

<https://doi.org/10.15388/vu.thesis.130>

<https://orcid.org/0000-0001-2345-6789>

VILNIAUS UNIVERSITETAS

Ieva Jūra

PAULAVIČIENĖ

Nežindančių motinų pieno maistinių
medžiagų koncentracijos pokyčiai po
gimdymo ir veiksniai bei procedūros,
turintys įtakos jo sudėčiai

DAKTARO DISERTACIJA

Medicinos ir sveikatos mokslai,

Medicina (M 001)

VILNIUS 2021

Disertacija rengta 2016–2020 metais Vilniaus universitete.

Mokslinis vadovas

Prof. habil. dr. Vytautas Usonis (Vilniaus universitetas, Medicinos ir sveikatos mokslai, medicina – M 001).

<https://doi.org/10.15388/vu.thesis.130>

<https://orcid.org/0000-0001-2345-6789>

VILNIUS UNIVERSITY

Ieva Jūra

PAULAVIČIENĖ

Changes in Human Milk Macronutrient Content of Non-Breastfeeding Mothers after Delivery and Factors or Procedures Affecting its Composition

DOCTORAL DISSERTATION

Medicine and health sciences,
Medicine (M 001)

VILNIUS 2021

This dissertation was written between 2016 and 2020 at Vilnius University.

Academic supervisor

Prof. Habil. Dr. Vytautas Usonis (Medicine and health sciences,
Medicine – M 001).

TURINYS

SANTRUMPOS.....	8
SĄVOKOS IR APIBRĖŽTYS.....	10
ĮVADAS.....	11
Darbo naujumas ir praktinė reikšmė	12
Darbo tikslas.....	13
Uždaviniai	13
Ginamieji teiginiai.....	14
1. LITERATŪROS APŽVALGA	15
1.1. Motinos pieno svarba	15
1.1.1. Motinos pieno poveikis vaiko ir motinos sveikatai	15
1.1.2. Maitinimo motinos pienu rekomendacijos	15
1.2. Istoriniai aspektai	16
1.2.1. Besikeičiantis požiūris į motinos pieną – nuo senovės iki dabartinių laikų.....	16
1.2.2. Žindymo ir motinos pieno sudėties tyrimai Lietuvoje.....	17
1.3. Motinos pieno sudėtis.....	18
1.3.1. Maistinės medžiagos	20
1.3.1.1. Angliavandeniai	20
1.3.1.2. Riebalai	21
1.3.1.3. Baltymai	22
1.3.1.3.1. Išrūgų baltymai.....	24
1.3.1.3.2. Kazeinai.....	26
1.3.1.3.3. Riebalų globulių membranos baltymai.....	27
1.3.1.4. Mikroelementai ir vitaminai.....	27
1.3.1.5. Nebaltyminis azotas	29
1.3.2. Citokinai ir augimo faktoriai	29
1.3.3. Motinos pieno ląstelės	31
1.3.4. Motinos pieno mikrobiota	32
1.4. Motinos pieno sudėties praturtinimas.....	32
1.4.1. Kam reikalingas motinos pieno praturtinimas.....	32
1.4.2. Motinos pieno papildų rūšys	33
1.4.3. Motinos pieno praturtinimo būdai.....	33

1.5.	Motinos pieno sudėčiai įtakos turintys veiksniai.....	35
1.5.1.	Laktacijos trukmė	35
1.5.2.	Nėštumo trukmė	36
1.5.3.	Cirkadinis ritmas	37
1.5.4.	Motinos pieno ištraukimas, laikymas, šaldymas, pasterizacija. Donorinis motinos pienas	38
1.5.5.	Kiti motinos pieno sudėčiai įtakos turintys veiksniai	41
1.6.	Motinos pieno sudėties tyrimo metodai	42
1.6.1.	Baltymų nustatymas	43
1.6.2.	Riebalų nustatymas.....	43
1.6.3.	Angliavandenių nustatymas.....	43
1.6.4.	Energinės vertės apskaičiavimas	44
1.6.5.	Mineralinių medžiagų nustatymas.....	44
1.6.6.	Infraraudonųjų spindulių spektrofotometrija.....	44
1.6.7.	Motinos pieno metabolomo tyrimai	45
1.7.	Apibendrinimas	47
2.	TIRIAMIEJI IR TYRIMO METODAI	48
2.1.	Tyrimo imties apskaičiavimas	49
2.2.	I dalis. Motinos pieno maistinių medžiagų ir kaloringumo tyrimas nuo antros iki septintos savaitės po gimdymo	49
2.3.	II dalis. Cirkadiniai motinos pieno maistinių medžiagų ir kaloringumo pokyčiai.....	52
2.4.	III dalis. Šaldymo ir Holderio pasterizacijos įtaka motinos pieno maistinių medžiagų, biologiškai aktyvių baltymų ir metabolomo sudėčiai	53
2.5.	Statistinė duomenų analizė	56
3.	REZULTATAI	58
3.1.	I dalis. Motinos pieno maistinių medžiagų ir kaloringumo tyrimas nuo antros iki septintos savaitės po gimdymo	58
3.2.	II dalis. Cirkadiniai motinos pieno maistinių medžiagų ir kaloringumo pokyčiai.....	65
3.3.	III dalis. Šaldymo ir Holderio pasterizacijos įtaka motinos pieno maistinių medžiagų, biologiškai aktyvių baltymų ir metabolomo sudėčiai	71

4. REZULTATŲ APTARIMAS	76
4.1. I dalis. Motinos pieno maistinių medžiagų ir kaloringumo tyrimas nuo antros iki septintos savaitės po gimdymo	76
4.2. II dalis. Cirkadiniai motinos pieno maistinių medžiagų ir kaloringumo pokyčiai.....	79
4.3. III dalis. Šaldymo ir Holderio pasteurizacijos įtaka motinos pieno maistinių medžiagų, biologiškai aktyvių baltymų ir metabolomų sudėčiai	81
IŠVADOS	85
REKOMENDACIJOS.....	86
LITERATŪROS SĄRAŠAS.....	87
PRIEDAI	106
PADĖKA.....	108
PUBLIKACIJOS DISERTACIJOS TEMA	109

SANTRUMPOS

- AIDS** – įgytas imunodeficito sindromas (angl. *acquired immune deficiency syndrome*).
- AAP** – Amerikos pediatrijos akademija (angl. *American Academy of Pediatrics*).
- BMSCs** – motinos pieno kamieninės ląstelės (angl. *breast milk derived stem cells*).
- BDNF** – smegenų kilmės neurotropinis faktorius (angl. *brain derived neurotrophic factor*).
- BUN** – kraujo šlapalo azotas (angl. *blood urea nitrogen*).
- EGF** – epiderminis augimo faktorius (angl. *epidermal growth factor*).
- ELISA** – imunofermentinis tyrimas (angl. *enzyme-linked immunosorbent assay*).
- EMBA** – Europos pieno bankų asociacija (angl. *European Milk Bank Association*).
- ESPGHAN** – Europos vaikų gastroenterologijos, hepatologijos ir mitybos draugija (angl. *European Society for Paediatric Gastroenterology Hepatology and Nutrition*).
- FGF** – fibroblastų augimo faktorius (angl. *fibroblast growth factor*).
- GA** – gestacinis naujagimio amžius (savaitėmis).
- G-CSF** – granulocitų kolonijas stimuliuojantis faktorius (angl. *granulocyte – colony stimulating factor*).
- GDNF** – glijos ląstelių kilmės neurotropinis faktorius (angl. *glial-cell line derived neurotrophic factor*).
- GM-CSF** – granulocitų – makrofagų kolonijas stimuliuojantis faktorius (angl. *granulocyte – macrophage – colony stimulating factor*).
- HB-EGF** – hepariną surišantis epiderminis augimo faktorius (angl. *heparin-binding epidermal growth factor*).

- HGF** – hepatocitų augimo faktorius (angl. *hepatocyte growth factor*).
- IGF** – panašus į insuliną augimo faktorius (angl. *insulin-like growth factor*).
- IFN- γ** – gama interferonas (angl. *interferon gamma*).
- IL** – interleukinas (angl. *interleukin*).
- KMI** – kūno masės indeksas.
- LMGS** – labai mažas naujagimių gimimo svoris (angl. *very low birthweight – VLBW*) – mažiau nei 1 500 g.
- M-CSF** – makrofagų kolonijas stimuliuojantis faktorius (angl. *macrophage – colony stimulating factor*).
- MP** – motinos pienas.
- NEK** – nekrozinis enterokolitas.
- NT** – neurotropinas (angl. *neurotropin*).
- PSO** – Pasaulinė sveikatos organizacija.
- sIgA** – sekretinis imunoglobulinas A.
- TGF** – transformuojantis augimo faktorius (angl. *transforming growth factor*).
- TNF** – auglio nekrozės faktorius (angl. *tumour necrosis factor*).
- UNICEF** – Jungtinių Tautų organizacijos vaikų fondas (angl. *United Nations International Children's Emergency Fund*).
- VUL SK** – VšĮ Vilniaus universiteto ligoninė Santaros klinikos.
- ŽIV** – žmogaus imunodeficito virusas.

SAVOKOS IR APIBRĖŽTYS

Naujagimystės laikotarpis – 0–28 dienos po gimimo.

Neišnešiotas naujagimis – gimęs iki 37 nėštumo savaitės.

Ypač neišnešiotas naujagimis – gimęs 22–27 nėštumo savaitę.

Labai neišnešiotas naujagimis – gimęs 28–31 nėštumo savaitę.

Vėlyvas neišnešiotas naujagimis (angl. *late preterm newborn*) – gimęs 34–36 nėštumo savaitę.

Išnešiotas naujagimis – gimęs 37–42 nėštumo savaitę.

Kūdikystės laikotarpis – nuo 29 dienos iki 1 metų po gimimo.

Ankstyvoji vaikystė – vaiko amžiaus tarpsnis nuo 1 iki 3 metų.

Gestacinis amžius – trukmė nuo pirmos paskutinių normalių mėnesinių dienos iki vaiko gimimo. Gestacinio amžiaus trukmė užrašoma savaitėmis ir dienomis (pvz., 36 savaitės ir 6 dienos, 36⁺⁶ sav.).

Išimtinis žindymas – kūdikio žindymas ar maitinimas tik motinos pienu neduodant jokie kito maisto ar gėrimo, įskaitant vandenį, išskyrus geriamuosius rehidracijos tirpalus, vaistus ar vitaminus esant medicininių indikacijų.

Laktacija – (lot. *lacto* – žindau krūtimi) – pieno susidarymas, kaupimasis moters organizme ir išsiskyrimas iš jo; prasideda po gimdymo.

Metabolomas – viso organizmo mažos molekulinės masės metabolitų (medžiagų apykaitos tarpinių ir galutinių produktų) visuma biologiniame mėginyje.

ĮVADAS

Motinos pienas (MP) – unikalus maisto šaltinis naujagimiams, kūdikiams ir ankstyvo amžiaus vaikams. Su MP gaunama ne tik maistinių medžiagų (baltymų, riebalų, angliavandenių, vitaminų ir mikroelementų), bet ir biologiškai aktyvių komponentų (hormonų, augimo faktorių, citokinų, chemokinų, imunoglobulinų, oligosacharidų), specifinio mikrobiomo (laktobakterijų ir bifidobakterijų), taip pat specifinių piene esančių ląstelių (epitelinių, imuninių, multipotentinių kamieninių ir kt.) [1–7]. Žindymas užtikrina glaudų motinos ir jos vaiko ryšį, o jo metu aktyvinami įvairūs metaboliniai procesai sąlygoja kūdikio augimą, jo organų sistemų vystymąsi, nervinių ląstelių migraciją ir diferenciaciją, žarnyno kolonizaciją mikroorganizmais, imuninės sistemos brendimą [4]. Kiekvienos motinos pieno sudėtis yra unikali ir geriausiai užtikrina specifinius jos vaiko poreikius. Šviežias MP yra geriausias maistas tiek sveikiems laiku gimusiems, tiek sergantiems ir neišnešiotiems naujagimiams. Įrodyta, kad vaikai, nuo gimimo maitinti MP, o ne adaptuotu pieno mišiniu, rečiau serga ir geriau vystosi [8–14].

MP sudėtis nėra pastovi. Nuolat kinta ne tik pagrindinių maistinių medžiagų kiekis, bet ir „gyvoji“ MP dalis – bioaktyvūs komponentai. MP sudėties skirtumus ir kitimus sąlygoja įvairūs veiksniai: nėštumo ir laktacijos trukmė [15, 16], cirkadinis (paros) ritmas [17, 18], gimdymo būdas [19], naujagimio lytis [19–21], moters amžius, tautybė [22], mityba ir gyvenimo būdas [23–26], persirgtos ligos [27, 28], taip pat – visos procedūros, atliekamos su motinos pienu (ištraukimo, laikymo, paruošimo būdas ir kt.) [29–32].

Nemažos dalies MP komponentų atliekamos funkcijos jau yra žinomos. Tačiau tobulėjant laboratorinei įrangai ir atsirandant naujų analizės galimybių, mokslininkai ir šiandien atskleidžia daug įdomių faktų apie MP – „gyvąjį“ maisto šaltinį. Detaliau MP sudėtį tyrinėti leido vadinamųjų OMICS technologijų atsiradimas. Pavyzdžiui, MP metabolomo (angl. *metabolomics*) tyrimas leidžia charakterizuoti visą jo metabolitų sudėtį ir įvertinti įvairių veiksnių (motinos ligų, tautybės, gyvenimo būdo ir kt.) sąlygojamus pieno sudėties kitimus, taip pat atskleisti, kaip visa tai veikia žindomo naujagimio adaptaciją, mikrobiomą, organų sistemų raidą [33–35]. Nustatomi specifiniai metabolomo pokyčiai suteikia žinių apie organizme vykstančius patofiziologinius procesus, palengvina ligų diagnostiką ir gydymo atsako vertinimą. Visgi iki šiol dar daugelio sudedamųjų MP dalių funkcijos nėra iki galo aiškios [4, 5].

