : 6; ω -3; z uživanjem rib ali prehranskih dopolnil), zaužite v času pred nosečnostjo, med nosečnostjo in v času dojenja izračunane iz FFQ ter analitsko določene vrednosti DHA (C22 : 6; ω -3) v mleku mater (plinska kromatografija s plemenskim jonizacijskim detektorjem, GC-FIT) in razmerje omega maščobnih kislin (ω -6/ ω -3) v mleku doječih mater. Preverili smo, ali obstaja povezava med obravnavanimi omega maščobnimi kislinami in pojavom alergij pri otrocih. Za preverjanje hipoteze o

vplivu količine DHA, izračunane iz FFQ, smo iskali razliko v povprečnih vrednostih med skupinama mater, katerih otroci niso razvili alergij in katerih otroci so imeli alergije. Srečali smo se z velikim številom manjkajočih vrednosti, predvsem pri podatkih iz obdobja dojenja. Izračunali smo Little MCAR (*angl.* »missing completely at random«), ki je pokazal, da obstaja velika verjetnost, da so podatki manjkajoči popolnoma naključno ($p = 0,084$). Odločili smo se za uporabo vstavljanja manjkajočih vrednosti. Izračunali smo razlike v povprečjih s t-testom ($p > 0,05$), ki je pokazal, da razlike niso statistično značilne. Pri vseh treh spremenljivkah so variance enako porazdeljene. Povezave med vrednostmi DHA pred nosečnostjo, med nosečnostjo in med dojenjem ter pojavom alergij torej ni bilo. Glede na to, da so bili podatki DHA izračunani iz FFQ le na podlagi uživanja rib, ribjih izdelkov in prehranskih dopolnil, kar pomeni, da so lahko nekatere matere uživale druge nenasičene maščobne kisline, ki se v organizmu prav tako lahko pretvorijo v DHA, so nas zanimale še dejanske vrednosti DHA v zrelem mleku mater (vzorci odvzeti 30 dni po porodu). Vendar tudi med količino DHA ter razmerjem omega maščobnih kislin ($\omega-6/\omega-3$) v mleku in pojavom alergij pri otrocih ni bilo statistično signifikantnih povezav. Pri obeh izračunih je pregled podatkov pokazal veliko ne popolnoma naključno manjkajočih vrednosti (MCAR), zato se nismo odločili za vstavljanje manjkajočih vrednosti, temveč za uporabo neparametričnih testov, ki so primerni, kadar imamo majhno število enot oziroma podatki niso normalno porazdeljeni. Mann-Whitney U-test, ki smo ga uporabili, ni pokazal povezave niti med vrednostjo DHA niti razmerjem $\omega-6/\omega-3$ v mleku doječih mater ter pojavom alergij pri otrocih ($p > 0,05$; za obe spremenljivki).

Nadaljevali smo z analizo prehrane otrok. Osredotočili smo se na način hranjenja novorojencev (dojenje/mlečne formule). V preglednih člankih poročajo o dojenju kot enem od zaščitnih dejavnikov pred razvojem najrazličnejših bolezni, med drugim tudi alergij. Dojenje vrednotijo kot ključni element pri zorenju imunskega sistema. Študije, posvečene raziskovanju vpliva formul na pojavnost alergij, po večini zagovarjajo dojenje, v kolikor je le to mogoče. Beljakovine iz mleka prežvekovalcev ter rastlinske beljakovine, ne le, da so pomanjkljive ali presežene v eni ali več sestavin (od teh je le nekatere možno prilagoditi, da jih lahko otrok uživa), ampak so za otroke tudi 100 % tuje beljakovine, s tem pa se po mnenju nekaterih znanstvenikov poveča incidenca alergij (Mannel in sod., 2008). Nekateri celo navajajo, da lahko dodajanje mlečnih formul, izdelanih na osnovi kravjega mleka, občutljivemu dojenemu dojenčku v prvih treh dneh življenja povzroči senzibilizacijo in sproži alergično reakcijo na beljakovine kravjega mleka v prvem letu življenja. Vzrok temu naj bi bila lahko tudi razmeroma velika prepustnost črevesnega epitela pri novorojenčkih v prvih dveh mesecih življenja, kar je tudi kritični čas za sproženje specifičnega imunskega odziva na prehranske antigene. Po mnenju nekaterih strokovnjakov lahko že kratka izpostavljenost formulam, izdelanim na osnovi kravjega mleka, v bolnišnici ali izključno dojenje, kombinirano z redkimi vnosi manjših količin omenjenih formul, sproži tvorbo specifičnih IgE protiteles pri otrocih, ki so nagnjeni k razvoju alergije na kravje mleko (Felc in Skale, 2010). Želeli smo ugotoviti, ali obstajajo morebitne povezave med zdravstvenim stanjem, v našem primeru pojavom alergij otrok, ki so bili dojeni, in tistimi, ki so bili hranjeni s formulami. Sprva smo želeli statistično obdelati tudi povezavo med dojenjem in pojavom alergij, vendar smo ugotovili, da bi morali za dokazovanje tega študijo nekoliko drugače zasnovati. V preiskovani skupini smo imeli premalo alergikov, prav tako so bili v glavnini (76 %) vsi dojeni več kot 6 mesecev. Odločili smo se le za številčni prikaz podatkov. Alergiki so bili v enajstih primerih dojeni

več kot 6 mesecev, od teh v petih primerih celo več kot 1 leto in samo dva manj kot 6 mesecev. Od vseh alergikov je bilo 6 otrok izključno samo dojenih, v sedmih primerih pa je bilo dojenje dopolnjeno s hranjenjem s formulo. Na podlagi majhnega števila rezultatov naše raziskave ne moremo postavljati sklepov o vlogi dojenja pri preprečevanju razvoja alergij v prvem letu življenja otrok z družinsko atopično obremenitvijo. Pomembno je tudi dejstvo, da zavedanje o pomembnosti nekaterih elementov v humanem mleku in s tem o pomanjkljivostih formul narašča. Do danes je bilo narejenih že veliko število raziskav in s tem napredka v razvoju novih formul. Novejše, izboljšane ter obogatene formule so tako danes vse bolj primerljive s humanim mlekom. Med drugim formule bogatijo tudi z dodajanjem probiotičnih bakterij, vendar pa je treba poudariti, da ne vsebujejo vseh zaščitnih dejavnikov in predvsem protiteles, kot so naravno prisotna v humanem mleku. Poraja pa se nam vprašanje, kako dojenje vpliva na otroke, katerih matere so alergiki, ter ali lahko mati alergik z dojenjem predisponira otroka k razvoju alergij. Natančen pregled podatkov iz naše študije (analize) je pokazal, da so bile pri dalj časa dojenih otrocih, ki so razvili alergije, alergiki matere.

Od preostalih dejavnikov nas je zanimal tudi vpliv gestacijske starosti in načina rojstva na pojav alergij, vendar ga nismo mogli preučiti, saj smo imeli med preiskovanci premalo otrok, ki so razvili alergijo, prav tako pa so bili v večini vsi alergiki donošeni ter rojeni vaginalno.

Zgovorni pa so bili rezultati analize porodne mase otrok ter prirasta telesne mase matere v času nosečnosti. V celotni analizirani skupini se je porodna masa novorojenčkov gibala med 1885 in 5030 g, povprečna porodna masa novorojenčkov je znašala 3330 g, povprečna porodna masa otrok, pri katerih se je razvila alergija, pa je bila 3505 g, kar pomeni, da so bili v povprečju nekoliko težji od povprečja vseh preiskovancev. Zanimiv je tudi podatek, da je bila porodna telesna masa vseh otrok, pri katerih se je alergija razvila, višja od 2500 g, pri 69 % (kar 9 otrocih) celo višja od 3500 g. Tudi matere teh otrok so v času nosečnosti pridobile nekoliko več kilogramov od povprečne vrednosti vseh mater, vključenih v našo analizo. Matere alergikov so povprečno pridobile na teži za 16,8 kg, medtem ko je povprečje za celotno analizirano skupino prostovoljk (142 mater; izločene matere dvojčkov) znašalo 14,1 kg. Povprečni prirast telesne mase mater (5), ki so imele dvojčke, je bil 15,72 kg, vendar v tej skupini ni bilo otrok, ki bi v prvem letu razvili alergijo. Za analizo o povezavi med porodno maso otrok in pojavom alergij smo porodne mase otrok razdelili v tri skupine in uporabili range. Uporabili smo kontingenčno tabelo s Fisherjevim eksaktnim testom. Vrednost Fisherjevega eksaktnega testa je ravno nad statistično mejo $p = 0,058$. Povezava med porodno maso otroka in pojavnostjo alergij torej obstaja, vendar pa ta ni statistično značilna. Glede na to, da je vrednost zelo blizu meje, lahko nakazuje, da z višanjem porodne mase raste tveganje za pojav alergij, vendar bi bil potreben za tako sklepanje večji vzorec. Zanimalo nas je tudi, ali obstaja povezava med prirastom telesne mase matere tekom nosečnosti in porodno maso novorojenca. Izračunali smo korelacijski koeficient, ki je statistično značilen in znaša 0,330, kar ga uvršča med pozitivne šibke do srednje močne linearne povezave. Hipotezo smo potrdili, torej lahko rečemo, da obstaja povezava med prirastom teže matere tekom nosečnosti ter porodno maso novorojenca.

Pri ugotavljanju vpliva okolja, iz katerega prihajata otrok in njegova družina (mesto/podeželje), na pojav alergij v prvem letu otrokovega življenja, smo ugotovili, da je

16 % otrok iz mesta razvilo alergijo, iz podeželja pa samo slabih 5 %. Kljub razmeroma veliki razliki v deležu otrok iz mesta, ki so razvili alergijo, pa vpliv okolja na pojavnost alergij med preiskovanci ni bil statistično značilen ($p = 0,191$), saj je 72 % družin izhajalo iz mest.

Naša zadnja hipoteza se je nanašala na povezavo med starostjo matere in pojavom alergije v prvem letu življenja otroka. Številne študije poročajo, da je idealen čas za zanositev nekje do 25. leta starosti matere. Znano je, da se plodnost žensk z leti zmanjšuje, povečuje pa se tveganje za nastanek genetskih okvar materinega dednega materiala, kar lahko posledično vpliva na zdravje otroka (van Noord-Zaadstra in sod., 1991; Utting in Bewley, 2011). Tudi mi smo želeli statistično preveriti, ali je pri otrocih, katere matere so bile starejše od 25 let, večja pojavnost alergij. V ta namen smo naredili dve starostni skupini, eno do vključno 24 let in vse preostale. Vse matere alergikov so bile res starejše od 25 let, povprečna starost mater alergikov je bila celo 30 let. Vendar pa starost matere ni statistično značilno vplivala na pojavnost alergij pri otrocih v prvem letu življenja.

5.2 SKLEPI

- V raziskavi je sodelovalo 150 mater (prostovoljk) s svojimi otroki. Pet mater je imelo dvojčke, zato smo skupno analizirali podatke za 155 preiskovancev (pri starosti 1 leto). V analizirani skupini otrok se je alergija v prvem letu življenja pojavila pri 5 deklicah in 8 dečkih. To pomeni, da se je alergija pojavila pri 8 % od 155 vključenih otrok. Zaradi majhnega števila otrok, pri katerih se je v prvem letu pojavila alergija, in pomanjkanja nekaterih podatkov določenih hipotez statistično nismo mogli preverjati.
- Alergija se je v večini primerov (pri 92 % dojenčkov) pojavila do 6. meseca starosti še v času dojenja. Glavni vzrok alergij so bili prehranski alergeni. V večini primerov so se pojavile alergije na jajca (13-krat) in mleko (9-krat).
- V skupini, ki smo jo obravnavali, je bila družinska atopična obremenitev bodisi s strani ožje (91 otrok) bodisi širše družine (24 otrok) prisotna pri kar 74 % otrok (pri 115 otrocih od 155). Najpogostejša je bila alergija na inhalatorne alergene, ki je bila prisotna v kar 94 družinah od 115 družin z alergijami.
- V prvem letu življenja so se pojavile alergije samo pri 13 dojenčkih, vsi so izhajali iz družin z atopično obremenitvijo. Potrdili smo statistično značilen vpliv dedne obremenitve s strani staršev ($p = 0,018$) in širše družine ($p = 0,022$) na pojavnost alergij pri otrocih do enega leta starosti in s tem hipotezo, da bo pojavnost alergij večja pri otrocih z atopično družinsko obremenitvijo.
- Slog življenja matere se odraža tudi na njenem otroku. Statistika kaže pozitivno povezavo med prirastom telesne mase matere tekom nosečnosti in porodno telesno maso preiskovancev (korelacijski koeficient = 0,330).
- Povezava porodne mase s pojavnostjo alergij je bila na meji statistične značilnosti ($p = 0,058$). To lahko nakazuje, da z višanjem porodne mase raste tveganje za pojav alergij, vendar bi bil za tako sklepanje potreben večji vzorec.
- Rezultati kvantifikacije celotne mikrobne populacije in različnih skupin bakterij v blatu otrok, odvzetem 3 dni po rojstvu (B3), niso pokazali statistično značilnih razlik med otroci z dedno obremenitvijo ter otroci brez dedne obremenitve, prav tako ne med alergiki in nealergiki. Hipoteze, da se začetna črevesna mikrobiota otrok, pri katerih se pojavi alergija, razlikuje od črevesne mikrobiote zdravih otrok, nismo potrdili.
- Hipoteze, da uživanje probiotikov in DHA med nosečnostjo, zmanjša pojavnost alergij pri otrocih, nismo potrdili. Rezultate pa moramo zaradi majhnega števila otrok, ki so v prvem letu razvili alergije, komentirati z veliko mero previdnosti, saj so posamezni primeri nakazali zaščitno vlogo tako probiotičnih bakterij kot DHA.
- Drugi preučevani dejavniki matere in okolja (način poroda, okolje bivanja družine, starost matere) niso statistično značilno vplivali na pojav alergij pri otrocih v prvem letu življenja. Zadnjo hipotezo smo s tem delno potrdili.

6 POVZETEK

Alergijske ali preobčutljivostne reakcije so najpogostejše imunske bolezni, ki so v zadnjih desetletjih v izrazitem porastu. Sodijo med nezaželene imunske reakcije, ki organizmu ne prinesejo koristi. Nastanejo zaradi nepravilno uravnanega razmerja med Th1 in Th2 imunskim odzivom. So kompleksne, zapletene in multifaktorialne bolezni, kar pomeni, da na njihov pojav vpliva več dejavnikov. Temeljni vzrok za njihov nastanek, kljub številnim raziskavam ter obsežnemu napredku v razumevanju imunskega odgovora vse do danes, še ni bil odkrit. Z vidika zorenja imunskega sistema in morebitnega razvoja določenih bolezni, ki segajo tudi v odraslo dobo, pa sta zelo pomembna že čas prenatalnega obdobja ter zgodnje otroštvo. Dobro uravnotežena mikrobiota v zgodnjem postnatalnem obdobju je ključna za ustvarjenje imunske homeostaze. Znano je, da je njihova pojavnost tesno prepletena s sodobnim slogom življenja. Porast alergij med drugim pripisujejo slogu življenja v vse bolj »bakterijsko čistem« okolju in posledično nižji stimulaciji z mikrobi v zgodnjem otroštvu ter hkrati vse večji uporabi antibiotikov.

V diplomskem delu smo se osredotočili na najmlajšo populacijo ter pogledali, koliko in na kakšne načine lahko v tem času vplivamo na razvoj alergijskih bolezni. Namen dela je bil ugotoviti, kakšna je bila pojavnost alergij v prvem letu življenja otrok mater, vključenih v raziskavo, ter ali uživanje probiotikov in količina zaužitih DHA ($22:6; \omega-3$) med nosečnostjo vplivata na črevesno mikrobioto novorojenca in pojavnost alergij pri otrocih v prvem letu starosti. Prav tako, ali obstaja povezava med vrednostmi DHA in razmerjem omega maščobnih kislin ($\omega-6/\omega-3$) v mleku doječih mater ter pojavom alergij pri otrocih. Zanimalo nas je tudi, v kako tesni povezavi je, poleg dednosti, razvoj alergij z nekaterimi okoljskimi dejavniki (gestacijska starost otroka, način poroda, okolje bivanja, porodna masa otroka, prirast teže matere v času nosečnosti, njena starost ter izobrazba).

V raziskavi je sodelovalo 150 mater (prostovoljk) s 155 otroci (pet mater je imelo dvojčke), ki so jih spremljali do enega leta starosti. Populacijo je sestavljalo 54 % dečkov in 46 % deklic. V preiskovani skupini je bilo 92 % donošenih otrok ter 7 % nedonošenih, ena deklica pa je bila prenošena. Vaginalno se je rodilo 77 % otrok, s carskim rezom 20 %, za 4 otroke pa nismo imeli podatka. V skupini, ki smo jo obravnavali, je bila družinska atopična obremenitev (AO), bodisi s strani ožje (91 otrok) bodisi širše družine (24 otrok), prisotna pri kar 74 % otrok (pri 115 otrocih od 155). Najpogostejša je bila alergija na inhalatorne alergene, ki je bila prisotna v kar 94 družinah. V analizirani skupini otrok se je alergija v prvem letu življenja pojavila pri 8 % od 155 vključenih otrok. Vsi so izhajali iz družin z atopično obremenitvijo. Alergija se je v večini primerov, in sicer kar pri 92 % otrok, pojavila do 6. meseca starosti, še v času dojenja. Glavni vzrok alergij so bili prehranski alergeni. V večini primerov so se pojavile alergije na jajca (13-krat) in mleko (9-krat).

Za najmočnejši dejavnik predvidevanja za pojav alergij se je v preiskovani skupini otrok izkazala dedna AO s strani staršev ($p=0,018$) in širše družine ($p=0,022$). Potrdili smo statistično značilen vpliv dedne obremenitve na pojavnost alergij pri otrocih do enega leta starosti in s tem hipotezo, da bo pojavnost alergij večja pri otrocih z atopično družinsko obremenitvijo. Na uravnavanje imunskega sistema vplivajo tudi številni pre- in postnatalni okoljski dejavniki. Statistika kaže pozitivno povezavo med prirastom telesne mase matere

tekom nosečnosti in porodno telesno maso preiskovancev (korelacijski koeficient = 0,330), kar pomeni, da se slog življenja matere lahko odraža tudi na njenem otroku. Med analiziranimi okoljskimi dejavniki je bila najbližje statistično značilni povezavi s pojavom alergijskih reakcij pri preiskovancih prav njihova porodna masa ($p = 0,058$), saj je bila na meji statistične značilnosti. To lahko nakazuje, da z višanjem porodne mase raste tveganje za pojav alergij, vendar bi bil potreben za tako sklepanje večji vzorec. Prav tako je znano, da ima vzpostavljanje črevesne mikrobiote pomembno funkcijo pri zorenju novorojenčkovega imunskega sistema, začetna kolonizacija in razvoj črevesne mikrobiote pa sta odvisni od mikrobiote matere, okolja in prehrane. Vendar hipoteze, da se začetna črevesna mikrobiota otrok, pri katerih se pojavi alergija, razlikuje od črevesne mikrobiote zdravih otrok, v našem primeru nismo potrdili. Rezultati kvantifikacije celotne mikrobne populacije in različnih skupin bakterij v blatu otrok, odvzetem 3 dni po rojstvu (B3), niso pokazali statistično značilnih razlik med otroci z dedno obremenitvijo ter otroci brez dedne obremenitve, prav tako ne med alergiki in nealergiki. Tudi hipoteze, da uživanje probiotikov in DHA med nosečnostjo, zmanjša pojavnost alergij pri otrocih, nismo potrdili. Vendar pa je treba rezultate, zaradi majhnega števila otrok, ki so v prvem letu razvili alergije, komentirati z veliko mero previdnosti, saj so posamezni primeri nakazali zaščitno vlogo tako probiotičnih bakterij kot DHA. Preostali preučevani dejavniki matere in okolja (način poroda, okolje bivanja družine, starost matere) niso statistično značilno vplivali na pojav alergij pri otrocih v prvem letu življenja.

7 VIRI

- Abrahamsson T. R., Jakobsson T., Böttcher M. F., Fredrikson M., Jenmalm M. C., Björkstén B., Oldaeus G. 2007. Probiotics in prevention of IgE-associated eczema: a double-blind, randomized, placebo-controlled trial. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 119, 5: 1174–1180
- Accetto M. 2002. Senzibilizacija, akutno in kronično alergijsko vnetje. V: *Pediatrična alerologija*. Kuhar M., Avčin T. (ur.). Ljubljana, Medicinska fakulteta Univerze v Ljubljani: 29–37
- Adams C. A. 2010. The probiotic paradox: live and dead cells are biological response modifiers. *Nutrition Research Reviews*, 23, 1: 37–46
- Adlerberth I., Wold A. E. 2009. Establishment of the gut microbiota in Western infants. *Acta Paediatrica*, 98, 2: 229–238
- Agostoni C., Decsi T., Fewtrell M., Goulet O., Kolacek S., Koletzko B., Michaelsen K. F., Moreno L., Puntis J., Rigo J., Shamir R., Szajewska H., Turck D., van Goudoever J. 2008. Complementary feeding: a commentary by the ESPGHAN Committee on Nutrition. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 46, 1: 99–110
- Amarri S., Benatti F., Callegari M. L., Shahkhalili Y., Chauffard F., Rochat F., Acheson K. J., Hager C., Benyacoub J., Galli E., Rebecchi A., Morelli L. 2006. Changes of gut microbiota and immune markers during the complementary feeding period in healthy breast-fed infants. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 42, 5: 488–495
- AMR 2009. Docosahexaenoic acid (DHA). *Alternative Medicine Review*, 14, 4: 391–399
- Anukam K. C., Reid G. 2007. Probiotics: 100 years (1907-2007) after Elie Metchnikoff's Observation. V: *Communicating current research and educational topics and trends in applied microbiology*. Méndez-Vilas A. (ed.). Badajoz, Spain, Formatex: 466–474
- Arbolea S., Binetti A., Salazar N., Fernández N., Solís G., Hernández-Barranco A., Margolles A., de Los Reyes-Gavilán C. G., Gueimonde M. 2012. Establishment and development of intestinal microbiota in preterm neonates. *FEMS Microbiology Ecology*, 79, 3: 763–772
- Arnoldi A. 2004. *Functional foods, cardiovascular disease and diabetes*. Cambridge, Woodhead Publishing: 466 str.
- Arribas B., Rodriguez M., Camuesco D., Zarzuelo A., Galvez J. 2008. Therapeutic applications of probiotics. *Ars Pharmaceutica*, 49, 1: 5–30
- Arroyo R., Martín V., Maldonado A., Jiménez E., Fernández L., Rodríguez J. M. 2010. Treatment of infectious mastitis during lactation: antibiotics versus oral administration

- of *Lactobacilli* isolated from breast milk. *Clinical Infectious Diseases*, 50, 12: 1551–1558
- Arvola T., Moilanen E., Vuento R., Isolauri E. 2004. Weaning to hypoallergenic formula improves gut barrier function in breast-fed infants with atopic eczema. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 38, 1: 92–96
- Avčin T. 2002. Atopijski dermatitis: Patogeneza, klinična slika in diagnostika. V: *Pediatrična alergologija*. Kuhar M., Avoein J. (ur.). Ljubljana, Medicinska fakulteta: 69–75
- Baelde D., Brassart D., Corthier M. G., Dore M. J., Heyman M., Michel C., Berta L., Bocle J. C., Antoine J. M., Auger I., Caers W., Farrokh C., Rousseau B. 2005. Effect of pre- and probiotics on the immune system. V: *Effects of probiotics and prebiotics on flora and immunity in adults*. Bocle J. C., Thomann C. (eds.). Paris, Agence Francaise de Securite Sanitaire des Aliments: 89–94
- Beck G., Habicht G. S. 1996. Immunity and the invertebrates. *Scientific American*, 275, 5: 60–66
- Behrman K. J., Behrman J., Kliegman R. E. R. M., Jenson R. M., Hal B., Behrman R. E., Jenson H. B. 2004. *Nelson textbook of pediatrics*. 17th ed. Philadelphia, Saunders: 610–792
- Bezkorovainy A. 2001. Probiotics: determinants of survival and growth in the gut. *American Journal of Clinical Nutrition*, 73, Suppl. 2: 399S–405S
- Biasucci G., Rubini M., Riboni S., Morelli L., Bessi E., Retetangos C. 2010. Mode of delivery affects the bacterial community in the newborn gut. *Early Human Development*, 86, Suppl. 1: 13S–15S
- Biavati B., Vescovo M., Torriani S., Bottazzi V. 2000. Bifidobacteria: history, ecology, physiology and applications. *Annals of Microbiology*, 50: 117–131
- Birgisdottir B. E., Kiely M., Martinez J. A., Thorsdottir I. 2008. Validity of a food frequency questionnaire to assess intake of seafood in adults in three European countries. *Food Control*, 19, 7: 648–653
- Björkstén B., Sepp E., Julge K., Voor T., Mikelsaar M. 2001. Allergy development and the intestinal microflora during the first year of life. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 108, 4: 516–20
- Blaut M., Clavel T. 2007. Metabolic diversity of the intestinal microbiota: implications for health and disease. *Journal of Nutrition*, 137, Suppl. 3: 751S–755S
- Bolte G., Krauss-Etschmann S., Konstantopoulos N., Bischof W., Fahlbusch B., Schendel D. J., Wichmann H. E., Heinrich J. 2002. Different effects of endotoxin versus mite and

- cat allergen exposure on T-cell differentiation in infants. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 110, 4: 634–640
- Böttcher M. F., Abrahamsson T. R., Fredriksson M., Jakobsson T., Björkstén B. 2008. Low breast milk TGF-beta2 is induced by *Lactobacillus reuteri* supplementation and associates with reduced risk of sensitization during infancy. *Pediatric Allergy and Immunology*, 19, 6: 497–504
- Boyle R., Ismail I., Kivivuori S., Licciardi P., Robins-Browne R., Mah L., Axelrad C., Moore S., Donath S., Carlin J., Lahtinen S., Tang M. 2011. *Lactobacillus* GG treatment during pregnancy for the prevention of eczema: a randomized controlled trial. *Allergy*, 66, 4: 509–516
- Brandtzaeg P. 2002. The secretory immunoglobulin system: regulation and biological significance. Focusing on human mammary glands. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 503: 1–16
- Bratanič B., Fidler Mis N., Hlastan Ribič C., Poličnik R., Širca Čampa A., Kosem A. 2010. Smernice zdravega prehranjevanja za dojenčke. Ljubljana, Ministrstvo za zdravje Republike Slovenije: 48 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
- Brouwer M. L., Wolt-Plompen S. A. A., Dubois A. E. J., van der Heide S., Jansen D. F., Hoijs M. A., Kauffman H. F., Duiverman E. J. 2006. No effects of probiotics on atopic dermatitis in infancy: a randomized placebo-controlled trial. *Clinical and Experimental Allergy*, 36, 7: 899–906
- Burcelin R. 2012. Regulation of metabolism: a cross talk between gut microbiota and its human host. *Physiology*, 27, 5: 300–307
- Calder P. C. 2006. n-3 polyunsaturated fatty acids, inflammation, and inflammatory diseases. *American Journal of Clinical Nutrition*, 83, Suppl. 6: 1505S–1519S
- Calder P. C. 2009. Polyunsaturated fatty acids and inflammatory processes: New twists in an old tale. *Biochimie*, 91, 6: 791–795
- Chambers H., Dack D. 2009. Chemotherapeutic drugs. V: Basic and clinical pharmacology. 11th ed. Katzung B., Masters S., Trevor A. (eds.). New York, The McGraw-Hill Companies: 966-966
- Chandra R. K. 1997. Five-year follow-up of high-risk infants with family history of allergy who were exclusively breast-fed or fed partial whey hydrolysate, soy, and conventional cow's milk formulas. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 24, 4: 380–388

- Chapel H., Haeney M., Snowden N. 1999. Essentials of clinical immunology. 4th ed. Malden, Mass, Blackwell Science: 77–94
- Chen Z. Y., Kwan K. Y., Tong K. K., Ratnayake W. M., Li H. Q., Leung S. S. 1997. Breast milk fatty acid composition: a comparative study between Hong Kong and Chongqing Chinese. *Lipids*, 32, 10: 1061–1067
- Connor W. E., Lowensohn R., Hatcher L. 1996. Increased docosahexaenoic acid levels in human newborn infants by administration of sardines and fish oil during pregnancy. *Lipids*, 31, Suppl.: 183S–187S
- Conway P. 1997. Development of intestinal microbiota. V: *Gastrointestinal microbiology*. 2nd ed. Mackie R., White B. A., Isaacson R. E. (eds.). New York, Chapman and Hall: 3–38
- Cross M. L. 2002. Microbes versus microbes: immune signals generated by probiotic *lactobacilli* and their role in protection against microbial pathogens. *FEMS Immunology and Medical Microbiology*, 34, 4: 245–253
- Das U. 1991. Essential fatty acids: Biology and their clinical implications. *Asia Pac Journal of Pharmacology*, 6: 317–330
- Das U., Begin M., Horrobin D., Al E. 1988. Clinical significance of essential fatty acids. *Nutrition*, 4: 337–342
- Das U. N. 1994. Beneficial effect of eicosapentaenoic and docosahexaenoic acids in the management of systemic lupus erythematosus and its relationship to the cytokine network. *Prostaglandins, Leukotrienes, and Essential Fatty Acids*, 51, 3: 207–213
- Das U. N. 2002. Essential fatty acids as possible enhancers of the beneficial actions of probiotics. *Nutrition*, 18, 9: 786–789
- Dinarello C. A. 2000. Proinflammatory cytokines. *Chest*, 118, 2: 503–508
- Dominguez-Bello M. G., Costello E. K., Contreras M., Magris M., Hidalgo G., Fierer N., Knight R. 2010. Delivery mode shapes the acquisition and structure of the initial microbiota across multiple body habitats in newborns. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 107, 26: 11971–11975
- Dotterud C. K., Storror O., Johnsen R., Oien T. 2010. Probiotics in pregnant women to prevent allergic disease: a randomized, double-blind trial. *British Journal of Dermatology*, 163, 3: 616–623
- EFSA. 2012. Scientific opinion on the tolerable upper intake level of eicosapentaenoic acid (EPA), docosahexaenoic acid (DHA) and docosapentaenoic acid (DPA). *EFSA Journal*, 10, 7: e2815, doi:10.2903/j.efsa.2012.2815: 48 str.