Šiuo metu nekyla abejonių, kad šviežias MP yra geriausias maistas naujagimiams ir kūdikiams. Žindymą skatina tarptautinės organizacijos – Pasaulinė sveikatos organizacija, Amerikos pediatrių akademija, Europos vaikų gastroenterologijos, hepatologijos ir mitybos draugija bei kitos [8, 36, 37]. Nors MP yra ypač svarbus neišnešiotiems ir labai mažo gimimo svorio (LMGS) naujagimiams, vien tik jo neužtenka norint užtikrinti pakankamą šių naujagimių augimą ir kaulų mineralizaciją, todėl jiems su MP rekomenduojama skirti specialius papildus [38]. Sudarant neišnešiotų ir LMGS naujagimių mitybos planą, labai svarbu žinoti MP sudėtį, kad būtų galima išvengti neracionalaus (nepakankamo ar perteklinio) MP papildų skyrimo.

Donorinis MP turėtų būti antrojo pasirinkimo maistas neišnešiotiems naujagimiams, kai trūksta nuosavos motinos pieno [39]. Toks pienas turi būti specialiai paruoštas donorinio pieno banke, laikantis atitinkamų saugumo reikalavimų [40]. Visos procedūros, atliekamos su MP, gali turėti įtakos jo sudėties pokyčiams. Taigi labai svarbu ieškoti optimalių MP paėmimo, laikymo ir paruošimo saugiam vartojimui būdų, kurie leistų išsaugoti kuo mažiau pakitusią šviežio MP sudėtį [41].

Darbo naujumas ir praktinė reikšmė

Nors pasaulyje MP sudėties analizė atliekama jau gana seniai, Lietuvoje MP tyrimai buvo nedidelės apimties, trūko gautų duomenų sklaidos. Kiek plačiau mūsų šalyje tyrinėti cheminiai teršalai, randami MP [42, 43]. Iki šiol nebuvo Lietuvoje gyvenančių ir gimdančių moterų MP maistinės sudėties standarto, leidžiančio numatyti, kaip MP skiriasi ar kinta, priklausomai nuo gestacijos ir laktacijos trukmės, paros laiko, kitų veiksnių. MP sudėčiai yra svarbūs tokie veiksniai kaip tautybė, dieta, aplinka, gyvenimo būdas. Todėl labai reikalinga tiksli, nauja ir dabartinę situaciją šalyje, o ne vien tik pasaulinius duomenis atspindinti informacija apie MP sudėtį ir jai įtakos turinčius veiksnius.

Žmogaus mityba yra vienas iš svarbiausių epigenetinių veiksnių, ir jau nuo pirmųjų gyvenimo dienų mitybos ypatumų priklauso tolesnė vaiko sveikata ir raida [44, 45]. Dėl organų sistemų nebrandumo ir spartaus jų augimo, taip pat dėl gretutinių ligų subalansuota mityba yra ypač svarbi pirmaisiais neišnešiotų naujagimių gyvenimo mėnesiais. Nustatyta, kad ypač mažo gimimo svorio naujagimiams (< 1 000 g) adekvatus svorio prieaugis ankstyvuojų hospitalizacijos laikotarpiu tiesiogiai susijęs su geresnėmis neurologinėmis išėjimais 18 ir 22 mėnesių amžiuje bei sumažėjusiu pakartotinės hospitalizacijos poreikiu [46]. *J. Schneider* su bendraautoriais

stebėjimo tyrimas atskleidė, kad pirmosiomis dviem gyvenimo savaitėmis su MP skiriamas didesnis lipidų ir energijos kiekis neišnešiotiems naujagimiams buvo tiesiogiai susijęs su spartesniu smegenų augimu, baltosios smegenų medžiagos brendimu ir geresnėmis atokiomis šių vaikų psichomotorinio vystymosi išeitimis [47].

Tai yra pirmas tokio pobūdžio tyrimas Lietuvoje, kuris suteikė žinių apie pagrindinių MP maistinių medžiagų sudėtį ir jos pokyčius pirmomis savaitėmis po gimdymo ir apie tai, kokie veiksniai turi įtakos MP sudėčiai. Pirmieji Lietuvoje pradėjome naudoti infraraudonųjų spindulių spektrofotometrijos metodą MP maistinių medžiagų ir energinės vertės nustatymui. Pateikiami rezultatai gali būti tiesiogiai pritaikomi klinikinėje naujagimiais ir kūdikiais besirūpinančių sveikatos priežiūros specialistų praktikoje, ypač tada, kai sprendžiami klausimai dėl nepakankamo naujagimio (ar kūdikio) svorio augimo, mitybos plano sudarymo, maisto parinkimo ir nėra galimybės ištirti MP sudėtį.

Bendradarbiaujant su Italijos mokslininkais, Kaljario universiteto (Italija) Chemijos ir geologijos mokslų katedros tyrimų laboratorijoje buvo atliekamas inovatyvus MP metabolomo tyrimas, kuris leido įvertinti pasterizacijos poveikį MP metabolitų sudėčiai, taip pat suteikė žinių apie Lietuvoje gyvenančių moterų pieno oligosacharidų sudėtį.

Klinikinėje praktikoje, ypač neišnešiotų naujagimių mityboje, vis plačiau vartojamas pasterizuotas donorinis MP. Kadangi mokslinėje literatūroje yra daug prieštaringos informacijos apie pasterizacijos įtaką MP sudėčiai, buvo labai svarbu nustatyti, kokią iš tiesų įtaką šis procesas turi MP maistinių medžiagų, biologiškai aktyvių baltymų bei metabolomo sudėčiai.

Darbo tikslas

Ištirti Lietuvoje gyvenančių nežindančių motinų pieno sudėtį, nustatyti jai įtakos turinčius fiziologinius, nuo motinos ir naujagimio priklausančius veiksnius, taip pat – šaldymo ir Holderio pasterizacijos poveikį motinos pieno sudėčiai.

Uždaviniai

1. Įvertinti Lietuvoje gyvenančių nežindančių motinų pieno pagrindinių maistinių medžiagų sudėties ir kaloringumo pokyčius per pirmas septynias savaites po gimdymo.

2. Įvertinti, ar motinos amžius, jos kūno masės indeksas (KMI), nėštumo trukmė, gimdymo būdas ir naujagimio lytis turi įtakos motinos pieno pagrindinių maistinių medžiagų sudėčiai.

3. Įvertinti motinos pieno pagrindinių maistinių medžiagų ir kaloringumo cirkadinius (paros) pokyčius.

4. Įvertinti šaldymo ir Holderio pasterizacijos poveikį motinos pieno pagrindinių maistinių medžiagų, biologiškai aktyvių baltymų (laktoferino, lizocimo) ir metabolomo sudėčiai.

Ginamieji teiginiai

1. Lietuvoje gyvenančių motinų pieno pagrindinių maistinių medžiagų sudėtis ir kaloringumas keičiasi priklausomai nuo laktacijos trukmės.

2. Įvairūs fiziologiniai, taip pat su motina ir naujagimiu susiję veiksniai yra svarbūs motinos pieno pagrindinių maistinių medžiagų ir metabolomo sudėčiai.

3. Pasterizuotame ir šaldytame motinos piene išlieka didelė dalis nepakitusių svarbių šviežio motinos pieno sudedamųjų dalių.

1. LITERATŪROS APŽVALGA

1.1. Motinos pieno svarba

1.1.1. Motinos pieno poveikis vaiko ir motinos sveikatai

Motinos pienas (MP) yra auksinis naujagimių ir kūdikių mitybos standartas [8]. Kiekvienos motinos pieno sudėtis yra unikali, nuolat kinta ir prisitaiko prie specifinių jos vaiko poreikių.

Seniai įrodytas teigiamas žindymo poveikis vaiko trumpalaikiai ir ilgalaikiai sveikatai bei vystymuisi. MP saugo nuo staigios kūdikių mirties [8], infekcinių ligų (vėlyvojo sepsio, infekcinio viduriavimo, kvėpavimo takų infekcijų, vidurinės ausies uždegimo ir kt.) [48], padeda bręsti vaiko imuninei, nervų [48], virškinimo sistemoms [49], formuoja žarnyno mikrobiotą [50]. Žindymas mažina nutukimo, pirmo ir antro tipo cukrinio diabeto, Krono ligos, opinio kolito [51], onkologinių ligų pasireiškimo riziką [8]. Iki šiol nėra vienodos nuomonės, ar žindymas turi įtakos alerginių ligų, arterinės hipertenzijos pasireiškimo dažniui, taip pat – cholesterolio kiekio kraujyje sumažėjimui [36, 48, 52, 53].

MP naudingas tiek sveikiems, tiek specifinių problemų turintiems naujagimiams. Jis yra ypač svarbus neišnešiotiems naujagimiams – mažina tokių naujagimių retinopatijos [54], bronchopulmoninės displazijos pasireiškimo riziką [55, 56], reikšmingai sumažina susirgimų nekrotizuojančiu enterokolitu (NEK) dažnį [8, 11], turi teigiamos įtakos neišnešiotų naujagimių psichomotoriniam vystymuisi [12, 13]. Nustatyta, kad MP kvapas suteikia analgetinį ir raminantį poveikį naujagimiui [57]. Tyrimai atskleidė, kad MP naudingas ir naujagimiams, kuriems pasireiškia abstinencijos simptomai – palengvina šių simptomų pasireiškimo kliniką ir sumažina medikamentinio gydymo poreikį [58].

Žindymas teikia naudą ne tik kūdikiui, bet ir motinai, formuoja glaudų jų tarpusavio ryšį. Žindančiai moteriai sumažėja tikimybė sirgti depresija po gimdymo, krūties ir kiaušidžių vėžiu, antro tipo cukriniu diabetu, arterine hipertenzija bei reumatoidiniu artritu [8, 48].

1.1.2. Maitinimo motinos pienu rekomendacijos

Šiuo metu nekyla abejonių, kad šviežias MP yra geriausias maistas naujagimiams ir kūdikiams. Žindymą skatina tarptautinės organizacijos – PSO, AAP, ESPGHAN bei kitos [8, 36, 37]. Išimtinis žindymas

rekomenduojamas maždaug iki 6 mėnesių, vėliau jį rekomenduojama tęsti palaipsniui vaiko mitybą papildant kitais maisto produktais. Žindymo trukmė turėtų būti parenkama atsižvelgiant į vaiko poreikius ir motinos galimybes, tačiau rekomenduojama, kad ji būtų ne trumpesnė nei pirmieji vaiko gyvenimo metai, o šalyse, kur registruojamas didelis infekcinių ligų dažnis – iki dvejų metų ar ilgiau [8, 36, 59].

Kai dėl kokių nors priežasčių trūksta nuosavos motinos pieno, PSO ir daugelis kitų sveikatos priežiūros organizacijų rekomenduoja naudoti donorinį MP kaip geriausią maisto alternatyvą, ypač neišnešiotiems ir sergantiems naujagimiams. Svarbu, kad donorinis MP būtų tinkamai paruoštas vartojimui donoriniame MP banke [8, 40, 60].

1.2. Istoriniai aspektai

1.2.1. Besikeičintis požiūris į motinos pieną – nuo senovės iki dabartinių laikų

Jau prieš kelis tūkstantmečius buvo žinota apie MP vertę. Senovės Egipte manyta, kad MP yra ypatingas, stebuklingas ir gali išgydyti bet kokią ligą. Egiptiečiai tikėjo, kad MP – tai Dievų nektaras, suteikiantis gyvybės, jėgų ir užtikrinantis ilgą gyvenimą [61]. Taip pat yra duomenų, jog senovėje buvo naudotasi žindyvių (kurios galėjo būti gimdyvės giminaitės, draugės ar kitos neseniai gimdžiusios moterys) paslaugomis. Žindymo taisyklės buvo aprašytos Babilonijos Hamurabio kodekse (apytiksliai 1800 m. pr. Kr.), o išsamūs žindyvių atrankos kriterijai randami senoviniuose graikų ir romėnų tekstuose. Senovės laikais buvo manoma, kad vaikai per MP paveldi žindyvės fizinius, protinius ir emocinius bruožus, todėl žindyvių atranka buvo labai svarbi [62].

Deja, ne visais laikais MP buvo taip vertinamas. Europos aukštuomenėje iki XIX amžiaus pradžios žindymas buvo „nemadingas“, ir buvo priimta naudotis žindyvių, kurios iš to užsidirbdavo pinigų, paslaugomis. Palaipsniui didėjo susirūpinimas dėl žindyvių trūkumo ir didelio kūdikių mirtingumo. Atsiradus poreikiui, nuo XX amžiaus pradžios pasaulyje pradėjo kurtis donorinio MP bankai. Pirmas donorinio MP bankas buvo įsteigtas 1909 m. Austrijoje, Vienoje. Laikui bėgant, donorinio MP bankai sparčiai kūrėsi ne tik Europoje, bet ir kitose pasaulio šalyse [62]. Tuo pat metu vyko ir karvės pieno mišinių, kaip alternatyvaus MP maisto, gamyba bei reklama.

Nuo modernios neišnešiotų naujagimių priežiūros pradžios, kuri siejama su specialaus tokių pacientų skyriaus atidarymu Paryžiuje 1893 m.,

MP laikytas tinkamiausiu maistu prieš laiką gimusiems naujagimiams. Tačiau buvo pastebėta, kad MP maitinami neišnešioti naujagimiai ne visada gerai auga ir vystosi, ir tai paskatino kurti specialius neišnešiotiems naujagimiams maitinti skirtus adaptuotus mišinius, kurie buvo skiriami vietoj MP. Dar labiau MP, kaip geriausiu maistu naujagimiui, buvo suabejota XX amžiaus antroje pusėje, kai buvo nustatyta, kad žmogaus imunodeficito virusas (ŽIV), sukeliantis AIDS (angl. *acquired immune deficiency syndrome*), gali būti perduotas su MP. Dėl šios priežasties buvo uždaryta didžioji dalis donorinio MP bankų Europoje.