- Endres S., Ghorbani R., Kelley V. E., Georgilis K., Lonnemann G., van der Meer J. W., Cannon J. G., Rogers T. S., Klempner M. S., Weber P. C. 1989. The effect of dietary supplementation with n-3 polyunsaturated fatty acids on the synthesis of interleukin-1 and tumor necrosis factor by mononuclear cells. *New England Journal of Medicine*, 320, 5: 265–271
- Eshach Adiv O., Berant M., Shamir R. 2004. New supplements to infant formulas. *Pediatric Endocrinology Reviews*, 2, 2: 216–224
- Fallani M., Young D., Scott J., Norin E., Amarri S., Adam R., Aguilera M., Khanna S., Gil A., Edwards C. A., Doré J. 2010. Intestinal microbiota of 6-week-old infants across Europe: geographic influence beyond delivery mode, breast-feeding, and antibiotics. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 51, 1: 77–84
- FAO/WHO. 2002. Guidelines for the evaluation of probiotics in food. Report of a Joint FAO/WHO Working Group on Drafting Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food. London Ontario, Canada, Rome FAO-Food and Agriculture Organisation: 11 str.
<http://ftp.fao.org/es/esn/food/wgreport2.pdf> (10. sept. 2013)
- Favier C. F., Vaughan E. E., De Vos W. M., Akkermans A. D. L. 2002. Molecular monitoring of succession of bacterial communities in human neonates. *Applied and Environmental Microbiology*, 68, 1: 219–226
- Felc Z. 2011. Osnove pediatrije: interno učno gradivo. Celje, Visoka zdravstvena šola v Celju:185str.
http://www.vzsce.si/si/files/default/pdf/spletna_gradiva/2011_8_Ped_FelcKnjiga_A7DC8.pdf (10. sept. 2013)
- Felc Z., Skale C. 2010. Tečaj laktacije za opravljanje izpita za naziv mednarodni pooblaščen svetovalec za laktacijo IBCLC (International Board Certified Lactation Consultant): priročnik. Celje, Društvo svetovalcev za laktacijo in dojenje Slovenije: 387 str.
- Fidler Mis N. 2004. Pomen maščob in maščobnih kislin v prehrani dojenčka. V: *Novosti iz genetike in endokrinologije*. Kržišnik C., Battelino T. (ur.). Ljubljana, Univerza v Ljubljani, Medicinska fakulteta, Katedra za pediatrijo: 76–91
- Fidler N., Salobir K., Stibilj V. 2000. Fatty acid composition of human milk in different regions of Slovenia. *Annals of Nutrition and Metabolism*, 44: 187–193
- Fidler N., Sauerwald T., Pohl A., Demmelmair H., Koletzko B. 2000. Docosahexaenoic acid transfer into human milk after dietary supplementation: a randomized clinical trial. *Journal of Lipid Research*, 41, 9: 1376–1383
- Finley D. A., Lönnerdal B., Dewey K. G., Grivetti L. E. 1985. Breast milk composition: fat content and fatty acid composition in vegetarians and non-vegetarians. *American Journal of Clinical Nutrition*, 41, 4: 787–800

- Fölster-Holst R., Müller F., Schnopp N., Abeck D., Kreiselmaier I., Lenz T., von Rügen U., Schrezenmeir J., Christophers E., Weichenthal M. 2006. Prospective, randomized controlled trial on *Lactobacillus rhamnosus* in infants with moderate to severe atopic dermatitis. *British Journal of Dermatology*, 155, 6: 1256–1261
- Franz C. M., Holzapfel W. H., Stiles M. E. 1999. Enterococci at the crossroads of food safety? *International Journal of Food Microbiology*, 47: 1–24
- Fuller R. 1989. Probiotics in man and animals. *Journal of Applied Bacteriology*, 66, 5: 365–378
- Gaskins H. 1997. Immunological aspects of host/microbiota interactions at the intestinal epithelium. V: *Gastrointestinal microbiology*. Mackie R., White B., Isaacson R. (eds.). New York, International Thomson Publishing: 537–625
- Gismondo M. R., Drago L., Lombardi A. 1999. Review of probiotics available to modify gastrointestinal flora. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 12, 4: 287–292
- Glavnik V., Kuhar M., Porenta-Bišič V., Accetto M. 1994. Alergija za hrano. V: *Izbrana poglavja iz pediatrije*. Kržišnik C. (ur.). Ljubljana, Medicinska fakulteta fakulteta univerze v Ljubljani: 57–62
- Gobbetti M., Cagno R. Di, De Angelis M. 2010. Functional microorganisms for functional food quality. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 50, 8: 716–727
- Gore C., Custovic A., Tannock G. W., Munro K., Kerry G., Johnson K., Peterson C., Morris J., Chaloner C., Murray C. S., Woodcock A. 2012. Treatment and secondary prevention effects of the probiotics *Lactobacillus paracasei* or *Bifidobacterium lactis* on early infant eczema: randomized controlled trial with follow-up until age 3 years. *Clinical and Experimental Allergy*, 42, 1: 112–122
- Gosalbes M. J., Llop S., Vallès Y., Moya A., Ballester F., Francino M. P. 2013. Meconium microbiota types dominated by lactic acid or enteric bacteria are differentially associated with maternal eczema and respiratory problems in infants. *Clinical and Experimental Allergy*, 43, 2: 198–211
- Gourbeyre P., Denery S., Bodinier M. 2011. Probiotics, prebiotics, and synbiotics: impact on the gut immune system and allergic reactions. *Journal of Leukocyte Biology*, 89, 5: 685–695
- Grüber C., Wendt M., Sulser C., Lau S., Kulig M., Wahn U., Werfel T., Niggemann B. 2007. Randomized, placebo-controlled trial of *Lactobacillus rhamnosus* GG as treatment of atopic dermatitis in infancy. *Allergy*, 62, 11: 1270–1276
- Guarner F., Malagelada J.-R. 2003. Gut flora in health and disease. *Lancet*, 361, 9356: 512–519

- Gueimonde M., Kalliomäki M., Isolauri E., Salminen S. 2006. Probiotic intervention in neonates-will permanent colonization ensue? *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 42, 5: 604–606
- Hanson L. Å., Korotkova M. 2002. The role of breastfeeding in prevention of neonatal infection. *Seminars in Neonatology*, 7, 4: 275–281
- Harmsen H. J. M., Wildeboer-Veloo A. C. M., Raangs G. C., Wagendorp A. A., Klijn N., Bindels J. G., Welling G. W., Wildeboer-Veloo A. C. 2000. Analysis of intestinal flora development in breast-fed and formula-fed infants by using molecular identification and detection methods. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 30, 1: 61–67
- Harris N. L., Spoerri I., Schopfer J. F., Nembrini C., Merky P., Massacand J., Urban J. F., Lamarre A., Burki K., Odermatt B., Zinkernagel R. M., Macpherson A. J. 2006. Mechanisms of neonatal mucosal antibody protection. *Journal of Immunology*, 177, 9: 6256–6262
- Hart A. L., Lammers K., Brigidi P., Vitali B., Rizzello F., Gionchetti P., Campieri M., Kamm M. A., Knight S. C., Stagg A. J. 2004. Modulation of human dendritic cell phenotype and function by probiotic bacteria. *Gut*, 53, 11: 1602–1609
- Heikkilä M. P., Saris P. E. J. 2003. Inhibition of *Staphylococcus aureus* by the commensal bacteria of human milk. *Journal of Applied Microbiology*, 95, 3: 471–478
- Hennequin C., Kauffmann-Lacroix C., Jobert A., Viard J. P., Ricour C., Jacquemin J. L., Berche P. 2000. Possible role of catheters in *Saccharomyces boulardii* fungemia. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 19, 1: 16–20
- Holgate S. T. 1997. The cellular and mediator basis of asthma in relation to natural history. *Lancet*, 350, Suppl. 2: 5S–9S
- Holt P. G., Clough J. B., Holt B. J., Baron-Hay M. J., Rose A. H., Robinson B. W., Thomas W. R. 1992. Genetic “risk” for atopy is associated with delayed postnatal maturation of T-cell competence. *Clinical and Experimental Allergy*, 22, 12: 1093–1099
- Holt P. G., Sly P. D., Björkstén B. 1997. Atopic versus infectious diseases in childhood: a question of balance? *Pediatric allergy and immunology: official publication of the European Society of Pediatric Allergy and Immunology*, 8, 2: 53–8
- Huurre A., Kalliomäki M., Rautava S., Rinne M., Salminen S., Isolauri E. 2008. Mode of delivery - effects on gut microbiota and humoral immunity. *Neonatology*, 93, 4: 236–240
- Ihan A. 2000. Imunski sistem in odpornost: Kako se ubranimo boleznim. Ljubljana, Mladinska knjiga: 199 str.

- Ihan A. 2002. Bakterija in gostitelj; Pridobljena (specifična) imunost. V: Medicinska bakteriologija z imunologijo in mikrobiologijo. Gubina M., Ihan A. (ur.). Ljubljana, Medicinski razgledi: 122–135
- Institute of Medicine. 1991. Nutrition during lactation. Washington, D.C., National Academy Press: 326 str.
- Isolauri E. 2004. Dietary modification of atopic disease: Use of probiotics in the prevention of atopic dermatitis. *Current Allergy and Asthma Reports*, 4, 4: 270–275
- Isolauri E., Arvola T., Sütas Y., Moilanen E., Salminen S. 2000. Probiotics in the management of atopic eczema. *Clinical and Experimental Allergy*, 30, 11: 1604–1610
- Janeway C., Travers P., Walport M., Schlomchic M. 2001. Immunobiology: the immune system in health and disease. 5th ed. Edinburgh, Churchill Livingstone: 600 str.
- Jiménez E., Delgado S., Fernández L., García N., Albújar M., Gómez A., Rodríguez J. M. 2008. Assessment of the bacterial diversity of human colostrum and screening of *staphylococcal* and *enterococcal* populations for potential virulence factors. *Research in Microbiology*, 159, 9-10: 595–601
- Jiménez E., Fernández L., Maldonado A., Martín R., Olivares M., Xaus J., Rodríguez J. M. 2008. Oral administration of *Lactobacillus* strains isolated from breast milk as an alternative for the treatment of infectious mastitis during lactation. *Applied and Environmental Microbiology*, 74, 15: 4650–4655
- Jiménez E., Fernández L., Marín M. L., Martín R., Odriozola J. M., Nueno-Palop C., Narbad A., Olivares M., Xaus J., Rodríguez J. M. 2005. Isolation of commensal bacteria from umbilical cord blood of healthy neonates born by cesarean section. *Current Microbiology*, 51, 4: 270–274
- Jiménez E., Marín M. L., Martín R., Odriozola J. M., Olivares M., Xaus J., Fernández L., Rodríguez J. M. 2008. Is meconium from healthy newborns actually sterile? *Research in Microbiology*, 159, 3: 187–193
- Kalliomäki M., Kirjavainen P., Eerola E., Kero P., Salminen S., Isolauri E. 2001. Distinct patterns of neonatal gut microflora in infants in whom atopy was and was not developing. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 107, 1: 129–134
- Kalliomäki M., Salminen S., Arvilommi H., Kero P., Koskinen P., Isolauri E. 2001. Probiotics in primary prevention of atopic disease: a randomised placebo-controlled trial. *Lancet*, 357: 1076–1079
- Kankaanpää P. E., Salminen S. J., Isolauri E., Lee Y. K. 2001. The influence of polyunsaturated fatty acids on probiotic growth and adhesion. *FEMS Microbiology Letters*, 194, 2: 149–153

- Kankaanpää P., Yang B., Kallio H., Isolauri E., Salminen S. 2004. Effects of polyunsaturated fatty acids in growth medium on lipid composition and on physicochemical surface properties of *Lactobacilli*. *Applied and Environmental Microbiology*, 70, 1: 129–136
- Katzung B., Masters S., Trevor A. 2009. Basic and clinical pharmacology. 11th ed. New York, McGraw-Hill Companies: 1218 str.
- Kekkonen R., Kumpu M., Myllyluoma E., Saxelin M. 2009. LGG Summatim: Health effects of LGG. 3rd ed. Helsinki, Valio Ltd.: 47 str.
<http://www.valio.com/mediafiles/7d88cbb5-c2fa-48f2-9b79-c374a90385f0> (10. sept. 2013)
- Kelley D. S., Taylor P. C., Nelson G. J., Mackey B. E. 1998. Arachidonic acid supplementation enhances synthesis of eicosanoids without suppressing immune functions in young healthy men. *Lipids*, 33, 2: 125–130
- Kim J. Y., Kwon J. H., Ahn S. H., Lee S. Y. S. Il, Han Y. S., Choi Y. O., Ahn K. M., Ji G. E. 2010. Effect of probiotic mix (*Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium lactis*, *Lactobacillus acidophilus*) in the primary prevention of eczema: a double-blind, randomized, placebo-controlled trial. *Pediatric Allergy and Immunology*, 21: 386–393
- Kirjavainen P., Arvola T., Salminen S., Isolauri E. 2002. Aberrant composition of gut microbiota of allergic infants: a target of bifidobacterial therapy at weaning? *Gut*, 51, 1: 51–55
- Kirjavainen P. V., Apostolou E., Salminen S. J., Isolauri E. 1999. New aspects of probiotics-a novel approach in the management of food allergy. *Allergy*, 54, 9: 909–915
- Kirjavainen P. V., Gibson G. R. 1999. Healthy gut microflora and allergy: factors influencing development of the microbiota. *Annals of Medicine*, 31, 4: 288–292
- Kirjavainen P. V., Salminen S. J., Isolauri E. 2003. Probiotic bacteria in the management of atopic disease: underscoring the importance of viability. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 36, 2: 223–227
- Kleine-Tebbe A. J., Bufe A., Ebner C., Eigenmann P., Fuchs T., Huttegger I., Jung K., Klimek L., Kopp M. 2009. Die spezifische Immuntherapie (Hypo- sensibilisierung) bei IgE-vermittelten allergischen Erkrankungen. *Allergo Journal*, 18: 508–537
- Kluthe B. 2010. Software für Ernährungs und Diäberatung: Prodi 5.7 Expert Plus. Stuttgart, Nutrition Science: software
- Koenig J. E., Spor A., Scalfone N., Fricker A. D., Stombaugh J., Knight R., Angenent L. T., Ley R. E. 2011. Succession of microbial consortia in the developing infant gut microbiome. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 108, Suppl. 1: 4578S–4585S

- Kok R., de Waal A., Schut F., Welling G., Weenk G., Hellingwerf K. 1996. Specific detection and analysis of a probiotic *Bifidobacterium* strain in infant feces. *Applied and Environmental Microbiology*, 62, 10: 3668–3672
- Koletzko B., Brönstrup a., Cremer M., Flothkötter M., Hellmers C., Kersting M., Krawinkel M., Przyrembel H., Schäfer T., Vetter K., Wahn U., Weißenborn A. 2010. Säuglingsernährung und Ernährung der stillenden Mutter. *Monatsschrift Kinderheilkunde*, 158, 7: 679–689
- Koletzko B., Brönstrup a., Cremer M., Flothkötter M., Hellmers C., Kersting M., Krawinkel M., Przyrembel H., Schäfer T., Vetter K., Wahn U., Weißenborn¹² A., Weißenborn A. 2002. Schwangerschaft und Stillzeit. V: Empfehlungen für die Ernährung von Mutter und Kind. Vol. 158. Dortmund, Springer Medizin: 1–12
- Koletzko B., Cetin I., Brenna J. T. 2007. Dietary fat intakes for pregnant and lactating women. *British Journal of Nutrition*, 98, 5: 873–877
- Koletzko B., Rodriguez-Palmero M., Demmelmair H., Fidler N., Jensen R., Sauerwald T. 2001. Physiological aspects of human milk lipids. *Early Human Development*, 65, Suppl. 1: 3S–18S
- Kopp M. V., Hennemuth I., Heinzmann A., Urbanek R. 2008. Randomized, double-blind, placebo-controlled trial of probiotics for primary prevention: no clinical effects of *Lactobacillus* GG supplementation. *Pediatrics*, 121, 4: 850–856
- Kuitunen M., Viljanen M., Savilahti E. 2007. Probiotics and intestinal permeability in infants with cow's milk allergy and eczema. *Journal of Probiotics and Prebiotics*, 2: 239–244
- Kukkonen K., Savilahti E., Haahtela T., Juntunen-Backman K., Korpela R., Poussa T., Tuure T., Kuitunen M. 2007. Probiotics and prebiotic galacto-oligosaccharides in the prevention of allergic diseases: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 119, 1: 192–198
- Kumar G., Das U., Kumar K., Madhavi N., Das N., Tan B. 1992. Effect of n-6 and n-3 fatty acids on the proliferation of human lymphocytes and their secretion of TNF- α and IL-2 *in vitro*. *Nutrition Research*, 12, 7: 815–823
- Kumar G. S., Das U. N. 1994. Effect of prostaglandins and their precursors on the proliferation of human lymphocytes and their secretion of tumor necrosis factor and various interleukins. *Prostaglandins, Leukotrienes, and Essential Fatty Acids*, 50, 6: 331–334
- Kuster W., Petersen M., Christophers E., Goos M., Sterry W. 1990. A family study of atopic dermatitis. *Archives of Dermatological Research*, 282, 2: 98–102

- Lacey R. W., Lord V. L. 1981. Sensitivity of *staphylococci* to fatty acids: novel inactivation of linolenic acid by serum. *Journal of Medical Microbiology*, 14, 1: 41–49
- Lack G. 2008. Epidemiologic risks for food allergy. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 121, 6: 1331–1336
- Lanning D., Sethupathi P., Rhee K. J., Zhai S. K., Knight K. L. 2000. Intestinal microflora and diversification of the rabbit antibody repertoire. *Journal of Immunology*, 165, 4: 2012–2019
- Looijer van Langen M., Madsen K. 2010. Pre- and probiotics in liver health and function. V: *Bioactive foods in promoting health*. Ross Watson R., Preedy R. V. (eds.). London, Elsevier: 97–116
- Lucas A. 1998. Programming by early nutrition: an experimental approach. *Journal of Nutrition*, 128, Suppl. 2: 401S–406S
- Lutter C. K. 2005. Breast feeding. V: *Encyclopedia of human nutrition*. Vol. 2. 2nd ed. Caballero B., Allen L., Prentice A. (eds.). Amsterdam, Elsevier Academic Press: 232–236
- Mackey A. D., Picciano M. F. 1999. Maternal folate status during extended lactation and the effect of supplemental folic acid. *American Journal of Clinical Nutrition*, 69, 2: 285–292
- Mackie R. I., Sghir A., Gaskins H. R. 1999. Developmental microbial ecology of the neonatal gastrointestinal tract. *American Journal of Clinical Nutrition*, 69, Suppl. 5: 1035S–1045S
- Madan J. C., Salari R. C., Saxena D., Davidson L., O'Toole G. A., Moore J. H., Sogin M. L., Foster J. A., Edwards W. H., Palumbo P., Hibberd P. L. 2012. Gut microbial colonisation in premature neonates predicts neonatal sepsis. *Archives of Disease in Childhood*, 97, 6: 456–462
- Madigan M., Martinko J. 2005. *Brock biology of microorganisms*. 10th ed. Upper Saddle River, Pearson Prentice Hall: 700–725
- Majamaa H., Isolauri E. 1997. Probiotics: a novel approach in the management of food allergy. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 99, 2: 179–185
- Majamaa H., Isolauri E., Saxelin M., Vesikari T. 1995. Lactic acid bacteria in the treatment of acute rotavirus gastroenteritis. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 20, 3: 333–338
- Mannel R., Martens P. J., Walker M. 2008. *Core curriculum for lactation consultant practice*. 2nd ed. Sudbury, International Lactation Consultant Association: 774 str.

- Martín R., Langa S., Reviriego C., Jiménez E., Marín M. L., Olivares M., Boza J., Jiménez J., Fernández L., Xaus J., Rodríguez J. M. 2004. The commensal microflora of human milk: new perspectives for food bacteriotherapy and probiotics. *Trends in Food Science and Technology*, 15, 3: 121–127
- Martín R., Langa S., Reviriego C., Jiménez E., Marín M. L., Xaus J., Fernández L., Rodríguez J. M. 2003. Human milk is a source of lactic acid bacteria for the infant gut. *Journal of Pediatrics*, 143, 6: 754–758
- Martín R., Olivares M., Marín M. L., Fernández L., Xaus J., Rodríguez J. M. 2005. Probiotic potential of 3 *Lactobacilli* strains isolated from breast milk. *Journal of Human Lactation*, 21, 1: 8–41
- Mattila-Sandholm T. 2003. Functional dairy products. Cambridge, Woodhead: 384 str.
- Mattila-Sandholm T., Myllärinen P., Crittenden R., Mogensen G., Fondén R., Saarela M. 2002. Technological challenges for future probiotic foods. *International Dairy Journal*, 12, 2: 173–182
- McCracken V., Gaskins H. 1999. Probiotics and the immune system. V: Probiotics: a critical review. Tannock G. (ed.). Norfolk, Horizon Scientific Press: 85–111
- Metchnikoff E. 1908. The prolongation of life. New York, G.P. Putnam's Sons: 343 str.
- Miettinen M., Matikainen S., Vuopio-Varkila J., Pirhonen J., Varkila K., Kurimoto M., Julkunen I. 1998. *Lactobacilli* and *streptococci* induce interleukin-12 (IL-12), IL-18, and gamma interferon production in human peripheral blood mononuclear cells. *Infection and Immunity*, 66, 12: 6058–6062
- Mikelsaar M., Mändar R., Seep E., Annuk H. 2004. Human lactic acid microflora and its role in the welfare of the host. V: Lactic acid bacteria: Microbiological and functional aspects. 3rd ed. Salminen S., Wright A., Ouwehand A. (eds.). New York, Marcel Dekker: 453–505
- Moro G. E., Arslanoglu S. 2005. Reproducing the bifidogenic effect of human milk in formula-fed infants: why and how? *Acta Paediatrica*, 94, 449: 14–17
- Nermes M., Kantele J. M., Atosuo T. J., Salminen S., Isolauri E. 2010. Interaction of orally administered *Lactobacillus rhamnosus* GG with skin and gut microbiota and humoral immunity in infants with atopic dermatitis. *Clinical and Experimental Allergy: Journal of the British Society for Allergy and Clinical Immunology*, 41, 3: 370–377
- Newburg D. 2005. Innate immunity and human milk. *Journal of Nutrition*, 135: 1308–1312
- Niers L., Martín R., Rijkers G., Sengers F., Timmerman H., van Uden N., Smidt H., Kimpen J., Hoekstra M. 2009. The effects of selected probiotic strains on the development of eczema (the PandA study). *Allergy*, 64, 9: 1349–1358

- Noguchi E., Nukaga-Nishio Y., Jian Z., Yokouchi Y., Kamioka M., Yamakawa-Kobayashi K., Hamaguchi H., Matsui A., Shibasaki M., Arinami T. 2001. Haplotypes of the 5' region of the IL-4 gene and SNPs in the intergene sequence between the IL-4 and IL-13 genes are associated with atopic asthma. *Human Immunology*, 62, 11: 1251–1257
- Ohland C. L., Macnaughton W. K. 2010. Probiotic bacteria and intestinal epithelial barrier function. *American Journal of Physiology Gastrointestinal and Liver Physiology*, 298, 6: 807–819
- OPKP. 2014. Odprta platforma za klinično prehrano. Ljubljana, Inštitut Jožef Stefan: baza podatkov.
<http://www.opkp.si> (10. sept. 2013)
- Otsu K., Dreskin S. C. 2011. Peanut allergy: an evolving clinical challenge. *Discovery Medicine*, 12, 65: 319–328
- Ouwehand A. C. 2007. Antiallergic effects of probiotics. *Journal of Nutrition*, 137, Suppl. 2: 794S–797S
- Ouwehand A. C., Salminen S., Isolauri E. 2002. Probiotics: an overview of beneficial effects. *Antonie van Leeuwenhoek*, 82, 4: 279–289
- Palmer C., Bik E. M., DiGiulio D. B., Relman D. A., Brown P. O. 2007. Development of the human infant intestinal microbiota. *PLoS Biology*, 5, 7: e177, doi:10.1371/journal.pbio.0050177: 1556–1573
- Pant A. R., Graham S. M., Allen S. J., Harikul S., Sabchareon A., Cuevas L., Hart C. A. 1996. *Lactobacillus* GG and acute diarrhoea in young children in the tropics. *Journal of Tropical Pediatrics*, 42, 3: 162–165
- Patel M. S., Srinivasan M. 2011. Metabolic programming in the immediate postnatal life. *Annals of Nutrition and Metabolism*, 58, Suppl. 2: 18S–28S
- Johansson, S.G.O. 2009. Allergy frontiers: Classification and pathomechanisms. Pawankar R., Holgate S. T., Rosenwasser L. J.(eds.). Tokyo, Springer: 33–33
- Penders J., Thijs C., Vink C., Stelma F. F., Snijders B., Kummeling I., van den Brandt P. A., Stobberingh E. E. 2006. Factors influencing the composition of the intestinal microbiota in early infancy. *Pediatrics*, 118, 2: 511–521
- Perez P. F., Doré J., Leclerc M., Levenez F., Benyacoub J., Serrant P., Segura-Roggero I., Schiffrin E. J., Donnet-Hughes A. 2007. Bacterial imprinting of the neonatal immune system: lessons from maternal cells? *Pediatrics*, 119, 3: 724–732
- Pessi T., Sütas Y., Marttinen A., Isolauri E. 1998. Probiotics reinforce mucosal degradation of antigens in rats: implications for therapeutic use of probiotics. *Journal of Nutrition*, 128, 12: 2313–2318

- Pettker C. M., Buhimschi I. A., Magloire L. K., Sfakianaki A. K., Hamar B. D., Buhimschi C. S. 2007. Value of placental microbial evaluation in diagnosing intra-amniotic infection. *Obstetrics and Gynecology*, 109, 3: 739–749
- Pfefferle P. I., Prescott S. L., Kopp M. 2013. Microbial influence on tolerance and opportunities for intervention with prebiotics/probiotics and bacterial lysates. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 131, 6: 1453–1463
- Pohjavuori E., Viljanen M., Korpela R., Kuitunen M., Tiittanen M., Vaarala O., Savilahti E. 2004. *Lactobacillus* GG effect in increasing IFN-gamma production in infants with cow's milk allergy. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 114, 1: 131–136
- Prescott S. L., Dunstan J. A., Hale J., Breckler L., Lehmann H., Weston S., Richmond P. 2005. Clinical effects of probiotics are associated with increased interferon-gamma responses in very young children with atopic dermatitis. *Clinical and Experimental Allergy*, 35, 12: 1557–1564
- Prescott S. L., King B., Strong T. L., Holt P. G. 2003. The value of perinatal immune responses in predicting allergic disease at 6 years of age. *Allergy*, 58, 11: 1187–94
- Rastall R. A., Gibson G. R., Gill H. S., Guarner F., Klaenhammer T. R., Pot B., Reid G., Rowland I. R., Sanders M. E. 2005. Modulation of the microbial ecology of the human colon by probiotics, prebiotics and synbiotics to enhance human health: an overview of enabling science and potential applications. *FEMS Microbiology Ecology*, 52, 2: 145–152
- Rautava S., Arvilommi H., Isolauri E. 2006. Specific probiotics in enhancing maturation of IgA responses in formula-fed infants. *Pediatric Research*, 60, 2: 221–224
- Rautava S., Kalliomäki M., Isolauri E. 2002. Probiotics during pregnancy and breast-feeding might confer immunomodulatory protection against atopic disease in the infant. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 109, 1: 119–121
- Raza S., Graham S. M., Allen S. J., Sultana S., Cuevas L., Hart C. A. 1995. *Lactobacillus* GG promotes recovery from acute nonbloody diarrhea in Pakistan. *Pediatric Infectious Disease Journal*, 14, 2: 107–111
- Reddy S., Sanders T. A., Obeid O. 1994. The influence of maternal vegetarian diet on essential fatty acid status of the newborn. *European Journal of Clinical Nutrition*, 48, 5: 358–368
- Reid G., Jass J., Sebulsky M. T., McCormick J. K. 2003. Potential uses of probiotics in clinical practice. *Clinical Microbiology Reviews*, 16, 4: 658–672
- Reinhardt C., Reigstad C. S., Bäckhed F. 2009. Intestinal microbiota during infancy and its implications for obesity. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 48, 3: 249–256

- Rentschler G., Antonic M. 1999. Alergije: spoznavanje in zdravljenje. Ljubljana, Slovenska knjiga: 50–70
- Rentschler G., Antonic M. 2008. Alergije. V: Navodila in dnevniki za vaje iz klinične biokemije II. 3. izd. Marc J. (ur.). Ljubljana, Univerza v Ljubljani, Fakulteta za farmacijo: 50–70
- Robles Alonso V., Guarner F. 2013. Linking the gut microbiota to human health. *British Journal of Nutrition*, 109, Suppl 1: 21S–26S
- Rogelj I., Bogović Matijašič B. 2004. Probiotiki in varnost. V: Varnost živil / 22. Bitenčevi živilski dnevi 2004. Gašperlin L., Žlender B. (ur.). Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 181–189
- Rogelj I., Perko B. 2003. Mlečni izdelki. V: Mikrobiologija živil živalskega izvora. Bem Z., Adamič J., Žlender B., Smole-Možina S., Gašperlin L. (ur.). Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 541–577
- Rogelj I., Treven P., Bogović Matijašič B. 2013. Dejavniki kolonizacije otrokovih prebavil v prvem letu življenja. V: Novosti v intenzivnem zdravljenju otrok. Dislipidemije pri otrocih in mladostnikih. Izbrane novosti s področja neonatologije. Funkcionalne bolečine v trebuhu. Akutni bronhioleitis. Kržišnik C., Battelino T. (ur.). Ljubljana, Medicinska fakulteta, Katedra za pediatrijo: 140–153
- Rolfes S. R., Pinna K., Whitney E. 2006. Understanding normal and clinical nutrition. 7th ed. Belmont, Thomson/Wadsworth: 511–515
- Rosenfeldt V., Benfeldt E., Valerius N. H., Paerregaard A., Michaelsen K. F. 2004. Effect of probiotics on gastrointestinal symptoms and small intestinal permeability in children with atopic dermatitis. *Journal of Pediatrics*, 145, 5: 612–616
- Saarela M., Lähteenmäki L., Crittenden R., Salminen S., Mattila-Sandholm T. 2002. Gut bacteria and health foods-the European perspective. *International Journal of Food Microbiology*, 78, 1-2: 99–117
- Sampson H. 1998. Adverse reactions to foods. V: Allergy: Principles and practice. Middleton E. (ed.). St. Louis, Mosby: 1162–1182
- Sampson H. 2004. Update on food allergy. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 113, 5: 805–819
- Sanders M. E. 2008. Probiotics: definition, sources, selection, and uses. *Clinical Infectious Diseases*, 46, Suppl. 2: 58S–61S
- Sanfilippo L., Li C. K., Seth R., Balwin T. J., Menozzi M. G., Mahida Y. R. 2000. *Bacteroides fragilis* enterotoxin induces the expression of IL-8 and transforming growth

- factor-beta (TGF-beta) by human colonic epithelial cells. *Clinical and Experimental Immunology*, 119, 3: 456–463
- Saxelin M., Tynkkynen S., Mattila-Sandholm T., de Vos W. M. 2005. Probiotic and other functional microbes: from markets to mechanisms. *Current Opinion in Biotechnology*, 16, 2: 204–211
- Schultz Larsen F., Diepgen T., Svensson A. 1996. The occurrence of atopic dermatitis in north Europe: an international questionnaire study. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 34, 5: 760–764
- Seifert S., Watzl B. 2007. Inulin and oligofructose: Review of experimental data on immune modulation. *Journal of Nutrition*, 137, 11: 2563–2567
- Semba R. D., Delange F. 2001. Iodine in human milk: perspectives for infant health. *Nutrition Reviews*, 59, 8: 269–278
- Seme K. 2002. Bakterija in gostitelj: normalna mikrobna flora. V: Medicinska bakteriologija z imunologijo in mikologijo. Gubina M., Ihan A. (ur.). Ljubljana, Medicinski razgledi: 59–64
- Senok A. C., Ismaeel A. Y., Botta G. A. 2005. Probiotics: facts and myths. *Clinical Microbiology and Infection*, 11, 12: 958–966
- Sheen P., Oberhelman R. A., Gilman R. H., Cabrera L., Verastegui M., Madico G. 1995. Short report: a placebo-controlled study of *Lactobacillus* GG colonization in one-to-three-year-old Peruvian children. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 52, 5: 389–392
- Singhal A., Cole T. J., Fewtrell M., Deanfield J., Lucas A. 2004. Is slower early growth beneficial for long-term cardiovascular health? *Circulation*, 109, 9: 1108–1113
- Singhi S. 2007. Probiotics in the critically ill: handle with care! *Journal of the Society of Critical Care Medicine*, 8, 5: 499–501
- Skale C. 2010. Smernice za dojenje. V: Tečaj laktacije za opravljanje izpita za naziv mednarodni pooblaščen svetovalec za laktacijo IBCLC (International Board Certified lactacion Consultant): priročnik. Felc Z., Skale C. (ur.). Celje, Društvo svetovalcev za laktacijo in dojenje Slovenije: 3–12
- Smolin L. A., Grosvenor M. B. 2008. Nutrition: Science and applications. 2nd ed. Hoboken, John Wiley and Sons: 577–586
- Soh S. E., Aw M., Gerez I., Chong Y. S., Rauff M., Ng Y. P. M., Wong H. B., Pai N., Lee B. W., Shek L. P.-C. 2009. Probiotic supplementation in the first 6 months of life in at risk Asian infants--effects on eczema and atopic sensitization at the age of 1 year. *Clinical and Experimental Allergy*, 39, 4: 571–578