Pririkė ne vienerių metų, kad vėl būtų patikėta MP nauda ir pranašumais prieš adaptuotus mišinius. XX amžiaus pabaigoje išpopuliarėjo MP papildų, skirtų neišnešiotiems naujagimiams maitinti, vartojimas. Šiuo metu vieningai sutariama, kad šviežias MP yra tinkamiausias maistas naujagimiui. Mažesnio negu 1 800 g gimimo svorio naujagimiams skiriamas MP turėtų būti praturtintas specialiais papildais [38].

1980 m. Pasaulinė sveikatos organizacija (PSO) ir Jungtinių Tautų organizacijos vaikų fondas (UNICEF) paskelbė bendrą pareiškimą apie tai, kad donorinis MP yra antrojo pasirinkimo maistas, jei naujagimio motina negali jo maitinti savo pienu. Įvardijus donorinio MP vartojimo rekomendacijas, buvo priimti nuostatai dėl donorių atrankos, pieno paėmimo, laikymo, paruošimo ir skyrimo. 2005 m. buvo paskelbta Tarptautinė pieno bankų iniciatyva (angl. *The International Milk Banking Initiative*), prie kurios prisidėjo 33 šalys, įsipareigojusi realizuoti donorinio MP bankų įkūrimo programą. Donorinių MP bankų veikla vėl suaktyvėjo. Siekiant skatinti žindymą, MP donorystę bei tarptautinį donorinių MP bankų bendradarbiavimą, 2010 m. buvo įsteigta Europos pieno bankų asociacija (angl. *EMBA – European Milk Bank Association*). *EMBA* ne tik rengia pieno bankų veiklos gaires, bet ir vertina bei teikia rekomendacijas dėl tinkamiausių MP paruošimo bei praturtinimo būdų. Šiuo metu daugiau kaip 37 pasaulio šalyse veikia apie 500 donorinio MP bankų [62].

1.2.2. Žindymo ir motinos pieno sudėties tyrimai Lietuvoje

Iš Lietuvos medicinos šaltinių žinoma, kad praeitame šimtmetyje mūsų šalyje buvo skatinamas žindymas ir pabrėžiama MP donorystės svarba [63–65].

Paskutiniaisiais dešimtmečiais Lietuvoje buvo tiriama išimtinio žindymo trukmė ir jai įtakos turintys veiksniai [66–69], publikuota darbų apie Lietuvos moterų pieno sudėtyje randamų teršalų (polichlorintų bifenilų ir kt.) kieki bei jų poveikį žindomų kūdikių sveikatai [42, 43], žindymo svarbą

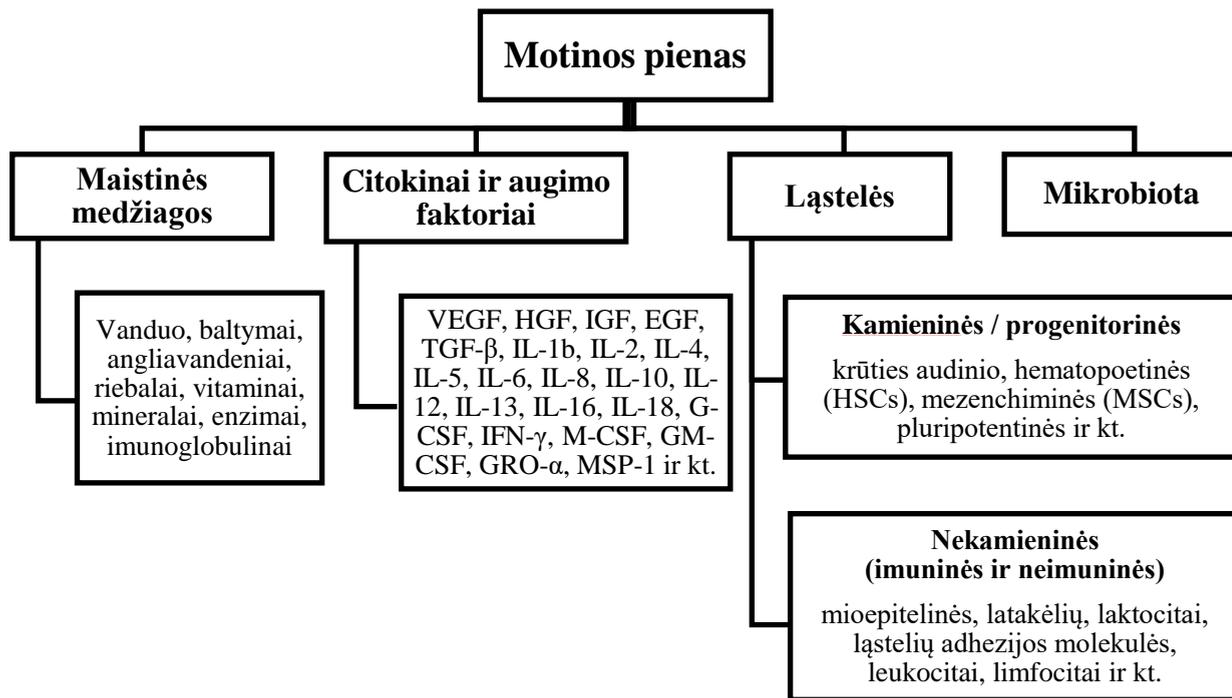
pirmo tipo cukrinio diabeto prevencijai [70], kreiptas dėmesys į žindymą ir medikamentus [71], išspausdinta apžvalginių straipsnių ir konferencijų medžiagos apie MP svarbą, jo sudedamąsias dalis ir poveikį motinos ir vaiko sveikatai [72, 73].

2016–2017 m. svarbūs įvykiai Lietuvos neonatologijos srityje buvo dviejų pirmųjų donorinio MP bankų įkūrimas Vilniaus ir Kauno perinatologijos centruose. Šiuo metu juose gydomus neišnešiotus naujagimius siekiama maitinti tik MP – arba nuosavos motinos, arba kai jo trūksta – donoriniu MP. Manoma, kad donorinio MP bankų įsteigimas turėjo įtakos susirgimų NEK dažnio mažėjimui, taip pat pastebimos pažengusių stadijų NEK atvejų skaičiaus mažėjimo tendencijos [74, 75]. Iki šiol Lietuvoje nebuvo atlikta donorinio pieno banke atliekamų procedūrų poveikio MP sudėčiai tyrimų.

Nors apie MP Lietuvoje kalbama gana plačiai ir įvairiais aspektais, beveik nėra duomenų apie Lietuvoje gyvenančių motinų pieno pagrindinių maistinių medžiagų sudėtį. Netyrinėta ir Lietuvoje gyvenančių motinų pieno mažos molekulinės masės metabolitų ir oligosacharidų sudėtis. Taigi iki šiol neturėjome savo motinų pieno sudėties standarto, todėl, vertinant naujagimių ir kūdikių mitybą, reikėjo vadovautis kitose šalyse atliktais MP sudėties tyrimais.

1.3. Motinos pieno sudėtis

MP yra daugiakomponentis biologinis audinys, kurio sudėtis yra unikali ir nuolat kintanti. Apie 88 proc. MP sudaro vanduo [76]. Pagrindinės MP sudedamosios dalys pateiktos 1 pav.



1 pav. Motinos pieno sudėtis [6, 77]. *VEGF* – kraujagyslinis endotelio augimo faktorius; *HGF* – hepatocitų augimo faktorius; *IGF* – panašus į insuliną augimo faktorius; *EGF* – epiderminis augimo faktorius; *TGF-β* – transformuojantis augimo faktorius beta; *IL* – interleukinai; *G-CSF* – granulocitų kolonijas stimuliuojantis faktorius; *IFN-γ* – gama interferonas, *M-CSF* – makrofagų kolonijas stimuliuojantis faktorius; *GM-CSF* – granulocitų – makrofagų kolonijas stimuliuojantis faktorius; *GRO-α* – augimo reguliuojamas onkogenas α; *MSP-1* – merozoito paviršinis baltymas-1.

1.3.1. Maistinės medžiagos

Daugelis MP maistinių medžiagų atlieka ne tik mitybinę, bet ir kitas svarbias funkcijas. MP maistinių medžiagų sudėtis tiek kiekybiškai, tiek kokybiškai skiriasi nuo kitų žinduolių pieno. Santykinis MP maistinių medžiagų kiekis ir jo palyginimas su įvairių žinduolių pienu pateikiami 1 lentelėje.

1 lentelė. Motinos pieno ir įvairių žinduolių pieno sudėties palyginimas, jų palikuonių augimo tempas [78].

Pieno rūšis	Gimimo svorio padvigubėjimo laikas (dienomis)	Santykinis kiekis piene (proc.)			
		Riebalai	Baltymai	Laktozė	Mikroelementai
Motinos pienas	180	3,8	0,9	7,0	0,2
Kumelės pienas	60	1,9	2,5	6,2	0,5
Karvės pienas	47	3,7	3,4	4,8	0,7
Elnės pienas	30	16,9	11,5	2,8	1,5
Ožkos pienas	19	4,5	2,9	4,1	0,8
Avies pienas	10	7,4	5,5	4,8	1,0
Žiurkės pienas	6	15,0	12,0	3,0	2,0

1.3.1.1. Angliavandeniai

MP angliavandenius galima suskirstyti į dvi pagrindines grupes – laktozė ir oligosacharidai.

Laktozė sudaro 70–80 proc. bendrojo MP angliavandenių kiekio. Tai yra disacharidas, sudarytas iš gliukozės ir galaktozės. Laktozės koncentracija MP yra apie 78 g/l [79]. Laktozė yra svarbus maisto ir energijos šaltinis naujagimiui [3]. Angliavandenių atsargos naujagimių organizme yra labai menkos (daugiausia – glikogeno atsargos, esančios kepenyse ir raumenyse), todėl pakankamas laktozės kiekis maiste labai svarbus normaliai gliukozės koncentracijai kraujyje ir įvairių organų sistemų funkcijoms užtikrinti. Didžiąją dalį laktozės suskaldo naujagimio žarnyno fermentas laktazė. Nedidelis nepakitusios laktozės kiekis (iki 10 proc.) pasiekia storąjį žarnyną ir sąlygoja minkštesnę išmatų konsistenciją, sudaro palankias sąlygas vyrauti

normaliai žarnyno mikrobiotai, pagerina mineralinių medžiagų pasisavinimą [80].

MP oligosacharidų koncentracija MP svyruoja nuo 15–23 g/l priešpienyje iki 1–10 g/l brandžiame MP. Jie neturi tiesioginės maistinės vertės naujagimiui, tačiau yra nepaprastai svarbūs savo biologinėmis funkcijomis. Tai yra oligosacharidų grupės kompleksinės cukrų molekulės, pasižyminčios struktūrine įvairove. MP oligosacharidai yra sintetinami iš penkių monosacharidų: gliukozės, galaktozės, N-acetilgliukozamino, fukozės ir N-acetilneuramininės rūgšties [81]. Individuali oligosacharidų sudėtis ir jų kiekis priklauso nuo genetinių veiksnių, tiksliau – nuo sekrecinio (Se) ir *Lewis* (Le) genų aktyvumo krūties liaukose. Šie genai koduoja fermentus fukoziltransferazes (α 1-2-fukoziltransferazę, FUT-2 ir α 1-3/4-fukoziltransferazę, FUT-3), dalyvaujančias oligosacharidų fukozilinimo procese. Pagal FUT-2 ir FUT-3 fermentų aktyvumą MP oligosacharidus galima suskirstyti į keturis pogrupius: 1) Se+Le+ (dažniausiai pasitaikantis); 2) Se–Le+; 3) Se+Le–; 4) Se–Le– (rečiausiai pasitaikantis). Nors žinoma maždaug 200 skirtingų MP oligosacharidų, tik mažiau nei 20 skirtingų jų rūšių sudaro apie 90 proc. visų MP oligosacharidų [82, 83]. Įdomu, kad skirtingi MP oligosacharidai atlieka nevienodas funkcijas naujagimio organizme. Individualia MP oligosacharidų struktūra iš dalies galima paaiškinti skirtingą naujagimių mikrobiotos formavimąsi [84]. Manoma, kad kai kurie MP oligosacharidų tipai pasižymi labiau išreikštomis apsauginėmis savybėmis nuo infekcinių ligų (pvz., NEK, kvėpavimo takų infekcijų) [85, 86].

MP oligosacharidai nesuvirškinami naujagimio žarnyne ir yra svarbūs kaip prebiotikai – žarnyno mikrobiotos maisto šaltinis [87], svarbūs žarnyno barjerinei funkcijai, stabdo patogeninių mikroorganizmų prikibimą prie žarnyno sienelių, taip pat skatina žarnyno ląstelių proliferaciją ir brendimą. Apie 1 proc. MP oligosacharidų yra absorbuojami į sisteminę kraujotaką ir turi poveikio sisteminio imuniteto bei nervų sistemos formavimuisi [88–90].

1.3.1.2. Riebalai

Riebalų koncentracija brandžiame MP yra apie 3,5–4,5 g/100 ml [91]. MP riebalai sudaro apie 50 proc. MP energinės vertės ir naujagimiui yra pagrindinis energijos, taip pat nepakeičiamų polinesočiųjų rūgščių, cholesterolio, riebaluose tirpių vitaminų bei įvairių bioaktyvių komponentų šaltinis [92, 93]. MP riebalai svarbūs naujagimio augimui, psichomotoriniam vystymuisi ir imuninės sistemos būklei [94].