- Song S. J., Dominguez-Bello M. G., Knight R. 2013. How delivery mode and feeding can shape the bacterial community in the infant gut. *Canadian Medical Association Journal*, 185, 5: 373–374
- Stanfield P. S., Hui Y. H. 1997. *Nutrition and diet therapy*. 3rd ed. Boston, Jones and Bartlett Publisher: 142–145
- Steinke M., Fiocchi A., Kirchlechner V., Ballmer-Weber B., Brockow K., Hischenhuber C., Dutta M., Ring J., Urbanek R., Terracciano L., Wezel R. 2007. Perceived food allergy in children in 10 European nations. A randomised telephone survey. *International Archives of Allergy and Immunology*, 143, 4: 290–5
- Stoppard M. 2007. *Zdravstveni vodnik za vso družino*. Ljubljana, Mladinska knjiga: 309–391
- Strachan D. P. 2000. Family size, infection and atopy: the first decade of the “hygiene hypothesis”. *Thorax*, 55, Suppl. 1: 2S–10S
- Takacs L., Berzofsky J. A., York-Jolley J., Akahoshi T., Blasi E., Durum S. K. 1987. IL 1 induction by murine T cell clones: detection of an IL 1-inducing lymphokine. *Journal of Immunology*, 138, 7: 2124–2131
- Taniuchi S. 2005. Administration of *Bifidobacterium* to Infants with Atopic Dermatitis : Changes in Fecal Microflora and Clinical Symptoms. *Journal of Applied Research*, 5, 2: 387–396
- Taylor A. L., Dunstan J. A., Prescott S. L. 2007. Probiotic supplementation for the first 6 months of life fails to reduce the risk of atopic dermatitis and increases the risk of allergen sensitization in high-risk children: a randomized controlled trial. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 119, 1: 184–191
- Tsabouri S., Priftis K., Chaliasos N., Siamopoulou A. 2013. Modulation of gut microbiota downregulates the development of food allergy in infancy. *Allergologia et Immunopathologia*, 530: 1–9
- Uauy R., Peirano P., Hoffman D., Mena P., Birch D., Birch E. 1996. Role of essential fatty acids in the function of the developing nervous system. *Lipids*, 31, Suppl. 1: 167S–176S
- Untersmayr E., Poulsen L. K., Platzer M. H., Pedersen M. H., Boltz-Nitulescu G., Skov P. S., Jensen-Jarolim E. 2005. The effects of gastric digestion on codfish allergenicity. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 115, 2: 377–382
- Utting D., Bewley S. 2011. Family planning and age-related reproductive risk. *Obstetrician and Gynaecologist*, 13: 35–41

- Vaishampayan P. A., Kuehl J. V, Froula J. L., Morgan J. L., Ochman H., Francino M. P. 2010. Comparative metagenomics and population dynamics of the gut microbiota in mother and infant. *Genome Biology and Evolution*, 2: 53–66
- Valentine C. J., Wagner C. L. 2013. Nutritional management of the breastfeeding dyad. *Pediatric Clinics of North America*, 60: 261–274
- Van der Aa L., Heymans H., van Aalderen W., Sillevs Smitt J., Knol J., Ben Amor K., Goossens D., Sprickelman A. 2010. Effect of a new synbiotic mixture on atopic dermatitis in infants: a randomized-controlled trial. *Clinical and Experimental Allergy*, 40, 5: 795–804
- Van den Bogaard C., van den Hoogen H., Huygen F., van Weel C. 1993. Is the breast best for children with a family history of atopy? The relation between way of feeding and early childhood morbidity. *Family Medicine*, 25, 7: 471–475
- Vandenplas Y., Ghanma A., Franckx J., Peeters S., Hauser B. 2013. Probiotics and prebiotics in infant formula. *Zdravniški Vestnik*, 82, Suppl.1: 70S–76S
- Vasiljevic T., Shah N. P. 2008. Probiotics—From Metchnikoff to bioactives. *International Dairy Journal*, 18, 7: 714–728
- Van Houwelingen A., Sørensen J., Hornstra G., Simonis M., Boris J., Olsen S., Secher N. 1995. Essential fatty acid status in neonates after fish-oil supplementation during late pregnancy. *British Journal of Nutrition*, 74, 5: 723–731
- Van Noord-Zaadstra B. M., Looman C. W., Alsbach H., Habbema J. D., te Velde E. R., Karbaat J. 1991. Delaying childbearing: effect of age on fecundity and outcome of pregnancy. *Biomedical Journal*, 302: 1361–1365
- Viljanen M., Savilahti E., Haahtela T., Juntunen-Backman K., Korpela R., Poussa T., Tuure T., Kuitunen M. 2005. Probiotics in the treatment of atopic eczema/dermatitis syndrome in infants: a double-blind placebo-controlled trial. *Allergy*, 60, 4: 494–500
- Von der Weid T., Bulliard C., Schiffrin E. J. 2001. Induction by a lactic acid bacterium of a population of CD4(+) T cells with low proliferative capacity that produce transforming growth factor beta and interleukin-10. *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology*, 8, 4: 695–701
- Von Hertzen L., Hanski I., Haahtela T. 2011. Natural immunity. Biodiversity loss and inflammatory diseases are two global megatrends that might be related. *EMBO Reports*, 12, 11: 1089–1093
- Vozelj M. 2000. Temelji imunologije. Ljubljana, DZS: 434 str.
- Walker W. A. 2008. Mechanisms of action of probiotics. *Clinical Infectious Diseases*, 46, Suppl. 2: 87S–91S

- Walker W. A., Goulet O., Morelli L., Antoine J.-M. 2006. Progress in the science of probiotics: from cellular microbiology and applied immunology to clinical nutrition. *European Journal of Nutrition*, 45, S1: 1–18
- Wang M., Ahrné S., Antonsson M., Molin G. 2004. T-RFLP combined with principal component analysis and 16S rRNA gene sequencing: an effective strategy for comparison of fecal microbiota in infants of different ages. *Journal of Microbiological Methods*, 59, 1: 53–69
- Warwick R., Williams P. L. 1973. *Gray's anatomy*. 35th ed. London, Longman: 588–785
- Waterland R. A., Garza C. 1999. Potential mechanisms of metabolic imprinting that lead to chronic disease. *American Journal of Clinical Nutrition*, 69, 2: 179–197
- Weichselbaum E. 2009. Probiotics and health: a review of the evidence. *Nutrition Bulletin*, 34, 4: 340–373
- West C. E., Hammarström M.-L., Hernell O. 2009. Probiotics during weaning reduce the incidence of eczema. *Pediatric Allergy and Immunology*, 20, 5: 430–437
- Weston S., Halbert A., Richmond P., Prescott S. L. 2005. Effects of probiotics on atopic dermatitis: a randomised controlled trial. *Archives of Disease in Childhood*, 90, 9: 892–897
- WHO/UNICEF 2003. Global strategy for infant and young child feeding. Vol. 56. Geneva, World Health Organization: 30 str.
http://www.who.int/nutrition/publications/gi_infant_feeding_text_eng.pdf (10. sept. 2013)
- Wickens K., Black P. N., Stanley T. V., Mitchell E., Fitzharris P., Tannock G. W., Purdie G., Crane J. 2008. A differential effect of 2 probiotics in the prevention of eczema and atopy: a double-blind, randomized, placebo-controlled trial. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 122, 4: 788–794
- Wollenberg A., Bieber T. 2000. Atopic dermatitis: from the genes to skin lesions. *Allergy*, 55, 3: 205–213
- Zoetendal E. G., Rajilic-Stojanovic M., de Vos W. M. 2008. High-throughput diversity and functionality analysis of the gastrointestinal tract microbiota. *Gut*, 57, 11: 1605–1615

ZAHVALA

Moji mentorici, prof. dr. Ireni Rogelj, za ves vložen čas in trud, dragocene strokovne napotke, vso pomoč ter njeno naklonjenost in optimizem pri pisanju diplomskega dela.

Recenzentki, prof. dr. Nataši Fidler Mis ter asist. dr. Borutu Brataniču, dr. med. za hiter, strokoven pregled in koristne nasvete za izboljšavo.

Anji Koren Jeverica, dr. med. za njene komentarje iz področja alergologije.

Raziskovalcem in sodelavcem projekta »Vloga humanega mleka v razvoju črevesne mikrobiote dojenčka« (J4-3606), da so mi odstopili podatke in rezultate analiz, ki sem jih uporabila v nalogi.

Dr. Urošu Godnov za vedno hitre in kvalitetne odgovore ter njegovo pomoč pri izvedbi in interpretaciji statističnih analiz.

Evgenu Benediku za pomoč pri iskanju ter navajanju virov in Lini Burkan Makivić za pregled le teh.

Anji Miklavčič za hitro lektoriranje.

Katji Černe za pomoč pri tiskanju in vezavi diplomskega dela.

Posebno zahvalo bi na koncu namenila staršem ter vsem ostalim, ki so me spodbujali, mi vlivali moči za nadaljnje delo in predvsem verjeli vame – resnično hvala za vso brezmejno podporo in veliko mero razumevanja.

NAJLEPŠA HVALA!

PRILOGE

Priloga A: Pregled statističnih izračunov k poglavju 4.3.1.1 Statistično preverjanje povezanosti dedne obremenitve s pojavnostjo alergij (1. delovna hipoteza)

Chi-Square Tests –starši

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	5,807 ^a	1	,016	,018	,010
Continuity Correction ^b	4,330	1	,037		
Likelihood Ratio	9,267	1	,002	,011	,010
Fisher's Exact Test				,018	,010
N of Valid Cases	131				

Chi-Square Tests - celotna (starši in širša) družina

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	4,936 ^a	1	,026	,040	,017
Continuity Correction ^b	3,574	1	,059		
Likelihood Ratio	8,167	1	,004	,018	,017
Fisher's Exact Test				,022	,017
N of Valid Cases	155				

Priloga B: Rezultati kvantifikacije bakterij v blatu otrok (B3) in kolostrumu (M0) ter pregled statističnih izračunov k poglavju 4.3.2.1 Statistično preverjanje povezanosti začetne mikrobiote blata otroka in kolostruma matere s pojavnostjo alergij (2. delovna hipoteza)

B3: Prikaz razlik v medianah za analizirane skupine bakterij v blatu obremenjenih otrok (s strani staršev = selected) in neobremenjenih otrok

Obremenitev otroka CELOTNA družina='1' (FILTER)		N	Mean Rank	Sum of Ranks
Vse bakterijeB3	Not Selected	64	81,86	5239,00
	Selected	91	75,29	6851,00
	Total	155		
<i>Staphylococcusepidermidis</i> B3	Not Selected	26	29,25	760,50
	Selected	31	28,79	892,50
	Total	57		
<i>Staphylococcus</i> B3	Not Selected	26	27,23	708,00
	Selected	31	30,48	945,00
	Total	57		
<i>Streptococcus</i> B3	Not Selected	26	31,02	806,50
	Selected	31	27,31	846,50
	Total	57		
<i>Enterococcus</i> B3	Not Selected	26	32,35	841,00
	Selected	31	26,19	812,00
	Total	57		
<i>Enterococcusfaecalis</i> B3	Not Selected	26	31,29	813,50
	Selected	31	27,08	839,50
	Total	57		
<i>Bifidobacterium</i> B3	Not Selected	64	81,88	5240,00
	Selected	91	75,27	6850,00
	Total	155		
<i>Lactobacillus</i> B3	Not Selected	26	31,13	809,50
	Selected	31	27,21	843,50
	Total	57		
<i>Lactobacillusgasseri</i> B3	Not Selected	26	29,23	760,00
	Selected	31	28,81	893,00
	Total	57		
<i>BacteroidesPrevotella</i> B3	Not Selected	64	79,48	5086,50
	Selected	91	76,96	7003,50
	Total	155		
<i>Enterobacteriaceae</i> B3	Not Selected	64	80,56	5156,00
	Selected	91	76,20	6934,00
	Total	155		
<i>Clostridiumcoccoidesgroup</i> B3	Not Selected	26	31,60	821,50
	Selected	31	26,82	831,50
	Total	57		
<i>Clostridiumleptumgroup</i> B3	Not Selected	26	31,83	827,50
	Selected	31	26,63	825,50
	Total	57		

Mann Whitney U test:

	Mann-Whitney U	Wilcoxon W	Z	Asymp. Sig. (2-tailed)
Vse bakterijeB3	2665	6851	-1,038	0,299
<i>Staphylococcusepidermidis</i> B3	396,5	892,5	-0,104	0,917
<i>Staphylococcus</i> B3	357	708	-0,737	0,461
<i>Streptococcus</i> B3	350,5	846,5	-0,842	0,4
<i>Enterococcus</i> B3	316	812	-1,394	0,163
<i>Enterococcusfaecalis</i> B3	343,5	839,5	-0,956	0,339
<i>Bifidobacterium</i> B3	2664	6850	-1,043	0,297
<i>Lactobacillus</i> B3	347,5	843,5	-0,95	0,342
<i>Lactobacillusgasseri</i> B3	397	893	-0,11	0,913
<i>BacteroidesPrevotella</i> B3	2817,5	7003,5	-0,398	0,69
<i>Enterobacteriaceae</i> B3	2748	6934	-0,689	0,491
<i>Clostridiumcoccoidesgroup</i> B3	335,5	831,5	-1,082	0,279
<i>Clostridiumleptumgroup</i> B3	329,5	825,5	-1,178	0,239

B3a: Prikaz razlik v medianah za analizirane skupine bakterij v blatu (B3) otrok za alergike in nealergike

	otrok alergik nealergik	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Vse bakterijeB3	Ne	142	77,92	11064
	Da	13	78,92	1026
	Total	155		
<i>Staphylococcusepidermidis</i> B3	Ne	52	28,65	1490
	Da	5	32,6	163
	Total	57		
<i>Staphylococcus</i> B3	Ne	52	28,87	1501
	Da	5	30,4	152
	Total	57		
<i>Streptococcus</i> B3	Ne	52	29,62	1540
	Da	5	22,6	113
	Total	57		
<i>Enterococcus</i> B3	Ne	52	29,71	1545
	Da	5	21,6	108
	Total	57		
<i>Enterococcusfaecalis</i> B3	Ne	52	29,67	1543
	Da	5	22	110
	Total	57		
<i>Bifidobacterium</i> B3	Ne	142	78,11	11091
	Da	13	76,85	999
	Total	155		
<i>Lactobacillus</i> B3	Ne	52	29,43	1530,5
	Da	5	24,5	122,5
	Total	57		
<i>Lactobacillusgasseri</i> B3	Ne	52	29,77	1548
	Da	5	21	105
	Total	57		
<i>BacteroidesPrevotella</i> B3	Ne	142	77,82	11050,5
	Da	13	79,96	1039,5
	Total	155		
<i>Enterobacteriaceae</i> B3	Ne	142	77,89	11060
	Da	13	79,23	1030
	Total	155		
<i>Clostridiumcoccoidesgroup</i> B3	Ne	52	28,85	1500
	Da	5	30,6	153
	Total	57		
<i>Clostridiumleptumgroup</i> B3	Ne	52	29,75	1547
	Da	5	21,2	106
	Total	57		

Mann Whitney U test:

	Mann-Whitney U	Wilcoxon W	Z	Asymp. Sig. (2-tailed)	Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	Exact Sig. (2-tailed)	Exact Sig. (1-tailed)	Point Probability
Vse bakterijeB3	911	11064	-0,09	0,929		0,934	0,456	0,002
<i>Staphylococcusepidermidis</i> B3	112	1490	-0,51	0,611	,632 ^b	0,626	0,313	0,005
<i>Staphylococcus</i> B3	123	1501	-0,2	0,843	,859 ^b	0,859	0,429	0,011
<i>Streptococcus</i> B3	98	113	-0,9	0,366	,385 ^b	0,383	0,191	0,005
<i>Enterococcus</i> B3	93	108	-1,04	0,297	,313 ^b	0,313	0,157	0,007
<i>Enterococcusfaecalis</i> B3	95	110	-0,99	0,322	,341 ^b	0,337	0,168	0,004
<i>Bifidobacterium</i> B3	908	999	-0,11	0,911		0,916	0,469	0,002
<i>Lactobacillus</i> B3	107,5	122,5	-0,68	0,498	,537 ^b	0,504	0,246	0,01
<i>Lactobacillusgasseri</i> B3	90	105	-1,29	0,198	,274 ^b	0,345	0,198	0,164
<i>BacteroidesPrevotella</i> B3	897,5	11051	-0,19	0,849		0,855	0,417	0,001
<i>Enterobacteriaceae</i> B3	907	11060	-0,12	0,905		0,911	0,444	0,003
<i>Clostridiumcoccoidesgroup</i> B3	122	1500	-0,23	0,821	,838 ^b	0,831	0,416	0,005
<i>Clostridiumleptumgroup</i> B3	91	106	-1,1	0,27	,287 ^b	0,29	0,14	0,01

B3b: Prikaz razlik v medianah analiziranih skupin bakterij v blatu (B3) otrok in kolostruma mater (M0) pri alergikih in nealergikih, samo za obremenjene otroke (vzorec ni bil primeren – premajhen) za nadaljnjo analizo povezanosti

B3	Otrok alergik/nealergik	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Vse bakterije B3	Ne	79	45,44	3589,50
	Da	12	49,71	596,50
	Total	91		
<i>Staphylococcusepidermidis</i> B3	Ne	26	15,62	406,00
	Da	5	18,00	90,00
	Total	31		
<i>Staphylococcus</i> B3	Ne	26	15,92	414,00
	Da	5	16,40	82,00
	Total	31		
<i>Streptococcus</i> B3	Ne	26	16,46	428,00
	Da	5	13,60	68,00
	Total	31		
<i>Enterococcus</i> B3	Ne	26	16,46	428,00
	Da	5	13,60	68,00
	Total	31		
<i>Enterococcusfaecalis</i> B3	Ne	26	16,58	431,00
	Da	5	13,00	65,00
	Total	31		
<i>Bifidobacterium</i> B3	Ne	79	45,61	3603,50
	Da	12	48,54	582,50
	Total	91		
<i>Lactobacillus</i> B3	Ne	26	16,29	423,50
	Da	5	14,50	72,50
	Total	31		
<i>Lactobacillusgasser</i> B3	Ne	26	16,85	438,00
	Da	5	11,60	58,00
	Total	31		
<i>BacteroidesPrevotella</i> B3	Ne	79	45,53	3597,00
	Da	12	49,08	589,00
	Total	91		
<i>Enterobacteriaceae</i> B3	Ne	79	45,49	3593,50
	Da	12	49,38	592,50
	Total	91		
<i>Clostridiumcoccoidesgroup</i> B3	Ne	26	15,54	404,00
	Da	5	18,40	92,00
	Total	31		
<i>Clostridiumleptumgroup</i> B3	Ne	26	16,69	434,00
	Da	5	12,40	62,00
	Total	31		

M0	Otrok lergik/nealergik	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Vse bakterije M0	Ne	79	46,33	3660,00
	Da	12	43,83	526,00
	Total	91		
<i>Staphylococcusepidermidis M0</i>	Ne	18	10,67	192,00
	Da	2	9,00	18,00
	Total	20		
<i>Staphylococcus M0</i>	Ne	18	10,28	185,00
	Da	2	12,50	25,00
	Total	20		
<i>Streptococcus M0</i>	Ne	79	46,49	3673,00
	Da	12	42,75	513,00
	Total	91		
<i>Enterococcus M0</i>	Ne	79	46,37	3663,50
	Da	12	43,54	522,50
	Total	91		
<i>Enterococcusfaecalis M0</i>	Ne	18	10,86	195,50
	Da	2	7,25	14,50
	Total	20		
<i>Bifidobacterium M0</i>	Ne	18	9,94	179,00
	Da	2	15,50	31,00
	Total	20		
<i>Lactobacillus M0</i>	Ne	18	10,33	186,00
	Da	2	12,00	24,00
	Total	20		
<i>Lactobacillusgasseri M0</i>	Ne	18	10,50	189,00
	Da	2	10,50	21,00
	Total	20		
<i>BacteroidesPrevotella M0</i>	Ne	18	10,50	189,00
	Da	2	10,50	21,00
	Total	20		
<i>Enterobacteriaceae M0</i>	Ne	18	10,17	183,00
	Da	2	13,50	27,00
	Total	20		
<i>Clostridiumcoccoidesgroup M0</i>	Ne	18	10,44	188,00
	Da	2	11,00	22,00
	Total	20		
<i>Clostridiumleptumgroup M0</i>	Ne	18	10,06	181,00
	Da	2	14,50	29,00
	Total	20		

Priloga C: Rezultati kvantifikacije bakterij v blatu otrok (B3) in kolostrumu (M0) za alergike in nealergike ter pregled statističnih izračunov k poglavju 4.3.3.4 Statistično preverjanje povezanosti uživanja probiotikov in dolgotrajnih večkrat nenasičenih maščobnih kislin s pojavnostjo alergij pri preiskovancih (3. delovna hipoteza)

C1: Rezultati kvantifikacije bakterij v blatu otrok, odvzetem 3 dni po rojstvu (B3), z metodo qPCR (število kopij gena za 16S rRNA/g blata) za LK7 in PLACEBO skupini – logaritmirane vrednosti

	Vse bakterije	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>Staphylococcus</i>	<i>Streptococcus</i>	<i>Enterococcus</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Bifidobacterium</i>	<i>Lactobacillus</i>	<i>Lactobacillus gasseri</i>	<i>Bacteroides - Prevotella</i>	<i>Enterobacteriaceae</i>	<i>Clostridium coccoides group</i>	<i>Clostridium leptum group</i>
LK7 (N=22)													
MIN	10,07	3,91	4,30	4,24	4,70	5,12	4,87	6,24	4,87	6,74	5,03	4,46	5,43
Q1	10,68	5,78	7,30	6,30	7,06	5,92	5,95	6,24	4,87	6,74	6,11	5,37	6,58
Q2(Me)	11,37	7,53	7,74	7,29	8,54	6,97	6,49	6,26	4,87	6,83	6,72	6,10	6,79
Q3	11,90	8,01	8,22	7,79	10,21	9,91	7,91	6,26	5,03	7,07	9,24	6,69	7,31
MAX	12,61	9,04	9,32	9,19	11,81	11,61	11,25	9,03	7,21	12,69	10,68	7,18	8,37
PLACEBO (N=28)													
MIN	8,72	3,91	4,30	4,24	5,30	5,12	5,01	6,24	4,87	6,74	4,44	4,46	4,61
Q1	10,83	5,00	6,05	5,39	6,83	5,39	5,72	6,24	4,87	6,74	5,59	5,39	5,99
Q2(Me)	11,48	7,14	7,61	6,30	8,38	6,71	8,18	6,26	4,95	6,83	6,11	5,87	6,72
Q3	11,95	7,87	8,30	7,92	9,90	9,40	10,16	6,26	5,03	8,41	6,86	6,22	7,12
MAX	12,66	8,87	9,06	9,94	11,03	10,75	11,05	7,47	7,20	11,90	11,11	7,62	8,27

C2: Rezultati kvantifikacije bakterij v kolostrumu (M0), z metodo qPCR (število kopij gena za 16S rRNA/ml kolostruma) za LK7 in PLACEBO skupini – logaritmirane vrednosti

	Vse bakterije	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>Staphylococcus</i>	<i>Streptococcus</i>	<i>Enterococcus</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Bifidobacterium</i>	<i>Lactobacillus</i>	<i>Lactobacillus gasseri</i>	<i>Bacteroides-Prevotella</i>	<i>Enterobacteriaceae</i>	<i>Clostridium coccoides group</i>	<i>Clostridium leptum group</i>
LK7 (N=6)													
MIN	7,98	1,64	2,36	2,94	3,38	-1,09	2,14	1,78	1,68	2,67	3,43	3,83	2,43
Q1	8,13	3,02	3,57	3,34	3,49	-0,47	2,87	1,92	2,1	2,85	3,58	4,06	3,54
Q2(Me)	8,34	3,73	4,05	4,12	3,49	1,31	2,94	1,97	2,18	3,12	3,67	4,18	4,01
Q3	8,48	4,06	4,25	4,64	3,51	3,03	3,29	2,1	2,3	3,31	3,74	4,26	4,02
MAX	8,59	4,79	4,88	4,91	4,46	4,05	3,77	2,69	2,49	3,36	3,8	4,58	4,15
PLACEBO (N=30)													
MIN	6,97	1,09	1,62	1,35	3,38	-1,09	2,14	1,54	1,11	1,88	3,19	2,87	2,42
Q1	7,86	3,05	3,42	2,41	3,38	-1,09	2,71	1,94	1,72	2,64	3,45	3,72	3,33
Q2(Me)	8,3	3,6	3,9	3,61	3,49	-0,01	3,08	2,06	2,14	3	3,64	4,19	3,67
Q3	8,54	4,59	4,73	4,57	3,59	0,24	3,38	2,12	2,35	3,25	3,78	4,39	4,10
MAX	10,3	6,16	7	7,99	6,54	3,09	4,12	2,69	2,58	4,08	4,18	4,55	4,46

C3. Pregled izračuna za preverjanje povezanosti med uživanjem P in PŽ matere med nosečnostjo in pojavnostjo alergij pri otrocih

Chi-Square Tests – za povezavo z alergijami in uživanjem P

	Value	Df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	,029 ^a	1	,865	1,000	,558
Continuity Correction ^b	,000	1	1,000		
Likelihood Ratio	,028	1	,866	1,000	,558
Fisher's Exact Test				1,000	,558
N of Valid Cases	91				

a. 1 cells (25,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 2,77.

b. Computed only for a 2x2 table

Chi-Square Tests – za povezavo z alergijami in uživanjem PŽ

	Value	Df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	,100 ^a	1	,752	1,000	,608
Continuity Correction ^b	,000	1	1,000		
Likelihood Ratio	,107	1	,744	1,000	,608
Fisher's Exact Test				1,000	,608
N of Valid Cases	91				

- a. 1 cells (25,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 1,32
b. Computed only for a 2x2 table

C4. Pregled izračuna za preverjanje povezanosti med uživanjem DHA pred nosečnostjo (PRED), v času nosečnosti (NOS) in v času dojenja (DOJ) ter pojavnostjo alergij pri otrocih

Univariate Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Missing Count	Missing Percent	No. of Extremes ^a Low	No. of Extremes ^a High
Količina DHA z ribami in ribjimi izdelki mg PRED	91	146,227670	122,7970116	0	,0	0	3
Skupaj ribe dopolnila mg NOS	87	208,134426	148,0759288	4	4,4	0	1
Skupaj ribe dopolnila mg DOJ	80	186,285416	225,7831014	11	12,1	0	4

a. Number of cases outside the range (Q1 - 1.5*IQR, Q3 + 1.5*IQR).

EM Means^a

Količina DHA z ribami in ribjimi izdelki mg PRED	Skupaj ribe dopolnila mg NOS	Skupaj ribe dopolnila mg DOJ
146,227670	204,029569	180,827246

a. Little's MCAR test: Chi-Square = 6,650, DF = 3, Sig. = ,084

Univariate Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Missing Count	Missing Percent	No. of Extremes ^a Low	No. of Extremes ^a High
Količina DHA z ribami in ribjimi izdelki mg PRED	91	146,227670	122,7970116	0	,0	0	3
Skupaj ribe dopolnila mg NOS	91	204,029275	146,0225316	0	,0	0	1
Skupaj ribe dopolnila mg DOJ	91	180,826158	214,9439517	0	,0	0	4

Group Statistics

	Alergik	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Količina DHA z ribami in ribjimi izdelki mg PRED	Ne	79	149,799826	126,1021132	14,1875962
	Da	12	122,710972	99,6079176	28,7543290
Skupaj ribe dopolnila mg NOS	Ne	79	206,213406	149,7010352	16,8426823
	Da	12	189,650416	123,6428502	35,6926164
Skupaj ribe dopolnila mg DOJ	Ne	79	178,561984	227,3979293	25,5842659
	Da	12	195,731970	105,1597041	30,3569917

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	T	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference Lower	Upper
Količina DHA z ribami in ribjimi izdelki mg PRED	Equal variances assumed	0,81	0,37	0,71	89	0,48	27,088855	38,150827	-48,716026	102,89374
	Equal variances not assumed			0,845	16,867	0,41	27,088855	32,063988	-40,600938	94,778648
Skupaj ribe dopolnila mg NOS	Equal variances assumed	1,667	0,2	0,364	89	0,716	16,56299	45,461005	-73,767058	106,89304
	Equal variances not assumed			0,42	16,33	0,68	16,56299	39,466933	-66,965966	100,09195
Skupaj ribe dopolnila mg DOJ	Equal variances assumed	1,34	0,25	-0,256	89	0,798	-17,169986	66,943369	-150,18503	115,84506
	Equal variances not assumed			-0,432	30,038	0,668	-17,169986	39,700146	-98,244152	63,90418

C5. Pregled izračuna za preverjanje povezanosti med analitsko določenimi vrednostmi DHA (22 : 6 ω-3) in razmerja omega maščobnih kislin (ω-6/ω-3) v mleku doječih mater ter pojavnostjo alergij pri otrocih

Univariate Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Missing		No. of Extremes ^a	
				Count	Percent	Low	High
c22	64	,264500	,1742439	27	29,7	0	4
w6	64	13,866219	4,5834933	27	29,7	0	0

a. Number of cases outside the range (Q1 - 1.5*IQR, Q3 + 1.5*IQR).

EM Means^a

c22	w6
,264500	13,866219

a. Little's MCAR test: Chi-Square = ,000, DF = 0, Sig. = .

Ranks

	Otrok alergik	N	Mean Rank	Sum of Ranks
c22	Ne	54	32,21	1739,50
	Da	10	34,05	340,50
	Skupaj	64		
w6	Ne	54	31,96	1726,00
	Da	10	35,40	354,00
	Skupaj	64		

Test Statistics^a

	c22	w6
Mann-Whitney U	254,500	241,000
Wilcoxon W	1739,500	1726,000
Z	-,287	-,536
Asymp. Sig. (2-tailed)	,774	,592

Priloga D: Pregled statističnih izračunov k poglavu 4.3.4.3 Statistično preverjanje povezanosti ostalih dejavnikov matere in okolja ter pojavnostjo alergij pri otroku (4. delovna hipoteza)

D1. Prikaz izračuna za preverjanje povezanosti med prirastom telesne mase matere tekom nosečnosti in porodno maso novorojenca

Opisna statistika

	Mean	Std. Deviation	N
Porodna masa	3273,24	532,935	91
Prirast telesne mase	14,1154	4,04909	91

Korelacije

		Porodna masa g	Prirast teže
Porodna masa g	Pearson Correlation	1	,330**
	Sig. (2-tailed)		,001
	N	91	91
Prirast telesne mase	Pearson Correlation	,330**	1
	Sig. (2-tailed)	,001	
	N	91	91

**. Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).

D2. Pregled izračuna za preverjanje vpliva telesne mase matere in porodne mase otroka na pojavnost alergij pri otrocih

Chi-Square Tests

	Value	Df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)
Pearson Chi-Square	6,799 ^a	2	,033	0,05
Likelihood Ratio	7,045	2	,03	0,031
Fisher's Exact Test	5,635			0,058
N of Valid Cases	91			

a. 2 cells (33,3%) have expected count less than 5. The minimum expected count is ,79.