MP riebalai yra labiausiai kintantis MP maistinių medžiagų komponentas. Vadinamajame galiniame piene, kuris skiriasi žindymo pabaigoje, riebalų koncentracija yra maždaug dvigubai didesnė nei pradiniam piene, kuris skiriasi žindymo pradžioje [95]. Skirtingų žindyvių pieno riebalų koncentracija smarkiai skiriasi [96], taip pat gerokai keičiasi per parą [18], iš dalies priklauso nuo motinos mitybos [26, 97] ir moters svorio priaugio nėštumo metu [98].

Lengvą MP riebalų virškinimą ir įsisavinimą žarnyne lemia ypatinga riebalų globulės struktūra, riebalų rūgščių sudėtis ir MP esantis fermentas lipazė [99].

Riebalai MP randami įvairaus dydžio dalelių (globulių) pavidalu. Šių dalelių branduolį sudaro trigliceridai (apie 98 proc. visų MP riebalų), likusi dalis – monogliceridai, digliceridai, cholesterolio esteriai, neesterifikuotos riebalų rūgštys. MP riebalų globules gaubia trisluoksnė membrana, sudaryta iš fosfolipidų, cerebrozidų, gangliozidų, cholesterolio, polipeptidų, filamentų, mucinų, laktadherino, butirofilino ir kitų bioaktyvių komponentų [92].

Cholesterolis ir sfingomielinai, esantys riebalų globulės membranoje, yra būtini centrinės nervų sistemos brendimui, pirmiausia – nervinių skaidulų mielinizacijai. Eksperimentinis tyrimas, kurio metu naujagimiams buvo skiriamas adaptuotas mišinys, praturtintas sfingomielinu, atskleidė geresnius tiriamų 18 mėn. amžiaus vaikų elgesio rezultatus [100]. *In vitro* atlikti tyrimai parodė, kad MP lipidai inaktyvina daugelį patogeninių bakterijų, įskaitant B grupės streptokoką, todėl manoma, kad jie dalyvauja apsaugant nuo invazinių infekcijų [101].

MP riebalų sudėtyje yra daugiau kaip 200 riebalų rūgščių, tarp jų – tik MP būdingų ilgos grandinės polinesočiųjų riebalų rūgščių – arachidono ir dokozaheksaeno, kurių nėra karvės piene. Šios polinesočiosios riebalų rūgštys ypač svarbios kūdikių augimui [102, 103], nervinio audinio (smegenų, tinklainės) [104, 105], eritrocitų membranos vystymuisi, be to, pasižymi uždegimo slopinamuoju poveikiu [106]. Vidutinio ilgio grandinės sočiosios riebalų rūgštys yra lengviau pasisavinamos nei ilgos grandinės, todėl jos yra ypač svarbus neišnešiotų naujagimių energijos šaltinis [107]. Trumpos grandinės riebalų rūgštys irgi yra maisto šaltinis, be to, dar skatina naujagimio virškinimo sistemos brendimą [108].

1.3.1.3. Baltymai

Baltymai yra trečia pagal randamą kiekį sausoji MP medžiaga. Ypač daug baltymų yra priešpienyje (t. y. pirmomis dienomis po gimdymo – apie 14–16

g/l), vėliau jų koncentracija MP palaiptai mažėja (iki 8–10 g/l trečią mėnesį po gimdymo ir 7–8 g/l šeštą mėnesį po gimdymo) [109, 110].

MP baltymus galima suskirstyti į tris pagrindines grupes: kazeinai, išrūgų baltymai ir MP riebalų globulių baltymai [1]. Palyginti su karvės pienu, MP turi mažesnę bendro baltymo kiekį, tačiau didesnę šio pieno baltymų dalį sudaro išrūgų baltymai, o kavės piene vyrauja kazeinai. Išrūgų baltymai ir kazeinai sudaro pagrindinį MP bendro baltymo kiekį, o riebalų globulių membranos baltymams tenka tik nedidelė jo dalis (1–2 proc.) [1].

Dauguma MP baltymų (kazeinai ir dalis išrūgų baltymų, pvz., laktoferinas, α -laktalbuminas ir kt.) yra sintetiniai iš laisvųjų aminorūgščių laktocitų endoplazminiame tinkle ir sekretuojami į MP egzocitozės būdu. Kiti MP baltymai (imunoglobulinai ir dalis hormonų) į MP patenka iš motinos kraujotakos per bazolateralinę membraną endocitozės būdu [111].

MP baltymai atlieka ne tik mitybos, bet ir kitas svarbias funkcijas naujagimio organizme (2 lentelė).

2 lentelė. Motinos pieno baltymų funkcijos [109, 112].

Funkcija	Bioaktyvus baltymas
Maistinė medžiaga	α -laktalbuminas α -kazeinas β -kazeinas κ -kazeinas
Imunomoduliacinis, antimikrobinis poveikis	Laktoferinas Sekrecinis imunoglobulinas A (sIgA) Osteopontinas Citokinai Lizocimas κ -kazeinas Laktoperoksidazė Haptokorinas α -laktalbuminas Laktadherinas
Virškinimo funkcija (fermentai)	Tulžies druskų stimuliuojama lipazė Amilazė α 1-antitripsinas
Žarnyno vystymosi skatinimas	Augimo faktoriai Laktoferinas
Maistinių medžiagų pernešimas	Laktoferinas (geležis) Haptokorinas (vitaminas B ₁₂)

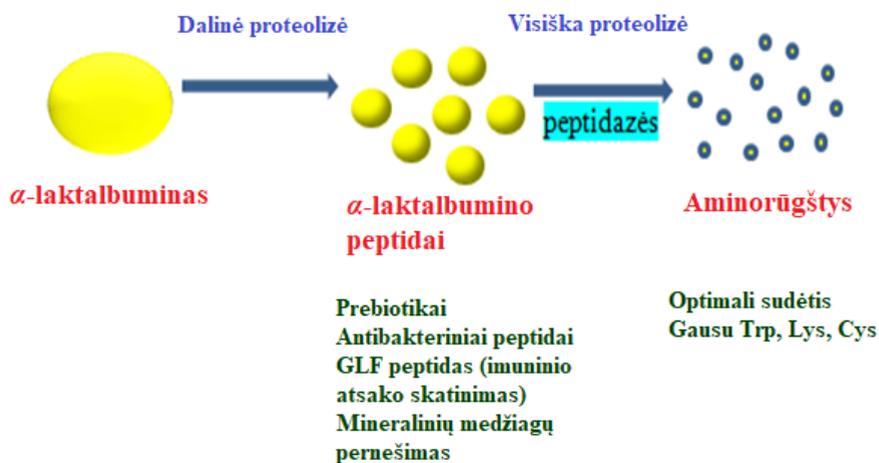
Lentelės tęsinys.

	Folatus sujungiantis proteinas α -laktalbuminas (kalcis, cinkas) β -kazeinas (kalcis, fosforas)
Prebiotikai	α -laktalbuminas Laktoferinas Pieno glikanai MP riebalų globulių baltymai

1.3.1.3.1. Išrūgų baltymai

Didesniu kiekiu MP randami išrūgų baltymai yra α -laktalbuminas, laktoferinas, lizocimas, serumo albuminas, sekretinis imunoglobulinas A (sIgA), o kiti (hormonai, fermentai ir surišantys baltymai) sudaro tik nedidelę bendro MP baltymo dalį.

α -laktalbuminas sudaro apie 20–25 proc. visų MP baltymų. Jis sudarytas iš 123 disulfidiniai tilteliais sujungtų amino rūgščių [109]. Šis baltymas yra vienas svarbiausių nepakeičiamų aminorūgščių šaltinių. Patekęs į naujagimio žarnyną, α -laktalbuminas yra skaldomas palaipsniui: dalinės jo proteolizės metu susidarę biologiškai aktyvūs peptidai veikia plonajame žarnyne, vėliau yra suskaldomi iki aminorūgščių, kurios panaudojamos kaip maistinė medžiaga (2 pav.).

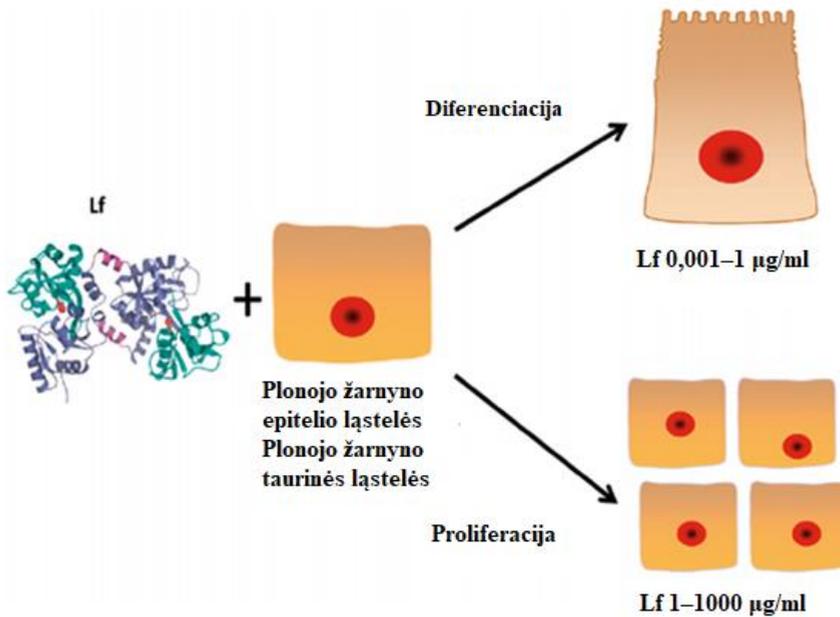


Trp – triptofanas, Lys – lizinas, Cys – cisteinas.

2 pav. Biologinės α -laktalbumino funkcijos [1].

Laktoferinas sudaro apie 15–20 proc. visų motinos pieno baltymų. Didžiausia laktoferino koncentracija būna priešpienyje (5,5 g/l), vėliau ji

laipsniškai mažėja (iki 1,5–3 g/l brandžiame motinos piene) [113]. Šis bioaktyvus baltymas pasižymi daugiafunkčėmis savybėmis: veikia bakteriostatiškai (stabdo bakterijų augimą, prijungdamas geležį, kuri reikalinga jų augimui), bakteriocidiškai, pasižymi priešvirusinėmis ir imunomoduliacinėmis savybėmis. Laktoferinas gali sunaikinti įvairius patogenus: kai kurias streptokokų rūšis, *Escherichia coli*, *Vibrio cholerae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans*. Šis MP baltymas pasižymi didele geba surišti geležį, todėl didžioji MP esanti geležies dalis yra surišta su laktoferinu. Naujagimio žarnyne, veikiant laktoferinui specifiniams receptoriams, užtikrinamas geležies pasisavinimas [114]. Laktoferinas taip pat veikia kaip augimo faktorius [1]. Laktoferinas gali skatinti žarnyno epitelio ląstelių diferenciaciją arba proliferaciją – tai priklauso nuo šio baltymo koncentracijos MP (3 pav.).



Lf – laktoferinas.

3 pav. Laktoferino įtaka plonojo žarnyno epitelio vystymuisi [49].

Lizocimo MP randama net 3 000 kartų daugiau nei karvės piene [1]. MP priešpienyje jo koncentracija sudaro 0,36 g/l, brandžiame MP – 0,3 g/l. Veikdamas sinergiškai su laktoferinu, lizocimas veikia baktericidiškai daugelį gramteigiamų ir kai kurias gramneigiamas bakterijas [109].

Pagrindinio žmogaus kraujo serumo baltymo, serumo albumino, randama ir MP. Jo koncentracija MP svyruoja nuo 0,2 iki 0,6 g/l ir sudaro

apie 1 proc. kraujo serumo albumino kiekio. Iki šiol nėra iki galo aišku, ar serumo albuminas į MP patenka iš motinos kraujo, ar sintetinamas krūties liaukose. Manoma, kad šis MP baltymas dalyvauja pernešant riebalų rūgštis, bilirubiną, triptofaną, hematiną, hormonus, kalcį, cinką, varį [115].

Sekrecinis imunoglobulinas A (sIgA) sudaro apie 90 proc. visų MP imunoglobulinų. Priešpienyje vidutinė jo koncentracija yra 2 g/l, o brandžiam MP sumažėja iki 0,5 g/l [116, 117]. Skirtingai nuo kitų MP imunoglobulinų (IgA, IgM, IgG), sIgA išlieka atsparus naujagimio žarnyno proteoliziniams fermentams. Prisijungdamas prie bakterijų ir virusų antigenų, sIgA neleidžia mikroorganizmams prisitvirtinti prie žarnyno gleivinės [1].

Svarbus MP sudėtyje esantis fermentas – tulžies druskų stimuliuojama lipazė – sudaro tik 1–2 proc. visų MP baltymų, tačiau yra labai svarbi (ypač neišnešiotiems naujagimiams dėl jų virškinimo trakto nebrandumo), nes hidrolizuoja ir padeda suvirškinti MP riebalus, vitamino A bei cholesterolio esterius, lizofosfolipidus [1]. MP esanti lipazė aktyvinama, kai, patekusi į naujagimio žarnyną, dvylikapirštėje žarnoje susimaišo su tulžies druskomis.

Kitas MP fermentas, amilazė, svarbus polisacharidų (krakmolo, glikogeno ir kt.) hidrolizei. Didžiausia MP amilazės koncentracija būna priešpienyje. Manoma, kad MP amilazė kompensuoja mažą naujagimių ir kūdikių seilių liaukų bei kasos amilazės aktyvumą ir gali palengvinti angliavandenių virškinimą vaiko mitybą papildant naujais maisto produktais [114].

1.3.1.3.2. Kazeinai

MP kazeinai sudaro 20–40 proc. bendrojo baltymo kiekio. MP kazeinai yra netirpūs ir piene randami įvairaus dydžio dalelių (micelių) pavidalu. MP yra trijų tipų kazeino: α -, β - ir κ -kazeino [118]. α -kazeinas yra pagrindinis karvės pieno baltymas, tačiau MP jo kiekis yra labai nedidelis (0,04–1,68 g/l). β -kazeinas sudaro didžiąją MP kazeinų dalį (koncentracija MP svyruoja nuo 0,04 iki 4,42 g/l), ir jis yra svarbus kalcio ir kai kurių mikroelementų absorbcijai. Virškinimo metu iš β -kazeino susidarantys opioidiniai peptidai (kazeinomorfina) gali susijungti su morfino receptoriais ir turėti įtakos miego ir būdravimo ciklui [1]. κ -kazeino koncentracija MP siekia 0,10–1,72 g/l. Nustatyta, kad jis inhibuoja kai kurių bakterijų (pvz., *Helicobacter pylori*) prikibimą prie žarnyno sienelių [119].

1.3.1.3.3. Riebalų globulių membranos baltymai

MP riebalų globulių membrana (angl. *MFGM milk fat globule membrane*) yra trisluoksnė sistema, gaubianti MP riebalų globules. Ji sudaryta iš cholesterolio, glicerolfosfolipidų, sfingolipidų ir baltymų: mucino-1, butirofilino, CD 36, adipofilino, laktadherino, ksantinoksidazės ir kt [112]. Šie baltymai sudaro tik 1–4 proc. MP baltymų, bet yra svarbūs, nes daugelis jų pasižymi antiinfekcinėmis, uždegimą slopinančiomis ir antioksidacinėmis savybėmis [120]. Pavyzdžiui, laktadherinas slopina rotavirusus naujagimio žarnyne [121]. Meksikoje atliktas tyrimas parodė, kad motinų, kurių MP sudėtyje buvo daugiau laktadherino, kūdikiams rečiau sirgo rotavirusine infekcija [122].

1.3.1.4. Mikroelementai ir vitaminai

Vidutinis vitaminų ir mikroelementų kiekis MP pateikiamas 3 lentelėje.

3 lentelė. Mikroelementų ir vitaminų kiekis normaliai besimaitinančių moterų piene (pagal R. A. Lawrence ir R. M. Lawrence [76])*.

MP sudedamoji dalis	Priešpienis (0–5 dienos)	Brandus pienas (> 30 dienų)
<i>Riebaluose tirpūs vitaminai</i>		
Vitaminas A (µg)	89	67
β-karotenas (µg)	112	23
Vitaminas D (µg)	–	0,05
Vitaminas E (µg)	1 280	315
Vitaminas K (µg)	0,23	0,21
<i>Vandenyje tirpūs vitaminai</i>		
Tiaminas (µg)	15	21
Riboflavinai (µg)	25	35
Niacinas (µg)	75	150
Folio rūgštis (µg)	–	8,5
Vitaminas B ₆ (µg)	12	93
Biotinas (µg)	0,1	0,6
Pantoteno rūgštis (µg)	183	180
Vitaminas B ₁₂ (ng)	200	26
Askorbo rūgštis (mg)	4,4	4,0
<i>Mineralinės medžiagos</i>		
Kalcis (mg)	23	28

Lentelės tęsinys.

Magnis (mg)	3,4	3,0
Natris (mg)	48	18
Kalis (mg)	74	58
Chloras (mg)	91	42
Fosforas (mg)	14	15
Siera (mg)	22	14
Mikroelementai		
Chromas (ng)	–	50
Kobaltas (µg)	–	1
Varis (µg)	46	25
Fluoras (µg)	–	16
Jodas (µg)	12	11
Geležis (µg)	45	40
Manganas (µg)	–	0,6
Nikelis (µg)	–	2,0
Selenas (µg)	–	2,0
Cinkas (µg)	540	120

* Nurodomas kiekis 100 ml motinos pieno.

Vitaminų ir mikroelementų kiekis MP priklauso nuo motinos mitybos, kūno sudėjimo, sveikatos būklės. Kai motinų mityba nėra gerai subalansuota, žindymo metu joms rekomenduojama vartoti vitaminų ir mikroelementų papildus [123, 124].

Vitamino K koncentracija MP yra maža ir ji nepriklauso nuo moters dietos, virkštelės kraujyje šio vitamino koncentracija taip pat būna maža dėl lėto jo perėjimo per placentą į vaisiaus organizmą, todėl hemoraginės naujagimių ligos prevencijai jiems po gimimo rekomenduojama profilaktiškai skirti vitamino K [125].

Vitamino D koncentracija MP taip pat nedidelė, todėl daugelyje pasaulio šalių naujagimiams ir kūdikiams rachito ir osteopenijos profilaktikai rekomenduojama skirti vitamino D preparatų [126].

Geležies MP yra palyginti nedaug (0,04–0,045 mg/l), tačiau jos pasisavinimas iš MP yra kur kas geresnis nei iš adaptuoto mišinio (atitinkamai 50 proc. ir 10 proc.) [127], todėl MP maitinamas naujagimis jos gauna pakankamai. Neišnešiotų ir mažo gimimo svorio naujagimių organizme geležies atsargos yra menkos, su MP gaunamos geležies jiems dažnai nepakanka [128], todėl anemijos profilaktikai ar gydymui jos reikia skirti papildomai [129, 130].

Vegetariškos ar veganiškos dietos besilaikančių motinų piene dažnai būna maža vitamino B₁₂ koncentracija, dėl to jų kūdikiai turi didesnę psichomotorinio vystymosi sulėtėjimo ir makrocitinės anemijos riziką. Tokių dietų besilaikančioms motinoms rekomenduojami vitamino B₁₂ papildai [131].

1.3.1.5. Nebaltyminis azotas

Nustatant bendrą baltymo koncentraciją MP, gaunamas rezultatas atspindi ne tik baltymų, bet ir nebaltyminių azoto turinčių medžiagų kiekį [132].

Nebaltyminės azoto turinčios medžiagos (šlapalas, šlapimo rūgštis, kreatininas, karnitinas, nukleotidai, peptidai ir kt.) sudaro apie 25 proc. viso MP esančio azoto [3]. Ši dar mažai ištirta MP dalis turi daug bioaktyvių komponentų. Pavyzdžiui, nukleotidai turi įtakos fermentų aktyvumui, pasižymi imuninėmis savybėmis, yra svarbūs virškinimo trakto brendimui bei vystymuisi, taip pat žarnyno mikrobiotos formavimuisi [3].

1.3.2. Citokinai ir augimo faktoriai

Citokinių (*IL-1 β* , *IL-6*, *IL-8*, *IL-10*, *TNF- α* , *IFN- γ* , *CSF*) kiekis MP yra nedidelis (koncentracija matuojama pikogramais), tačiau jie yra svarbūs reguliuojant uždegimo sukeltus ir imuninius procesus naujagimio organizme. Tai yra daugiafunkciai peptidai, kurie, perėję žarnyno barjerą, gali jungtis su specifiniais ląstelių receptoriais ir taip sužadinti imuninį organizmo atsaką [2]. Citokinai savo funkcijas atlieka veikdami per autokrininius ir parakrininius mechanizmus [133]. Pastarųjų metų tyrimai atskleidė citokinių ryšį su žarnyno mikrobiota [51]. *TGF- β* yra didžiausiu kiekiu MP randamas citokinas, kurio pagrindinės funkcijos yra dalyvavimas uždegimo procesuose, žaizdų gijimo skatinimas, taip pat apsauga nuo alerginių ligų [2].

MP taip pat randama augimo faktorių, kurių funkcijos iki šiol nėra iki galo aiškios. Manoma, kad jie turi įtakos daugelio organų sistemų (žarnyno, nervų, kraujodaros, kraujagyslių) brendimui ir funkcijoms. Augimo faktoriai yra atsparūs virškinimui ir iš žarnyno patenka į sisteminę kraujotaką, taip pasiekdami savo organus – taikinius. Įdomu, kad daugiau kai kurių augimo faktorių yra randama neišnešiotus naujagimius pagimdžiusių moterų piene [134]. MP randami augimo faktoriai ir jų atliekamos funkcijos apžvelgiami 4 lentelėje.

4 lentelė. Motinos piene randami augimo faktoriai ir jų atliekamos funkcijos [134].

Augimo faktorius	Funkcijos	MP randamas kiekis
Epiderminis augimo faktorius (<i>EGF</i>)	Žarnyno uždegimo procesų reguliavimas; žarnyno barjerinės funkcijos skatinimas; žarnyno epitelio apoptozės inhibicija	Priešpienyje daugiau nei brandžiam MP
Hepatocitų augimo faktorius (<i>HGF</i>)	Žarnyno brendimo, proliferacijos, angiogenezės skatinimas veikiant per parakrininius ir endokrininius mechanizmus	Priešpienyje daugiau nei brandžiam MP
Į insuliną panašus augimo faktorius (<i>IGF</i>)	Žarnyno brendimo skatinimas; žarnyno kriptų ląstelių stimuliacija ir apoptozės inhibicija	Priešpienyje daugiau nei brandžiam MP
Transformuojantis augimo faktorius (<i>TGF</i>)	Uždegimo procesų reguliavimas; gleivinių ir epitelio regeneracijos skatinimas; apsauga nuo NEK	Priešpienyje daugiau nei brandžiam MP
Fibroblastų augimo faktoriai (<i>FGF-6</i> , <i>FGF-7</i>)	Žarnyno brendimo skatinimas	Priešpienyje daugiau nei brandžiam MP
Granulocitų kolonijas stimuliuojantis faktorius (<i>G-CSF</i>)	Hematopoetinis augimo faktorius; žarnyno gleivinės apsauga; gleivinės atsikūrimo sergant NEK skatinimas	Priešpienyje daugiau nei brandžiam MP
Hepariną surišantis epiderminis augimo faktorius (<i>HB-EGF</i>)	Eritrocitų migracijos ir proliferacijos skatinimas; apsauga nuo NEK; žarnyno epitelio atsikūrimo po hipoksijos skatinimas	Priešpienyje daugiau nei brandžiam MP
<i>TGF-β1</i>	Žarnyno gleivinės apsauga	Kiekis atvirkščiai proporcingas GA ir gimimo svoriui
<i>TGF-β2</i>	Žarnyno brendimo skatinimas; makrofagų sukkelto uždegimo atsako slopinimas žarnyne;	Sumažėjęs kiekis priešpienyje esant IVAS ir maisto

Lentelės tęsinys.

	apsauga nuo uždegimo sąlygoto gleivinės pažeidimo	netoleravimui arba sergant NEK
Smegenų kilmės neurotrofinis faktorius (<i>BDNF</i>) ir neurotrofinas-3 (<i>NT-3</i>)	Neuronų augimo faktorius, dalyvaujantis sinaptogenezėje; enterinės nervų sistemos brendimo skatinimas	Didelis kiekis priešpienyje
Glijos ląstelių neurotrofinis faktorius (<i>GDNF</i>)	Žarnyno neuronų vystymosi skatinimas; dopaminerginių neuronų morfologinės diferenciacijos skatinimas	Didelis kiekis priešpienyje
<i>S100B</i>	Neurogenezės ir smegenų audinio regeneracijos skatinimas	Didelis kiekis priešpienyje
Trombocitų augimo faktorius	Angiogenozės ir audinių brendimo skatinimas	Didelis kiekis priešpienyje

MP – motinos pienas; NEK – nekrozinis enterokolitas; GA – gestacinis amžius; IVAS – intrauterinis vaisiaus augimo sulėtėjimas.

1.3.3. Motinos pieno ląstelės

MP randama įvairių rūšių ląstelių, kurių skaičius siekia nuo 10^4 iki 13×10^6 viename mililitre [135]. Didžiąją jų dalį sudaro epitelinės ląstelės, leukocitai, fagocitai ir laktocitai. Šių ląstelių kiekis MP yra individualus ir labai priklauso nuo laktacijos trukmės [136].

Daugiausia leukocitų randama priešpienyje, o brandžiam piene jų kiekis sudaro tik maždaug 2 proc. pradinio jų kiekio MP [117]. Manoma, kad MP leukocitai formuoja aktyvų naujagimio imunitetą ir galbūt saugo motinos krūties liaukas nuo infekcijos [137]. Tyrimai parodė, kad nepakitę MP leukocitai pereina naujagimio virškinimo traktą ir, patekę į kraujotaką, pasiekia limfmazgius, blužnį ir kepenis [137, 138]. Nustatyta, kad leukocitų kiekis MP padidėja pasireiškus motinos arba žindomo kūdikio infekcinei ligai [28, 139].

Iki šio nedaug žinoma apie neimunines MP ląsteles. Didžiąją jų dalį sudaro latakėlių (angl. *luminal cells*) ir mioepitelinės ląstelės [137]. Kiek daugiau nei prieš dešimt metų buvo atskleista, kad MP sudėtyje dar yra ir kamieninių ląstelių (angl. *BMSCs – breast milk – derived stem cells*) [140]. Atlikti tyrimai parodė, kad MP kamieninės ląstelės yra multipotentinės ir

gali diferencijuotis adipogenine, chondrogenine ir osteogenine linkme [33, 136, 141], taip pat į kepenų, kasos, nervines ląsteles ir į kardiomiocitus [135, 142, 143]. Manoma, kad MP kamieninės ląstelės turi įtakos kūdikio augimui ir vystymuisi. Šios ląstelės, su MP patekusios į vaiko organizmą, pereina žarnyno barjerą ir nukeliauja į smegenis, čiobrialaukę, kasą, kepenis bei kitus organus ir gali juose asimiliuotis, integruotis ir diferencijuotis [33]. Yra vilčių, kad ateityje kamienines MP ląsteles bus galima panaudoti regeneracinėje medicinoje pažeistiems audiniams atkurti [144].