D3. Prikaz izračuna za preverjanje vpliva starosti matere na pojavnostjo alergij pri otrocih

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)	Point Probability
Pearson Chi-Square	,636 ^a	1	,425	,645	,562	
Continuity Correction ^b	,002	1	,967			
Likelihood Ratio	1,159	1	,282	,645	,562	
Fisher's Exact Test				1,000	,562	
Linear-by-Linear Association	,629 ^c	1	,428	,645	,562	,562
N of Valid Cases	91					

a. 2 cells (50,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is ,53.

b. Computed only for a 2x2 table

c. The standardized statistic is ,793.

D4. Pregled izračuna za preverjanje povezanosti med okoljem bivanja otroka in pojavnostjo alergij pri otrocih

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	1,893 ^a	1	,169	,281	,155
Continuity Correction ^b	1,028	1	,311		
Likelihood Ratio	2,288	1	,130	,191	,155
Fisher's Exact Test				,281	,155
N of Valid Cases	91				

a. 1 cells (25,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 2,90.

Priloga E: Vprašalnik o alergijah

Raz.projekt ARRS šifra J4 3606, Vloga humanega mleka v razvoju črevesne mikrobiote dojenčka.

Osnutek predloga vprašalnika ob zaključku prvega leta:

ALERGIJA (Atopija v anamnezi preiskovancev)

Prosimo za odgovore na vprašanja o alergičnih boleznih pri vas ali v družini malčkov, ki jih spremljamo v študiji »Moje mleko«. Po vsakem vprašanju so napisani možni odgovori ali trditve. Če katera ustreza stanju v vaši družini ali pri vas prosimo, da označite to z X v kvadratu pred odgovorom ali trditvijo.

Vaša šifra v raziskavi je: _____, šifra malčka v raziskavi je: _____

Datum izpolnjevanja vprašalnika: _____

Vprašanja:

1. V **družini** (malček, mati, oče, sorojenci malčka v raziskavi »Moje mleko«) so alergične bolezni, to so z kliničnimi testi ali laboratorijskimi preiskavami potrjena alergija na prehranske alergene (n.pr. kravje mleko, jajce, arašidi, ribe, druga hrana ali zdravila), alergijski ekcemi, senški nahod, alergijska astma, črevesna alergija, drugo (prosimo opišite): _____

☐ NE ☐ DA ☐ NE VEM (če »DA« prosimo za odgovore na nadaljnja vprašanja, če »NE« se vam zahvaljujemo za sodelovanje in ni potrebno odgovarjati na naslednja vprašanja).

2. **Kateri sorodniki** imajo v vaši družini klinično in laboratorijsko dokazane alergične bolezni?

2.1. Malček v raziskavi:

☐ NE ☐ DA ☐ NE VEM

alergija na kravje mleko:

☐ NE ☐ DA ☐ NE VEM

alergija na jajca (beljak, rumenjak):

☐ NE ☐ DA ☐ NE VEM

alergija na arašide:

☐ NE ☐ DA ☐ NE VEM

alergija na ribe:

☐ NE ☐ DA ☐ NE VEM

alergija na pršice:

☐ NE ☐ DA ☐ NE VEM

alergija na zdravila:

☐ NE ☐ DA ☐ NE VEM

alergija na druge snovi:

☐ NE ☐ DA ☐ NE VEM

prosimo opišite: _____

2.2. **Sorojenci** (sestre, bratje malčka v naši raziskavi):

☐ NE ☐ DA ☐ NE VEM

alergija na kravje mleko:

☐ NE ☐ DA ☐ NE VEM

alergija na jajca (beljak, rumenjak):

☐ NE ☐ DA ☐ NE VEM

alergija na arašide:

☐ NE ☐ DA ☐ NE VEM

alergija na ribe:

☐ NE ☐ DA ☐ NE VEM

alergija na pršice:

☐ NE ☐ DA ☐ NE VEM

alergija na zdravila:

☐ NE ☐ DA ☐ NE VEM

alergija na druge snovi:

☐ NE ☐ DA ☐ NE VEM

prosimo opišite: _____

2.3. **Mati** malčka v raziskavi:

☐ NE ☐ DA ☐ NE VEM

alergija na kravje mleko:

☐ NE ☐ DA ☐ NE VEM

alergija na jajca (beljak, rumenjak):

☐ NE ☐ DA ☐ NE VEM

alergija na arašide:

☐ NE ☐ DA ☐ NE VEM

alergija na ribe:

☐ NE ☐ DA ☐ NE VEM

alergija na pršice:

☐ NE ☐ DA ☐ NE VEM

alergija na zdravila:

☐ NE ☐ DA ☐ NE VEM

alergija na druge snovi:

☐ NE ☐ DA ☐ NE VEM

prosimo opišite: _____

2.4. **Oče** malčka v raziskavi:

☐ NE ☐ DA ☐ NE VEM

alergija na kravje mleko:

☐ NE ☐ DA ☐ NE VEM

alergija na jajca (beljak, rumenjak):

☐ NE ☐ DA ☐ NE VEM

alergija na arašide:

☐ NE ☐ DA ☐ NE VEM

alergija na ribe:

☐ NE ☐ DA ☐ NE VEM

alergija na pršice:

☐ NE ☐ DA ☐ NE VEM

alergija na zdravila:

☐ NE ☐ DA ☐ NE VEM

alergija na druge snovi:

☐ NE ☐ DA ☐ NE VEM

prosimo opišite: _____

2.5. Člani širše družine:

☐ NE ☐ DA ☐ NE VEM Kdo?: _____

alergija na kravje mleko: ☐ NE ☐ DA ☐ NE VEM

alergija na jajca (beljak, rumenjak): ☐ NE ☐ DA ☐ NE VEM

alergija na arašide: ☐ NE ☐ DA ☐ NE VEM

alergija na ribe: ☐ NE ☐ DA ☐ NE VEM

alergija na pršice: ☐ NE ☐ DA ☐ NE VEM

alergija na zdravila: ☐ NE ☐ DA ☐ NE VEM

alergija na druge snovi: ☐ NE ☐ DA ☐ NE VEM

prosimo opišite: _____

3. **Kdaj** (v kateri starosti) so se prvič pojavile alergijske bolezni?

Pri vašem malčku v raziskavi:

☐ 0 – 6 mesecev, ☐ 7 – 12 mesecev,

Pri sorojencih:

☐ 0 – 6 mesecev, ☐ 7 – 12 mesecev, ☐ 1 – 8 let, ☐ po 8. letu,

Pri sorodnikih: mati oče stare matere stari očetje drugi: _____

☐ pred puberteto, ☐ po puberteti, ☐ v odrasli dobi,

4. Kakšni so klinični **znaki in simptomi** alergijske bolezni v družini pri:

4.1. Malček v raziskavi:

☐ črevesni znaki (driska, krvava driska, bruhanje, kolike, odklanjanje hranjenja)

☐ kožni (ekcem, srbeč izpuščaj, koprivnica)

☐ splošna prizadetost s težavami pri dihanju, bledico, šokom ob stiku z alergenom

4.2. Sorojenci:

☐ črevesni znaki (driska, krvava driska, bruhanje, kolike, odklanjanje hranjenja)

☐ kožni (ekcem, srbeč izpuščaj, koprivnica)

☐ splošna prizadetost s težavami pri dihanju, bledico, šokom ob stiku z alergenom

4.3. Mati:

☐ črevesni znaki (driska, krvava driska, bruhanje, kolike, odklanjanje hranjenja)

☐ kožni (ekcem, srbeč izpuščaj, koprivnica)

☐ splošna prizadetost s težavami pri dihanju, bledico, šokom ob stiku z alergenom

4.4. Oče:

- ☐ črevesni znaki (driska, krvava driska, bruhanje, kolike, odklanjanje hranjenja)
- ☐ kožni (ekcem, srbeč izpuščaj, koprivnica)
- ☐ splošna prizadetost s težavami pri dihanju, bledico, šokom ob stiku z alergenom

4.5. Ostali sorodniki (kdo?): _____

- ☐ črevesni znaki (driska, krvava driska, bruhanje, kolike, odklanjanje hranjenja)
- ☐ kožni (ekcem, srbeč izpuščaj, koprivnica)
- ☐ splošna prizadetost s težavami pri dihanju, bledico, šokom ob stiku z alergenom

5. Kakšen je bil **dosedanji potek** alergičnih bolezni pri članih vaše družine?

5.1. Malček v raziskavi:

- ☐ blag (težave se ponavljajo največ 2x letno),
- ☐ srednje težak (težave se ponavljajo 4x letno),
- ☐ zelo težak (težave se ponavljajo 6x ali večkrat letno),

5.2. Sorojenci:

- ☐ blag (težave se ponavljajo največ 2x letno),
- ☐ srednje težak (težave se ponavljajo 4x letno),
- ☐ zelo težak (težave se ponavljajo 6x ali večkrat letno),

5.3. Mati:

- ☐ blag (težave se ponavljajo največ 2x letno),
- ☐ srednje težak (težave se ponavljajo 4x letno),
- ☐ zelo težak (težave se ponavljajo 6x ali večkrat letno),

5.4. Oče:

- ☐ blag (težave se ponavljajo največ 2x letno),
- ☐ srednje težak (težave se ponavljajo 4x letno),
- ☐ zelo težak (težave se ponavljajo 6x ali večkrat letno),

5.5. Ostali sorodniki (kdo?): _____

- ☐ blag (težave se ponavljajo največ 2x letno),
- ☐ srednje težak (težave se ponavljajo 4x letno),
- ☐ zelo težak (težave se ponavljajo 6x ali večkrat letno).

6. Kakšno je bilo dosedanje **zdravljenje** alergijskih težav?

6.1. Malček v raziskavi:

- ☐ dieta, izogibanje alergenom
- ☐ zdravila (prosimo vpišite imena zdravil): _____
- ☐ ostali ukrepi v zvezi z alergijo (prosimo opišite): _____

6.2. Sorojenci:

- ☐ dieta, izogibanje alergenom
- ☐ zdravila (prosimo vpišite imena zdravil): _____
- ☐ ostali ukrepi v zvezi z alergijo (prosimo opišite): _____

6.3. Mati:

- ☐ dieta, izogibanje alergenom
- ☐ zdravila (prosimo vpišite imena zdravil): _____
- ☐ ostali ukrepi v zvezi z alergijo (prosimo opišite): _____

6.4. Oče:

- ☐ dieta, izogibanje alergenom
- ☐ zdravila (prosimo vpišite imena zdravil): _____
- ☐ ostali ukrepi v zvezi z alergijo (prosimo opišite): _____

6.5. Ostali sorodniki (kdo?): _____

- ☐ dieta, izogibanje alergenom
- ☐ zdravila (prosimo vpišite imena zdravil): _____
- ☐ ostali ukrepi v zvezi z alergijo (prosimo opišite): _____

7. Vaše **dodatne** pripombe, obvestila, mnenja o alergiji v družini:

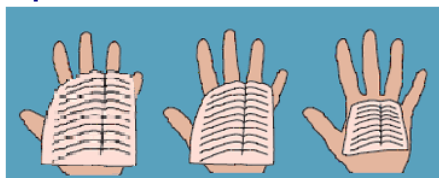
Za tudi tokratno pripravljenost in čas, ki ste ga vložili v izpolnjevanje vprašalnika se vam zahvaljujemo.

Asist.dr.Borut Bratanič. dr.med.
s sodelavkami in sodelavci

Št. preiskovanke: Kraj in datum: _____

Vprašalnik o pogostosti uživanja rib, ribjih izdelkov in morskih sadežev ter ostalih prehranskih dopolnil pred in med nosečnostjo

Zahvaljujemo se vam, da ste si vzeli čas za sodelovanje v anketi. Vprašalnik nam bo dal informacije o vaših prehranskih navadah zgoraj naštetih živil. Prosimo vas, da odgovarjate povsem iskreno.



velika srednja mala
porcija

Slika 1: Primeri velikosti porcije: velika (175 g), srednja (125 g), mala (100 g)
(Prirejeno po: http://oehha.ca.gov/fish/so_cal/index.html)

PRIMER IZPOLNJEVANJA ANKETE:

V vsako vrstico vnesite dva križca (X): 1. x za pogostost uživanja; 2. x za velikost porcije (desni trije stolpci).

Katere vrste rib in morskih sadežev ste najpogosteje uživali v času pred nosečnostjo? (vse RAZEN konzerv in namazov)												
	Pogostost uživanja									Velikost porcije		
	nikoli	1 x letno	2 x letno	1 x mesečno	2-3 x mesečno	1 x tedensko	2 x tedensko	3 x tedensko	≥4 x tedensko	velika	srednja	mala
MORSKE RIBE:												
Sardela	☐	☐	☐	☒	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☒	☐

Iz odgovora je razvidno, da ste pred nosečnostjo uživali sardele 1 krat na mesec in sicer srednje veliko porcijo (125 g/teden).

Anketa

Splošna vprašanja

1. Kako bi opisali vašo prehrano:	pred nosečnostjo	med nosečnostjo
Uživam: meso in ribe	☐	☐
ribe, ne mesa	☐	☐
meso, ne rib	☐	☐
Sem lakto-ovo-vegetarijanka (uživam tudi mleko, mlečne izdelke ter jajca).	☐	☐
Sem lakto-vegetarijanka (uživam tudi mleko in mlečne izdelke).	☐	☐
Sem veganka.	☐	☐

V primeru, da NE uživate rib, ribjih izdelkov ter morskih sadežev nadaljujete prosim z vprašanjem št. 8 na strani 9.

2. Pri pripravi hrane (vnesite križec v vsako okno, ki odraža vaš način priprave hrane):

- a) ☐ skoraj vedno uporabljam surovo maslo za kuhanje in pečenje
- b) ☐ skoraj vedno uporabljam svinjsko mast za kuhanje in pečenje
- c) ☐ skoraj vedno uporabljam rastlinsko olje za kuhanje in pečenje, katero: _____
- d) ☐ skoraj vedno uporabljam margarino za kuhanje in pečenje, katero: _____
- e) ☐ drugo: _____
- f) ☐ NE uporabljam maščobe za kuhanje in pečenje.