1.3.4. Motinos pieno mikrobiota

Dar visai neseniai buvo manoma, kad MP yra sterilus. Tobulėjant diagnostikos galimybėms, paaiškėjo, kad MP randama apie 600 įvairių bakterijų rūšių, priklausančių 50 genčių, iš kurių dažniausiai pasitaikančios yra *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Serratia*, *Pseudomonas*, *Corynebacterium*, *Ralstonia*, *Propionibacterium*, *Sphingomonas* ir *Bradyrhizobiaceae* [145]. MP mikrobiotos sudėčiai svarbūs veiksniai – moters mityba, higieniniai įpročiai, nėštumo trukmė, gimdymo būdas, antibiotikų vartojimas ir kiti [146–148]. MP mikrobiotos sudėtis keičiasi priklausomai nuo laktacijos trukmės, ir galutinę savo sudėtį (kuri beveik nebesikeičia) pasiekia praėjus maždaug vienam mėnesiui po gimdymo [147].

Žindomas kūdikis su MP per dieną gauna 10^7 – 10^8 gyvų bakterijų [77]. Manoma, kad bakterijos į MP patenka dviem būdais: egzogeniniu (nuo odos, naujagimio burnos gleivinės) ir endogeniniu (iš motinos žarnyno padedant dendritinėms ląstelėms ir makrofagams) [149, 150]. Pastarųjų metų tyrimai atskleidė, kad MP mikrobiota, padedama įvairių mechanizmų, atlieka apsauginį antiinfekcinį vaidmenį: naujagimių žarnyne konkuruoja su patogeniniais mikroorganizmais, gamina antimikrobines medžiagas ir stiprina žarnyno barjerinę funkciją skatindama gleivių gamybą. MP mikrobiota dalyvauja maistinių medžiagų virškinimo procese, taip pat yra svarbi naujagimio žarnyno mikrobiotos ir imuniteto formavimuisi [33, 149].

1.4. Motinos pieno sudėties praturtinimas

1.4.1. Kam reikalingas motinos pieno praturtinimas

Nustatyta, kad net ir nuosavos motinos pienas neužtikrina viso maistinių medžiagų poreikio mažo gimimo svorio naujagimiams. Specifinių maistinių medžiagų trūkumas ir nepakankamas neišnešiotų naujagimių svorio augimas

pirmais gyvenimo mėnesiais susijęs su nepalankiomis atokiosiomis jų sveikatos ir vystymosi išeitimis: didėja psichomotorinės raidos atsilikimo, neišnešiotų kūdikių retinopatijos, osteopenijos, bronchopulmoninės displazijos ir kitų ligų rizika [38, 46, 151–154]. Siekiant išvengti šių problemų, mažesnio nei 1 800 g gimimo svorio naujagimiams skiriamas MP turi būti praturtintas specialiais maistinių medžiagų papildais [38].

1.4.2. Motinos pieno papildų rūšys

Šiuo metu MP praturtinti naudojami įvairių rūšių papildai, kurie gali būti pagaminti iš karvės, moters arba asilų patelių pieno. Pagal maistinių medžiagų sudėtį jie gali būti skirstomi į daugiakomponenčius ir vienos maistinės medžiagos (pvz., baltymų, riebalų, angliavandenių) papildus.

Daugiakomponenčių MP papildų sudėtyje yra baltymų, mineralinių medžiagų, mikroelementų, vitaminų ir elektrolitų. Daugumos šių papildų sudėtyje yra karvės pieno baltymų, ir tik neseniai MP papildų gamybai pradėtas naudoti asilo patelės pienas, kurio sudėtis yra artimesnė MP [155]. Yra ir iš MP gaminamų papildų, tačiau šie produktai yra labai brangūs, jų gamybai sunaudojama daug MP, be to, iki šiol atlikti palyginamieji tyrimai iki galo neįrodė jų pranašumo prieš karvės pieno pagrindu pagamintus papildus [156, 157]. Taip pat kyla etinių klausimų dėl MP komercinio naudojimo šių papildų gamybai.

Vienos maistinės medžiagos papildai dažniausiai naudojami individualizuotam MP praturtinimui. Angliavandenių papildai dažniausiai būna sudaryti iš maltodekstrino, riebalų – iš vidutinės grandies trigliceridų, baltymų papildai gali būti sudaryti iš įvairiu laipsniu hidrolizuotų baltymų [38].

1.4.3. Motinos pieno praturtinimo būdai

Skiriami šie MP praturtinimo būdai:

1. Standartinis MP praturtinimas (angl. *standard fortification*).
2. Individualizuotas MP praturtinimas (angl. *individualized fortification*):
 - a. pritaikytas MP praturtinimas (angl. *adjustable fortification*);
 - b. tikslinis MP praturtinimas (angl. *targeted fortification*).

Šių metodų palyginimas pateikiamas 5 lentelėje.

5 lentelė. Motinos pieno praturtinimo būdai [38].

MP praturtinimo būdas	Principas	Pranašumai ir trūkumai
1. Standartinis MP praturtinimas	Dažniausiai naudojamas MP praturtinimo būdas. Gamintojo rekomenduojamas MPP kiekis skirtas tam tikram MP tūriui.	Patogus naudoti praktikoje. Dažnai neišsprendžia baltymų trūkumo LMGS naujagimiams – hospitalizacijos metu dažnai matyti, kad jų svoris auga nepakankamai.
2. Individualizuotas MP praturtinimas		
2.1. Pritaikytas MP praturtinimas	2 k./sav. matuojamas kraujo šlapalo azoto (angl. <i>BUN</i> – <i>blood urea nitrogen</i>) kiekis kraujyje. <i>BUN</i> yra baltymų metabolizmo produktas (norma 10–16 mg/dl*). Jei <i>BUN</i> < 10 mg/dl, taikant standartinį MP praturtinimą, papildomai skiriamas baltyminis papildas.	Praktiškas, nereikalauja daug darbo ir brangios įrangos. Stebimas naujagimio individualus baltymų pasisavinimas, o tai padeda išvengti tiek nepakankamo, tiek perteklinio baltymų skyrimo. Klinikiniais tyrimais patvirtintas geresnis LMGS naujagimių svorio augimas.
2.2. Tikslinis MP praturtinimas	Matuojamas maistinių medžiagų kiekis MP ir, atsižvelgiant į gautus rezultatus, skiriamas MP praturtinimas daugiakomponenčiais ir (ar)	Galima papildyti skirtingomis maistinėmis medžiagomis. Reikalingas MP analizatorius, dažnas tyrimų atlikimas. Papildai skiriami pagal

Lentelės tęsinys.

	vienkomponenčiais papildais.	visuotinai priimtas normas, neatsižvelgiant į individualius naujagimio medžiagų apykaitos ypatumus.
--	------------------------------	---

MP – motinos pienas; MPP – MP papildas; NN – neišnešiotas naujagimis; **BUN* kiekis 10–16 mg/dl kraujyje atitinka 21,40–34,24 mg/dl (3,57–5,71 mmol/l) kraujo šlapalo koncentracijas.

Įvertinusi kiekvieno metodo pranašumus ir trūkumus, EMBA rekomenduoja naudoti individualizuotą (pritaiktą arba tikslinį) MP praturtinimą [38].

1.5. Motinos pieno sudėčiai įtakos turintys veiksniai

1.5.1. Laktacijos trukmė

MP sudėtis nėra pastovi – ji keičiasi nuo pat pirmųjų dienų po gimdymo. Šitai motinos organizmas tarsi „prisitaiko“ prie augančio vaiko poreikių.

Galima išskirti tris pagrindinius moters laktacijos laikotarpius, kuriems būdingi didesni MP sudėties skirtumai: 1) priešpienio (0–5 dienos po gimdymo); 2) pereinamojo pieno (6–15 dienų po gimdymo); 3) brandaus pieno (nuo 16 dienos po gimdymo). Šie laikotarpiai yra tik sąlyginiai, nes MP sudėtis keičiasi palaipsniui [76]. Kai kurių autorių teigimu, MP tampa visiškai brandus tik praėjus 4–6 savaitėms po gimdymo, ir vėliau jo sudėties pokyčiai būna ne tokie dideli kaip pirmąjį laktacijos mėnesį [2].

Priešpienio gaminasi nedidelis kiekis pirmosiomis dienomis po gimdymo (apie 2–20 ml vieno maitinimo metu). Jame yra gausu išrūgų baltymų (kurių sudėtyje yra daug bioaktyvių ir imuninių komponentų, augimo faktorių), leukocitų, mikroelementų, riebaluose tirpių vitaminų, oligosacharidų ir santykinai mažesnis riebalų bei laktozės kiekis. Taigi pagrindinė priešpienio funkcija yra apsauginė, o ne mitybinė. Be to, jis labai svarbus normalios naujagimio žarnyno mikrobiotos formavimuisi, sudaro palankias sąlygas *Lactobacillus bifidus* įsitvirtinimui virškinimo trakte. [76].

Antra laktogenezės stadija (pereinamojo MP) sutampa su padidėjusios MP sekrecijos laikotarpiu, tačiau pienas vis dar turi panašumų į priešpienį. Brandaus MP sudėtis labai skiriasi nuo priešpienio ir yra santykinai stabili,

t. y. jos pokyčiai yra ne tokie dideli kaip pirmomis savaitėmis po gimdymo [2].

Įvairių MP komponentų sudėtis keičiasi skirtingai – priklauso nuo žindymo laikotarpio trukmės. Pavyzdžiui, po gimdymo būna laipsniškas baltymų kiekio mažėjimas, kuris yra spartesnis pirmomis laktacijos savaitėmis [15, 16, 110, 158]. Keičiasi ne tik bendras baltymo kiekis, bet ir išrūgų baltymų bei kazeinų santykis: priešpienyje jis yra maždaug 90:10, pereinamajame MP – 65:35, o brandžiame MP – 60:40 [110]. Dėl riebalų koncentracijos pokyčių po gimdymo mokslininkų nuomonė išsiskiria – vieni teigia, kad jų kiekis priešpienyje ir pereinamajame MP būna mažesnis nei brandžiame MP [16, 159, 160], o kiti nenurodo reikšmingų koncentracijos pokyčių [161]. Brandžiame MP randama daugiau polinesočiųjų (linolio, linoleno) ir sočiųjų riebalų rūgščių, bet mažiau mononesočiųjų riebalų rūgščių nei priešpienyje [76]. MP atskirų sudėtinių angliavandenių pokyčiai yra nevienodi: lyginant priešpienį su brandžiu MP, oligosacharidų kiekis sumažėja, o laktozės – priešingai, padidėja [79, 159]. Po gimdymo riebaluose tirpių vitaminų kiekis palaipsniui mažėja, o vandenyje tirpių – priešingai, didėja [76]. Priklausomai nuo laktacijos trukmės, keičiasi ir MP mineralinių medžiagų sudėtis [15, 160, 162]. Įdomu, kad antraisiais metais po gimdymo MP vėl padidėja bendrojo ir kai kurių bioaktyvių baltymų (laktoferino, lizocimo, IgA) koncentracija, taip pat oligosacharidų ir natrio kiekis [163].

Mokslinėje literatūroje pateikiami duomenys apie MP maistinių medžiagų pokyčius po gimdymo gali būti nevienodi dėl skirtingų MP sudėties analizės metodų, tiriamųjų motinų tautybės, mitybos, gyvenimo būdo, genetinių ir kitų veiksnių. Todėl labai svarbu turėti ne tik pasaulinius, bet ir savo šalies duomenis apie MP sudėtį.

1.5.2. Nėštumo trukmė

Mokslas nepateikia vienodos nuomonės, ar prieš laiką ir laiku pagimdžiusių moterų pieno sudėtis skiriasi.

D. A. Gidrewicz ir *T. R. Fenton* metaanalizės rezultatai atskleidė, kad neišnešiotų naujagimių motinų piene yra daugiau baltymo ir mažesnė laktozės koncentracija, o šie skirtumai yra labiausiai išreikšti pirmuosius du mėnesius po gimdymo [15]. *J. Maly* su bendraautoriais – priešingai, nerado reikšmingų pagrindinių maistinių medžiagų koncentracijos pokyčių skirtingo gestacinio amžiaus naujagimius maitinančių motinų piene [161]. *S. Sahin* su bendraautoriais nenustatė baltymų koncentracijos skirtumo išnešiotų ir neišnešiotų naujagimių motinų piene pirmąjį mėnesį po gimdymo, bet rado

didesnę riebalų ir angliavandenių koncentraciją išnešiotų naujagimių motinų piene ketvirtą savaitę po gimdymo [164].

Prieš laiką pagimdžiusių motinų piene buvo rasta daugiau oligosacharidų, biologiškai aktyvių baltymų, taip pat nustatyta mažesnė laktozės koncentracija, palyginti su išnešiotų naujagimių motinų pienu [15, 165, 166]. Spėjama, kad šie skirtumai yra neatsitiktiniai ir galbūt atspindi tam tikrą motinos prisitaikymą prie specifinių savo naujagimio poreikių. MP baltymai atlieka mitybos funkciją, svarbūs neišnešiotu naujagimio svorio augimui, be to, atlieka apsauginę ir daugelį kitų anksčiau aprašytų funkcijų. MP oligosacharidai yra ypač svarbūs normalios naujagimio žarnyno mikrobiotos bei imuniteto formavimuisi ir apsaugai nuo infekcinių ligų. Mažesnė laktozės koncentracija sąlygoja mažesnę MP osmoliariškumą ir kartu – lengvesnį jo virškinimą nebrandžiame neišnešiotu naujagimio žarnyne [165].

C. J. Fischer Fumeaux su bendraautoriais nustatė, kad pirmosiomis savaitėmis po gimdymo riebalų koncentracija ir kaloringumas buvo didesnė neišnešiotų naujagimių motinų piene, tačiau nuo trečios iki aštuntos savaitės po gimdymo riebalų koncentracija ir kaloringumas buvo didesni išnešiotų naujagimių motinų piene [167]. Aprašomi ir riebalų rūgščių sudėties skirtumai neišnešiotų ir išnešiotų naujagimių motinų piene – prieš laiką pagimdžiusių motinų piene randama daugiau vidutinės grandies ir kai kurių kitų riebalų rūgščių, palyginti su išnešiotų naujagimių motinų pienu [76, 168].