3. Ali uživate različno količino rib in ribjih izdelkov glede na letni čas? NE DA,

Če DA, v katerem letnem času pojedete največ: RIB pomladi poleti jeseni pozimi

RIBJIH IZDELKOV pomladi poleti jeseni pozimi

Vprašanja (4 - 5) za obdobje enega leta PRED NOSEČNOSTJO

4. Katere vrste rib in morskih sadežev ste najpogosteje uživali v zadnjem letu pred nosečnostjo? (vse RAZEN konzerv in namazov)												
	Pogostost uživanja									Velikost porcije		
	nikoli	1 x letno	2 x letno	1 x mesečno	2-3 x mesečno	1 x tedensko	2 x tedensko	3 x tedensko	≥4 x tedensko	velika	srednja	mala
4.1 MORSKE RIBE:												
Brancin	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐
Ciplji	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐
Girice	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐
Losos	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐
Morski list	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐
Morski pes	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐
Orada	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐
Oslič	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐
Polenovka	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐
Sardela	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐
Sardina	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐
Skuš	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐
Slanik	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐
Škarpena	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐
Tuna	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐
Drugo (dopišite): _____	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐

	Pogostost uživanja									Velikost porcije		
	nikoli	1 x letno	2 x letno	1 x mesečno	2-3 x mesečno	1 x tedensko	2 x tedensko	3 x tedensko	≥4 x tedensko	velika	srednja	mala
4.2 SLADKOVODNE RIBE:												
Postrv	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐
Krap	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐
Lipan	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐
Ščuka	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐
Drugo (dopišite): _____	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐
4.3 MORSKI SADEŽI:												
Školjke	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐
Kozice	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐
Jastog	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐
Ostrige	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐
Rakovice	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐
Lignji	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐
Sipe	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐
Drugo (dopišite): _____	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐
4.4 OSTALO:												
Kaviar	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐
Surimi	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐
Drugo (dopišite): _____	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐

5. Kako pogosto in kako pripravljene ribe, ribje izdelke in morske sadeže ste uživali v času enega leta pred nosečnostjo?												
	Pogostost uživanja									Velikost porcije		
	nikoli	1 x letno	2 x letno	1 x mesečno	2-3 x mesečno	1 x tedensko	2 x tedensko	3 x tedensko	≥4 x tedensko	velika	srednja	mala
5.1 MORSKE RIBE:												
surova	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐
prekajena	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐
pečena ali dušena	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐
ocvrta	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐
5.2 SLADKOVODNE RIBE:												
surova	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐
prekajena	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐
pečena ali dušena	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐
ocvrta	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐
5.3 MORSKI SADEŽI:												
surovi	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐
pečeni ali dušeni	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐
ocvrta	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐
5.4 RIBJI IZDELKI:												
ribje konzerve, katere:	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	grami/obrok: _____		
ribji namazi, kateri:	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	grami/obrok: _____		
drugo (napišite ime živila):	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	grami/obrok: _____		

Vprašanja (6 - 8) za obdobje NOSEČNOSTI

6. Katere vrste rib in morskih sadežev najpogosteje uživate tekom nosečnosti? (vse RAZEN konzerv in namazov)												
	Pogostost uživanja									Velikost porcije		
	nikoli	1 x letno	2 x letno	1 x mesečno	2-3 x mesečno	1 x tedensko	2 x tedensko	3 x tedensko	≥4 x tedensko	velika	srednja	mala
6.1 MORSKE RIBE:												
Brancin	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐
Ciplji	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐
Girice	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐
Losos	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐
Morski list	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐
Morski pes	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐
Orada	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐
Oslič	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐
Polenovka	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐
Sardela	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐
Sardina	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐
Skuša	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐
Slanik	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐
Škarpena	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐
Tuna	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐
Drugo (dopišite): _____	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐

	Pogostost uživanja									Velikost porcije		
	nikoli	1 x letno	2 x letno	1 x mesečno	2-3 x mesečno	1 x tedensko	2 x tedensko	3 x tedensko	≥4 x tedensko	velika	srednja	mala
6.2 SLADKOVODNE RIBE:												
Postrv	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐
Krap	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐
Lipan	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐
Ščuka	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐
Drugo (dopišite): _____	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐
6.3 MORSKI SADEŽI:												
Školjke	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐
Kozice	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐
Jastog	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐
Ostrige	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐
Rakovice	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐
Lignji	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐
Sipe	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐
Drugo (dopišite): _____	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐
6.4 OSTALO:												
Kaviar	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐
Surimi	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐
Drugo (dopišite): _____	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐

7. Kako pogosto in kako pripravljene ribe, ribje izdelke in morske sadeže uživate tekom nosečnosti?												
	Pogostost uživanja									Velikost porcije		
	nikoli	1 x letno	2 x letno	1 x mesečno	2-3 x mesečno	1 x tedensko	2 x tedensko	3 x tedensko	≥4 x tedensko	velika	srednja	mala
7.1 MORSKE RIBE:												
surova	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐
prekajena	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐
pečena ali dušena	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐
ocvrta	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐
7.2 SLADKOVODNE RIBE:												
surova	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐
prekajena	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐
pečena ali dušena	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐
ocvrta	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐
7.3 MORSKI SADEŽI:												
surovi	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐
pečeni ali dušeni	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐
ocvrta	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐
7.4 RIBJI IZDELKI:												
ribje konzerve, katere:	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	grami/obrok: _____		
ribji namazi, kateri:	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	grami/obrok: _____		
drugo (napišite ime živila):	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	grami/obrok: _____		

8. Ali uživate ribje olje tekem nosečnosti?

NE DA (katera, koliko časa, kako pogosto, zakaj): _____

8.1 Koliko:

- ☐ čajna žlička (5 g)
- ☐ jedilna žlica (10 g)
- ☐ ____ ml zaužitega ribjega olja
- ☐ kapsule (koliko: _____)

9. Ali uživate omega-3 maščobne kisline tekem nosečnosti v obliki prehranskih dopolnil?

NE DA (katera, koliko časa, kako pogosto, zakaj): _____

9.1 Koliko:

- ☐ čajna žlička (5 g)
- ☐ jedilna žlica (10 g)
- ☐ ____ ml zaužitega omega-3 olja
- ☐ kapsule (koliko: _____)

10. Ali uživate vitaminsko-mineralne dodatke tekem nosečnosti kot npr. Elevit, folna kislina, Femibion, šumeče tablete ipd.?

NE DA (katera, koliko časa, kako pogosto, koliko, zakaj): _____

Vprašalnik o pogostosti uživanja probiotičnih izdelkov

Prosimo vas, da označite kako pogosto uživate **prehranska dopolnila**, ki so navedena v spodnji tabeli. Če uživate prehransko dopolnilo, ki ni navedeno, ga vpišite v prazen prostor na koncu tabele.

IME PREHRANSKEGA DOPOLNILA	POGOSTOST UŽIVANJA	IME PREHRANSKEGA DOPOLNILA	POGOSTOST UŽIVANJA	IME PREHRANSKEGA DOPOLNILA	POGOSTOST UŽIVANJA
 LINEX (Trdne kapsule)	☐ Občasno (manj kot enkrat mesečno) ☐ Redno (več kot enkrat tedensko)	 BION 3 SENIOR (Tablete)	☐ Občasno (manj kot enkrat mesečno) ☐ Redno (več kot enkrat tedensko)	 WAYA IT	☐ Občasno (manj kot enkrat mesečno) ☐ Redno (več kot enkrat tedensko)
 LINEX FORTE (Trdne kapsule)	☐ Občasno (manj kot enkrat mesečno) ☐ Redno (več kot enkrat tedensko)	 BIOGAIA (Žvečilne tablete)	☐ Občasno (manj kot enkrat mesečno) ☐ Redno (več kot enkrat tedensko)	 WAYA AD	☐ Občasno (manj kot enkrat mesečno) ☐ Redno (več kot enkrat tedensko)
 YOGERMINA 100 (Stekleničke)	☐ Občasno (manj kot enkrat mesečno) ☐ Redno (več kot enkrat tedensko)	 PROBIOLEX (Kapsule)	☐ Občasno (manj kot enkrat mesečno) ☐ Redno (več kot enkrat tedensko)	 WAYA AB	☐ Občasno (manj kot enkrat mesečno) ☐ Redno (več kot enkrat tedensko)
 YOGERMINA 100 (Kapsule)	☐ Občasno (manj kot enkrat mesečno) ☐ Redno (več kot enkrat tedensko)	 PROBIOLEX (Vrečke)	☐ Občasno (manj kot enkrat mesečno) ☐ Redno (več kot enkrat tedensko)	 NEO FERMENTAL MAX (Kapsule)	☐ Občasno (manj kot enkrat mesečno) ☐ Redno (več kot enkrat tedensko)

Se nadaljuje na naslednji strani

IME PREHRANSKEGA DOPOLNILA	POGOSTOST UŽIVANJA	IME PREHRANSKEGA DOPOLNILA	POGOSTOST UŽIVANJA	IME PREHRANSKEGA DOPOLNILA	POGOSTOST UŽIVANJA
 NEO FERMENTAL MAX (Stekleničke)	☐ Občasno (manj kot enkrat mesečno) ☐ Redno (več kot enkrat tedensko)	 ERCÉFLORA (Kapsule)	☐ Občasno (manj kot enkrat mesečno) ☐ Redno (več kot enkrat tedensko)	 PROBIO (Kapsule)	☐ Občasno (manj kot enkrat mesečno) ☐ Redno (več kot enkrat tedensko)
 PROLIFE (Pastile)	☐ Občasno (manj kot enkrat mesečno) ☐ Redno (več kot enkrat tedensko)	 NOW Gr8-DOPHILUS (Kapsule)	☐ Občasno (manj kot enkrat mesečno) ☐ Redno (več kot enkrat tedensko)	 PROBIO AKTIV (Vrečke)	☐ Občasno (manj kot enkrat mesečno) ☐ Redno (več kot enkrat tedensko)
 PROLIFE (Stekleničke)	☐ Občasno (manj kot enkrat mesečno) ☐ Redno (več kot enkrat tedensko)	 NOW ACIDOPHILUS 4x6 (Kapsule)	☐ Občasno (manj kot enkrat mesečno) ☐ Redno (več kot enkrat tedensko)	 GYNOPHILUS (Vaginalne kapsule)	☐ Občasno (manj kot enkrat mesečno) ☐ Redno (več kot enkrat tedensko)
 PROLIFE (Kapsule)	☐ Občasno (manj kot enkrat mesečno) ☐ Redno (več kot enkrat tedensko)	 GRANOFLO (Kapsule)	☐ Občasno (manj kot enkrat mesečno) ☐ Redno (več kot enkrat tedensko)		☐ Občasno (manj kot enkrat mesečno) ☐ Redno (več kot enkrat tedensko)
 LACTOGYN (Kapsule)	☐ Občasno (manj kot enkrat mesečno) ☐ Redno (več kot enkrat tedensko)	 LEPICOL (Vrečke)	☐ Občasno (manj kot enkrat mesečno) ☐ Redno (več kot enkrat tedensko)		☐ Občasno (manj kot enkrat mesečno) ☐ Redno (več kot enkrat tedensko)

Prosimo vas, da označite kako pogosto uživate **mlečne ali sojine probiotične izdelke**, ki so navedeni v spodnji tabeli. Če uživate mlečni ali sojin izdelek, ki ni naveden, ga vpišite v prazen prostor na koncu tabele.

IME MLEČNEGA/SOJINEGA IZDELKA	POGOSTOST UŽIVANJA	IME MLEČNEGA/SOJINEGA IZDELKA	POGOSTOST UŽIVANJA	IME MLEČNEGA/SOJINEGA IZDELKA	POGOSTOST UŽIVANJA
 ACTIMEL	☐ Občasno (manj kot enkrat mesečno) ☐ Redno (več kot enkrat tedensko)	 LCA probiotični napitek	☐ Občasno (manj kot enkrat mesečno) ☐ Redno (več kot enkrat tedensko)	 SenSia	☐ Občasno (manj kot enkrat mesečno) ☐ Redno (več kot enkrat tedensko)
 ACTIVIA	☐ Občasno (manj kot enkrat mesečno) ☐ Redno (več kot enkrat tedensko)	 EGO probiotični jogurt	☐ Občasno (manj kot enkrat mesečno) ☐ Redno (več kot enkrat tedensko)	 BIFIDUS	☐ Občasno (manj kot enkrat mesečno) ☐ Redno (več kot enkrat tedensko)
 ACTIVIA YOGURT DRINK	☐ Občasno (manj kot enkrat mesečno) ☐ Redno (več kot enkrat tedensko)	 b.Aktiv LGG	☐ Občasno (manj kot enkrat mesečno) ☐ Redno (več kot enkrat tedensko)	 ProNutri jogurt	☐ Občasno (manj kot enkrat mesečno) ☐ Redno (več kot enkrat tedensko)
 LCA probiotični jogurt	☐ Občasno (manj kot enkrat mesečno) ☐ Redno (več kot enkrat tedensko)	 Bio probiotični jogurt KREPKO	☐ Občasno (manj kot enkrat mesečno) ☐ Redno (več kot enkrat tedensko)	 ProNutri pinjenec	☐ Občasno (manj kot enkrat mesečno) ☐ Redno (več kot enkrat tedensko)

Se nadaljuje na naslednji strani

IME MLEČNEGA/SOJINEGA IZDELKA	POGOSTOST UŽIVANJA	IME MLEČNEGA/SOJINEGA IZDELKA	POGOSTOST UŽIVANJA	IME MLEČNEGA/SOJINEGA IZDELKA	POGOSTOST UŽIVANJA
 LC probiotični jogurt Tuš	☐ Občasno (manj kot enkrat mesečno) ☐ Redno (več kot enkrat tedensko)	 Spar Natur pur bio jogurti	☐ Občasno (manj kot enkrat mesečno) ☐ Redno (več kot enkrat tedensko)	 Milfina probiotični jogurt	☐ Občasno (manj kot enkrat mesečno) ☐ Redno (več kot enkrat tedensko)
 Probiotični napitek Mercator	☐ Občasno (manj kot enkrat mesečno) ☐ Redno (več kot enkrat tedensko)	 Spar Vital probiotični lahki jogurt	☐ Občasno (manj kot enkrat mesečno) ☐ Redno (več kot enkrat tedensko)	 LCA probiotični sir	☐ Občasno (manj kot enkrat mesečno) ☐ Redno (več kot enkrat tedensko)
 Probiotični jogurt Zdravo Življenje	☐ Občasno (manj kot enkrat mesečno) ☐ Redno (več kot enkrat tedensko)	 Spar Vital probiotični napitek	☐ Občasno (manj kot enkrat mesečno) ☐ Redno (več kot enkrat tedensko)	 ProNutri probiotična posneta skuta	☐ Občasno (manj kot enkrat mesečno) ☐ Redno (več kot enkrat tedensko)
 Probiotični napitek Zdravo Življenje	☐ Občasno (manj kot enkrat mesečno) ☐ Redno (več kot enkrat tedensko)	 Milfina probiotični jogurt	☐ Občasno (manj kot enkrat mesečno) ☐ Redno (več kot enkrat tedensko)	 Spar Vital probiotična posneta skuta	☐ Občasno (manj kot enkrat mesečno) ☐ Redno (več kot enkrat tedensko)
 Spar LCA probiotični jogurt	☐ Občasno (manj kot enkrat mesečno) ☐ Redno (več kot enkrat tedensko)	 Milfina probiotični jogurt	☐ Občasno (manj kot enkrat mesečno) ☐ Redno (več kot enkrat tedensko)	 Spar Vital probiotični lahki sir	☐ Občasno (manj kot enkrat mesečno) ☐ Redno (več kot enkrat tedensko)

Se nadaljuje na naslednji strani

IME MLEČNEGA/SOJINEGA IZDELKA	POGOSTOST UŽIVANJA	IME MLEČNEGA/SOJINEGA IZDELKA	POGOSTOST UŽIVANJA	IME MLEČNEGA/SOJINEGA IZDELKA	POGOSTOST UŽIVANJA
 Spar Vital sir v rezinah s pinjencem	☐ Občasno (manj kot enkrat mesečno) ☐ Redno (več kot enkrat tedensko)	 Spar Vital sir v rezinah z jogurtom	☐ Občasno (manj kot enkrat mesečno) ☐ Redno (več kot enkrat tedensko)	 ACTIFIDUS, DELISSE	☐ Občasno (manj kot enkrat mesečno) ☐ Redno (več kot enkrat tedensko)
 DÉLIUP, DELISSE	☐ Občasno (manj kot enkrat mesečno) ☐ Redno (več kot enkrat tedensko)	 ProViact	☐ Občasno (manj kot enkrat mesečno) ☐ Redno (več kot enkrat tedensko)	 SOJADE sojin jogurt	☐ Občasno (manj kot enkrat mesečno) ☐ Redno (več kot enkrat tedensko)
 YOSOI Valsoia sojin jogurt	☐ Občasno (manj kot enkrat mesečno) ☐ Redno (več kot enkrat tedensko)	 Provamel Bio Soia Yofu sojin jogurt	☐ Občasno (manj kot enkrat mesečno) ☐ Redno (več kot enkrat tedensko)	 JOYA sojin jogurt	☐ Občasno (manj kot enkrat mesečno) ☐ Redno (več kot enkrat tedensko)
	☐ Občasno (manj kot enkrat mesečno) ☐ Redno (več kot enkrat tedensko)		☐ Občasno (manj kot enkrat mesečno) ☐ Redno (več kot enkrat tedensko)		☐ Občasno (manj kot enkrat mesečno) ☐ Redno (več kot enkrat tedensko)

Zahvaljujemo se vam za izpolnitev vprašalnika!