Taigi mokslininkai nesutaria, ar nėštumo trukmė turi įtakos MP sudėčiai, todėl reikia tolesnių tyrimų, kurie atskleistų skirtingo gestacinio amžiaus naujagimių motinų pieno panašumus ir skirtumus.

1.5.3. Cirkadinis ritmas

Iki šiol nėra visiškai aišku, kaip MP sudėtis kinta per parą.

Dauguma iki šiol atliktų tyrimų atskleidė MP riebalų cirkadinius pokyčius, dažniausiai nurodoma didžiausia jų koncentracija popietinėmis paros valandomis [18, 169–172].

Apie kitų maistinių medžiagų cirkadinius pokyčius duomenų yra mažiau. Reikšmingus MP baltymų koncentracijos cirkadinius svyravimus aprašė *C. L. Sánchez López* su bendraautoriais [173] – didžiausia baltymo koncentracija buvo nakties metu (20 val.–8 val.) paimtuose MP mėginiuose. Kiti tyrėjai nerado reikšmingų cirkadinių MP baltymų koncentracijos pokyčių [18, 169, 174].

Mažiausiai diskusijų kyla dėl angliavandenių koncentracijos svyravimų – nėra nustatyta, kad ji kistų per parą [18, 95, 175].

A. K. *Çetinkaya* su bendraautoriais nenustatė jokių cirkadinių MP maistinių medžiagų pokyčių [175]. Autoriai spėja, kad tokie rezultatai galėjo būti gauti dėl etninių skirtumų, motinos mitybos būklės, pasirinktų analizės metodų.

Yra duomenų, kad cirkadinių MP maistinių medžiagų svyravimų pobūdis keičiasi – priklauso nuo laktacijos laikotarpio [173, 176]. Manoma, kad cirkadiniai MP sudėties pokyčiai gali būti susiję su motinos organizmo hormoniniais pokyčiais, mitybos įpročiais, žindymo dažniu. Šiuo metu iki galo nėra aišku, ar nustatomi cirkadiniai MP sudėties pokyčiai turi kokią nors klinikinę reikšmę naujagimiui ir kūdikiui [172].

Kai kurių hormonų (kortizolio [177, 178], melatonino [179]), vitaminų [180], geležies [181], nukleotidų [182] sudėtis MP taip pat kinta per parą. Įdomu, kad hormonų koncentracijos cirkadinių svyravimų pobūdis skiriasi išnešiotus ir neišnešiotus naujagimius pagimdžiusių motinų piene [178, 179]. Tačiau mokslinė literatūra nepateikia duomenų, ar skiriasi prieš laiką ir laiku pagimdžiusių motinų pieno maistinių medžiagų koncentracijos svyravimai per parą.

1.5.4. Motinos pieno ištraukimas, laikymas, šaldymas, pasterizacija.

Donorinis motinos pienas

Donorinis MP yra antrojo pasirinkimo maistas neišnešiotiems ir sergantiems naujagimiams, kai trūksta nuosavos motinos pieno [8, 40, 60]. Kritiniais laktacijos laikotarpiais donorinis MP gali tapti tam tikru „tiltu“ į tolesnį sėkmingą kūdikio žindymą. Pirmosiomis gyvenimo savaitėmis neišnešiotu naujagimio žarnynas yra ypač nebrandus, ir, jei maitinimui yra skiriamas adaptuotas karvės pieno mišinys, padidėja maisto netoleravimo, įvairių virškinimo trakto funkcinių strikimų, NEK, alerginių ligų rizika. Nors donorinis MP ir neprilygsta nuosavos motinos pienui, jis yra geresnė maisto alternatyva neišnešiotiems naujagimiams [40, 183, 184].

Donorinis MP turi būti gaunamas tik iš donorinių MP bankų, kur yra laikomasi griežtos donorių patikrinimo, atrankos bei donorinio pieno paruošimo tvarkos [40, 183].

Šiuo metu Holderio pasterizacija yra dažniausiai taikomas pieno paruošimo metodas donorinio MP banke [185]. Šio proceso metu MP kaitinamas 62,5 °C temperatūroje 30 min., paskui greitai atšaldomas iki 4 °C temperatūros. Siekiant užtikrinti mikrobiologinį donorinio MP saugumą ir

kartu išsaugoti kuo didesnę biologinę jo vertę, pasterizacijos procesas turi būti griežtai kontroliuojamas ir prižiūrimas [183, 185]. Atliktų tyrimų duomenys parodė, kad Holderio pasterizacija pakeičia MP sudėtį, tačiau aprašomas poveikis įvairiems MP komponentams yra skirtingas, o kartais net prieštaringas. Šio proceso metu gali būti netenkama didelės dalies biologiškai aktyvių baltymų (20–30 proc. IgA ir sIgA, 50–75 proc. laktoferino, 24–74 proc. lizocimo, 34–76 proc. Ig G, dalies citokinų, augimo faktorių, hormonų, antioksidacinių faktorių, IgM), baltųjų kraujo kūnelių. beveik visiškai suardoma MP lipazė [40, 186], taip pat sunaikinamos ne tik patogeninės bakterijos, bet ir visa MP mikrobiota [187]. Kita vertus, pasterizuotas donorinis MP išsaugo daugelį šviežio MP savybių, nes Holderio pasterizacija nedaro didelės įtakos pagrindinių maistingųjų medžiagų, oligosacharidų, riebalų rūgščių, gangliozidų, kai kurių vitaminų ir kitų MP komponentų sudėčiai [40, 188]. Holderio pasterizacijos poveikis MP sudėčiai apibendrinamas 6 lentelėje, iš kurios matyti, jog dėl daugelio MP sudedamųjų dalių koncentracijų pokyčio dydžio abejojama ir reikia tolesnių tyrimų.

6 lentelė. Holderio pasterizacijos įtaka motinos pieno sudėčiai [189].

MP komponentas	→	↑	↓	∅
Baltymai				
Bendras baltymas	x	–	–	–
Lizinas	–	–	x ^a	–
Cistinas, taurinas, metioninas	x	–	–	–
Argininas, leucinas, glutaminas	–	x	–	–
Aspartatas	–	–	x	–
Bioaktyvūs peptidai	x	–	–	–
Amilazė	–	–	x	–
Lipazė, LPL, šarminė fosfatazė	–	–	–	x
Imunoglobulinai (IgA, sIgA, IgG, IgM)	–	–	x	–
Laktoferinas	–	–	x ^a	–
Lizocimas ir lizocimo aktyvumas	–	–	x ^a	–
Riebalai				
Bendras riebalų kiekis	x	–	–	–
Laisvosios riebalų rūgštys	–	x	–	–
Kitos riebalų rūgštys	x	–	–	–
Angliavandeniai				
Gliukozė	x ^a	–	–	–

Lentelės tęsinys.

Laktozė, oligosacharidai, GAG	x	–	–	–
Vitaminai				
E, B ₂ , B ₃ , B ₅ , B ₁₂ , biotinas	x	–	–	–
C, D, B ₆	–	–	x	–
A, C, α-, γ-, δ-tokoferoliai	–	–	x ^a	–
Cinkas, varis, geležis	x	–	–	–
Augimo faktoriai				
<i>EGF, TGF-β1, TGF-β2, MCP-1</i>	x	–	–	–
<i>GM-CSF</i>	–	x	–	–
<i>EPO, HB-EGF, IGF-1, IGF-BP</i>	–	–	x ^a	–
Hormonai				
Leptinas	x	–	–	–
Insulinas, adiponektinas	–	–	x	–
Citokinai				
IL-2, -4, -5, -12, -13, -17	x	–	–	–
IL-8, -7	–	x ^a	–	–
IL-1β, -6, -10, <i>TNF-α, IFN-γ</i>	–	–	x ^a	–
Oksidacinio streso markeriai				
Malondialdehidai	x	–	–	–
Glutacionas, GPA, bendras antioksidantų kiekis	–	–	x	–
Baktericidinis aktyvumas	–	x	–	–
Ląstelės				
Limfocitai	–	–	x	–
Makrofagai	–	x	–	–
Elektrolitai ir mineralinės medžiagos	x	–	–	–
Osmoliariškumas	x	–	–	–

Sutrumpinimai: → – poveikio nėra arba jis nedidelis; ↑ – padidėjimas; ↓ – sumažėjimas; Ø – destrukcija; sIgA – sekretinis imunoglobulinas A; GAG – glikozaminoglikanai; GPA – glutationperoksidazės aktyvumas, LPL – lipoproteininė lipazė; *TNF* – auglio nekrozės faktorius; ^a – abejotini rezultatai, reikia detalesnių tyrimų.

Pastaruoju metu ieškoma ir naujų MP apdorojimo metodų, iš kurių daugiausia ištyrinėti yra trumpa pasterizacija aukštoje temperatūroje (72 °C, 15 s; angl. *HTST* – *high temperature short time pasteurisation*), apdorojimas dideliu slėgiu (400–800 MPa, < 5–10 min; angl. *HPP* – *high pressure processing*), ultravioletinė – C spinduliuotė (200–280 nm ilgio bangos) [185, 187]. Deja, dėl įvairių trūkumų (pvz., daug vietos užimanti įranga,

didelė eksploatacijos kaina, galimybė paruošti tik nedidelį MP kiekį ir kt.) jie kol kas dar nėra plačiai naudojami klinikinėje praktikoje.

Įvairios kitos procedūros, atliekamos su MP, taip pat gali turėti įtakos jo sudėties pokyčiams, sumažinti pieno maistinę ir biologinę vertę [187]. Vertingiausias MP yra tas, kurį naujagimis gauna iš mamos tiesiogiai, t. y. žįsdamas krūtį. MP sudėčiai įtakos gali turėti jo ištraukimo būdas [190], laikymo temperatūra ir trukmė [191–193], užšaldymo ir atitirpinimo ciklai [194], naujagimio maitinimo būdas [32]. Mokslininkų pateikiami duomenys apie kiekvieno iš šių veiksnių įtaką MP sudėčiai yra labai skirtingi, o kartais – net prieštaringi. Šiuos nesutapimus galima būtų paaiškinti nevienoda atliktų tyrimų metodika. Imant mėginius maistinių medžiagų analizei, rekomenduojama pieną ištraukti ne rankomis, o elektriniu arba mechaniniu pientraukiu, vengti pieno mėginių perpylimo į skirtingas indus, prieš tyrimą reikia gerai sumaišyti skirtingu paros metu surinkto MP porcijas [195]. Įvairi MP šaldymo temperatūra ir laikymo trukmė iki jo skyrimo naujagimiui maitinti taip pat gali turėti įtakos MP sudėčiai [192, 196].

Apibendrinant mokslinės literatūros duomenis – iki šiol nėra tiksliai žinoma, kaip donoriniame MP banke atliekamos procedūros paveikia MP komponentų sudėtį, todėl tęsiami tyrimai, suteikiantys žinių apie tinkamiausius MP laikymo ir paruošimo vartojimui metodus.

1.5.5. Kiti motinos pieno sudėčiai įtakos turintys veiksniai

MP sudėčiai svarbūs genetiniai veiksniai, jais galima paaiškinti individualius MP sudėties skirtumus. Pavyzdžiui, MP esančių oligosacharidų struktūra ir įvairovė priklauso nuo specifinių genų, koduojančių fermentus fukoziltransferazes, aktyvumo [3]. Kito fermento, riebalų rūgščių desaturazės, genetiniai variantai nulemia MP riebalų rūgščių sudėtį [24, 197].

Moters mityba beveik neturi įtakos pagrindinių maistinių medžiagų kiekiui, tačiau yra reikšminga riebalų rūgščių sudėčiai, kai kurių vitaminų (C, B₂, B₃, B₁₂, A, D, E), mineralinių medžiagų ir mikroelementų (kalcio, seleno, jodo, fluoro) koncentracijai MP [24, 39, 97, 198]. Pavyzdžiui, motinų, kurių dietoje gausu žuvies ir jūros gėrybių produktų, piene randamas didesnis dokozaheksaeno riebalų rūgšties (DHR) kiekis, o vegetarių piene yra daug linolio riebalų rūgšties. Vitaminas B₁₂ daugiausia gaunamas iš gyvūninės kilmės produktų, todėl motinų vegetarių piene jo koncentracija dažnai būna maža. Geležies, fosforo, magnio, cinko, vario, chromo koncentracija MP nėra tiesiogiai susijusi su moters mityba [76].

Naujagimio lytis taip pat galbūt turi įtakos MP sudėčiai. *M. Hosseini* su

bendraautorais nustatė, kad moterų, pagimdžiusių mergaites, pieno sudėtyje yra daugiau riebalų [199], kiti autoriai nustatė didesnes laisvųjų aminorūgščių koncentracijas berniukus pagimdžiusių moterų piene [200]. Kenijoje atliktas tyrimas atskleidė, kad MP sudėtis priklauso ne tik nuo naujagimio lyties, bet ir nuo ekosocialinės padėties: labiau pasiturinčių berniukus maitinančių motinų piene buvo randama daugiau riebalų, o vargingiau gyvenančių – priešingai, daugiau riebalų rasta mergaites maitinančių motinų piene [201].

MP sudėtis gali priklausyti nuo pasigaminančio jo kiekio. Nustatyta, kad MP baltymų koncentracija yra atvirkščiai proporcinga jo kiekiui, o laktozės koncentracija tiesiogiai koreliuoja su MP kiekiu [202, 203].

Įtakos MP sudėčiai gali turėti ir motinos amžius [204], sveikatos būklė, KMI, rūkymas, buvusių gimdymų skaičius, gimdymo būdas, [205, 206], naujagimio maitinimo būdas [207], sociodemografiniai veiksniai [24]. MP sudėtis taip pat iš dalies priklauso nuo regiono ir sezoniškumo. Šie veiksniai gali nulemti moterų mitybos ir žindymo įpročius, genetinius ypatumus, gaunamą saulės šviesos kiekį ir netiesiogiai turėti įtakos MP sudėčiai [24, 208].

Reikia detalesnių tyrimų, atskleidžiančių įvairių veiksnių įtaką MP sudėčiai.

1.6. Motinos pieno sudėties tyrimo metodai

Žinios apie MP sudėtį ypač svarbios maitinant sergančius, mažo gimimo svorio ir neišnešiotus naujagimius, kuriems hospitalizacijos laikotarpiu dažnai nustatomas nepakankamas svorio prieaugis. Žinodami nuo įvairių veiksnių priklausančius MP sudėties ypatumus, neišnešiotiems naujagimiams galime tikslingai skirti MP papildus, parinkti tinkamiausią mitybos režimą, garantuojantį optimalų naujagimio augimą ir vystymąsi. Taigi MP sudėties tyrimai ne tik leidžia atskleisti jo sudėties pokyčių dėsningumus, bet ir yra mokslo įrodymais pagrįstos individualizuoto sergančių ir neišnešiotų naujagimių maitinimo programos pagrindas. MP yra auksinis naujagimių ir kūdikių mitybos standartas, todėl MP sudėties tyrimais yra paremtos naujagimių mitybos rekomendacijos, jiems skirtų MP pakaitalų – adaptuotų mišinių ir MP papildų sudėties formulės. Šiuolaikinių adaptuotų pieno mišinių formulės kuriamos taip, kad kuo labiau atkartotų MP sudėtį.

Yra įvairių, tiesioginių ir netiesioginių, MP maistinių medžiagų nustatymo būdų. Tiesioginiai maistinių medžiagų nustatymo būdai dažnai yra sudėtingi ir užima nemaža laiko, todėl daugiau taikomi moksliniais

tikslais. Klinikinėje praktikoje dažniausiai pasitelkiami nesudėtingi, pigesni, nereikalaujantys daug specifinių žinių, bet kartu ir pakankamai tikslūs MP sudėties tyrimo metodai. Toliau detaliau aprašomi įvairūs MP sudėties tyrimo metodai.

1.6.1. Baltymų nustatymas

MP baltymai gali būti nustatomi keliais būdais, kurių kiekvienu gauti rezultatai yra šiek tiek skirtingi. Tiksliausias tiesioginis MP baltymų nustatymo būdas yra aminorūgščių analizė. Šis metodas gali būti laikomas standartiniu tyrimu, tačiau yra brangus ir reikalauja daug laiko, todėl taikomas retai. Kjeldalio metodas yra kitas klasikinis, bet netiesioginis MP baltymų nustatymo būdas. Šis metodas paremtas MP bendrojo azoto kiekiu, kuris vėliau perskaičiuojamas į bendrojo baltymo kiekį, nustatymu [209, 210]. Bendras MP baltymo kiekis taip pat gali būti apskaičiuojamas atliekant netiesioginius kalorimetrinius tyrimus, remiantis baltymų funkcinėmis grupėmis (Biureto, bicinchoninės rūgšties, *Lowry* ir kiti metodai) [211], tačiau taikant šiuos metodus baltymų kiekis gali būti pervertintas net iki 25–40 proc. Netiesioginių metodų tikslumas priklauso nuo pasirinktos technikos, kalibravimo, standartų laikymosi.

1.6.2. Riebalų nustatymas

MP riebalams nustatyti taikomi įvairūs, dažniausiai – ekstrakcijos metodai (t. y. mėginio ekstrahavimas įvairiais organiniais tirpikliais), lydimi gravimetrijos. Šia metodika paremti pamatiniai riebalų nustatymo metodai (*Folcho* metodas, *Röse-Gottliebo* metodas ir jų modifikacijos) [209]. Kitas paprastas ir greitas metodas MP riebalams nustatyti yra krematokrito metodas. Jis yra gana dažnai taikomas, bet nėra tinkamas kuriant duomenų bazes dėl nepakankamo tikslumo ir subjektyvumo vertinant matavimų duomenis [210, 212]. Kiti metodai – turbidimetrija, kalorimetrija, densinometrija – dėl jiems būdingų trūkumų šiuo metu nėra dažnai taikomi [213–215].

1.6.3. Angliavandenių nustatymas

Fermentinė laktozės hidrolizė yra vienas iš dažniausiai naudojamų būdų MP laktozės koncentracijai nustatyti. Šio tyrimo metu laktozė pirmiausia yra hidrolizuojama iki gliukozės ir galaktozės, paskui gautų monosacharidų

koncentracija nustatoma kalorimetrijos būdu [216]. Visgi chromatografijos principu paremti metodai (didelio efektyvumo skysčių chromatografija, angl. *HPLC, high-performance liquid chromatography*, ir skysčių chromatografija – masės spektrometrija, angl. *LC-MS, liquid chromatography – mass spectrometry*) yra pranašesni už fermentinius metodus dėl tyrimui reikalingo kur kas mažesnio MP kiekio ir tiesioginių mono- ir disacharidų nustatymo būdų.

1.6.4. Energinės vertės apskaičiavimas

MP energinė vertė gali būti tiesiogiai pamatuota kalorimetrijos būdu arba apskaičiuota pagal esamą baltymų, riebalų ir angliavandenių kiekį pritaikius energijos perskaičiavimo koeficientus (4 kcal/g baltymams, 9 kcal/g riebalams ir 4 kcal/g angliavandeniams). Bendrąjį energijos konversijos faktorių pirmą kartą pasiūlė *W. O. Atwater* [217], o kiek vėliau buvo sukurta išplėstinė konversijos faktorių sistema skirtingiems maisto produktams. Šie modifikuoti konversijos faktoriai pranašesni, nes yra produktui specifiški. Tačiau MP energinei vertei apskaičiuoti gali būti naudojami net keli modifikuoti faktoriai, ir iki šiol nėra vienodos nuomonės, kurį iš jų geriausia naudoti [209].

1.6.5. Mineralinių medžiagų nustatymas

Atliekant mineralų, elektrolitų ir mikroelementų analizę MP, svarbu tinkamai paruošti mėginių indus, kad būtų išvengta užterštumo. Senuosius šių medžiagų nustatymo metodus (kalorimetriją, titrimetriją, elektrodų metodą) maždaug nuo 1980 m. pakeitė atominės absorbcijos spektrometrija (AAS) ir atominės emisijos spektrometrija (AES) [218].

1.6.6. Infraraudonųjų spindulių spektrofotometrija

Alternatyva klasikiniams cheminiams MP maistinių medžiagų tyrimams yra netiesioginiai metodai, leidžiantys MP sudėtį įvertinti greitai ir nesudėtingai, prieš pat skiriant jį naujagimio maitinimui. Pastaruoju metu klinikinėje praktikoje ir donoriniuose MP bankuose dažnai naudojami kompaktiški infraraudonųjų spindulių analizatoriai – artimosios srities infraraudonųjų spindulių MP analizatorius (angl. *Near-IR milk analyser*, spindulių spektras 1200–2400 nm) ir vidurinės srities infraraudonųjų spindulių MP analizatorius (angl. *mid-IR analyser*, spindulių spektras 3500–

9600 nm). Šie prietaisai skirti MP maistinių medžiagų (baltymų, riebalų, angliavandenių) koncentracijai nustatyti netiesioginiu būdu, energinei vertei ir sausajai medžiagai apskaičiuoti. Pagrindiniai šių prietaisų pranašumai – tyrimui reikalingas nedidelis MP kiekis (3–5 ml), nesudėtingas ir greitas rezultatų gavimas. Palyginti su klasikiniais cheminiais maistinių medžiagų nustatymo metodais, infraraudonųjų spindulių analizatoriai pateikia gana tikslius rezultatus ir gali būti naudojami vertinant MP maistinių medžiagų sudėtį [219, 220].

Prieš atliekant MP tyrimus infraraudonųjų spindulių spektrofotometrijos būdu, būtina MP mėginių homogenizacija. Jos metu sumažinamas MP riebalų globulių dydžio skirtumas, dėl to gaunamas didesnis tyrimo tikslumas (išvengiama didesnių MP riebalų globulių sukkelto šviesos išsklaidymo efekto). Homogenizacija gali būti atliekama rankiniu arba ultragarsiniu būdu [221].

Vilniaus universito ligoninės Santaros klinikų (VUL SK) Neonatologijos centro donorinio MP banke naudojamo analizatoriaus „Miris“ („Miris AB“, Švedija) veikimas paremtas vidurinės srities infraraudonųjų spindulių spektrofotometrijos principu (angl. *mid-IR analyser*). Tyrimo metu labai plonas MP sluoksnis (< 100 μm) yra veikiamas įvairaus bangos ilgio infraraudonųjų spindulių. Nustatoma padidėjusi tam tikro bangos ilgio spindulių absorbcija yra tiesiogiai proporcinga maistinės medžiagos kiekiui MP mėginyje [220]. Atlikti vieną tyrimą trunka apie minutę. Analizatorius „Miris“ pateikia rezultatus apie bendrojo (įskaitant nebaltymines azotines medžiagas) ir tikro baltymo, riebalų, angliavandenių, sausųjų medžiagų koncentraciją bei energinę vertę tiriamajame MP mėginyje.

1.6.7. Motinos pieno metabolomo tyrimai

OMICS, mokslo, kuris yra molekulinės biologijos dalis, atsiradimas buvo didelė pažanga MP sudėties tyrimų srityje. Ši mokslo sritis apima keturias pagrindines disciplinas: genomiką (DNR lygmuo), transkriptomiką (RNR lygmuo), proteomiką (baltymų lygmuo) ir metabolomiką (metabolitų lygmuo).

Metabolomas (gr. *metabole* – perstūmimas, pakeitimas) yra viso organizmo mažos molekulinės masės metabolitų (medžiagų apykaitos tarpinių ir galutinių produktų) visuma biologiniame mėginyje. Kiekviena ląstelių ir audinių rūšis turi unikalius medžiagų apykaitos produktus, vadinamuosius „pirštų atspaudus“ (angl. *fingerprints*), kurie apibūdina organus arba audinius. Organizmo metabolomas nuolat kinta, jį lemia ne tik genetiniai veiksniai, bet ir aplinka, ligos, mityba, amžius ir kiti veiksniai.

Biologinių skysčių (kartu ir MP) metabolomo tyrimai gali suteikti apibendrintos informacijos apie organizme vykstančius normalius biologinius ir patofiziologinius procesus. Metabolomika yra svarbi vertinant ligų diagnostiką, jų sunkumą ir skirto gydymo atsaką [34, 222].

Pirmiausia metabolomo tyrimai buvo pasitelkti tiriant biologinius mėginius (daugiausia kraują ir šlapimą), vėliau išpopuliarėjo maisto pramonėje. MP metabolomas pradėtas tirti visai neseniai – kiek mažiau nei prieš dešimt metų [222]. MP metabolomo tyrimai leidžia išsamiau vertinti MP sudėtį keičiančius veiksnius, ieškoti šių žinių pritaikymo būdo perinatalinėje medicinoje.

Pagrindinis metabolomikos pranašumas, palyginti su kitomis „-omikos“ mokslo sritimis, yra tas, kad kliniškai reikšmingų metabolitų skaičius yra palyginti nedidelis: genomika apima apie 25 000 genų tyrimus, transkriptomika – apie 85 000 transkripcijos išraiškos modelių, proteomika – daugiau kaip 10 000 000 baltymų, o klinikinei diagnostikai reikšmingų metabolitų skaičius yra 1400–3000. Genomika ir transkriptomika tiria, kokie metaboliniai procesai yra užkoduoti organizmo genuose, proteomika – koku būdu vyksta šie procesai, o metabolomika atspindi esamojo laiko situaciją organizme, leidžia įvertinti tiek vidinių, tiek išorinių veiksnių reikšmę metaboliniams procesams. Manoma, kad metabolomo tyrimai ateityje gali tapti personalizuoto gydymo pagrindu [223].

MP mažos molekulinės masės metabolitai gali būti tiriami branduolių magnetinio rezonanso spektroskopijos (angl. *NMR, nuclear magnetic resonance spectroscopy*), sudėtiniais skysčių chromatografijos ir masių spektrometrijos (angl. *LC-MS, liquid chromatography-mass spectrometry*), dujų chromatografijos ir masių spektrometrijos (angl. *GC-MS, gas chromatography-mass spectrometry*), taip pat kitais metodais [224]. Visi šie tyrimo metodai yra brangūs, jiems atlikti naudojama sudėtinga technika. *NMR* yra dažniausiai taikomas metodas MP metabolomo tyrimui, jam būdingas geras atkartojamumas, tačiau jis yra mažiau jautrus nei masių spektrometrija. *LC-MS* metodas išsiskiria dideliu jautrumu ir specifiškumu, juo tiriant galima nustatyti ne tik metabolitų sudėtį, bet ir jų koncentraciją. *GC-MS* labiausiai tinka tirti lakius MP metabolitus. Deja, dėl MP metabolitų įvairovės nė vienas iš šių tyrimų atskirai neatskleidžia išsamaus MP metabolitų vaizdo. Šių tyrimų metodų derinimas tarpusavyje pateikia išsamesnius duomenis apie MP sudėtį. Kadangi MP metabolomas pradėtas tirti visai neseniai, šiuo metu dar nėra nustatytos bendros šių tyrimų metodikos, o tai gali turėti įtakos rezultatams [224].

Pastarųjų metų MP metabolomo tyrimai analizavo skirtinguose regionuose gyvenančių motinų pieno metabolitų skirtumus [225, 226],

antsvorio turinčių bei įvairiomis ligomis sergančių motinų pieno metabolomo pokyčius [227–229], ieškojo MP metabolomo ir mikrobiotos sąsajų [226], atskleidė MP, karvės pieno ir adaptuotų mišinių metabolitų sudėties skirtumus [230], taip pat ieškojo atsakymų, kokią reikšmę visa tai turi naujagimio sveikatai. Šiuo metu dar mažai žinoma, ar Holderio pasterizacija turi įtakos MP metabolomo sudėčiai [224].

1.7. Apibendrinimas

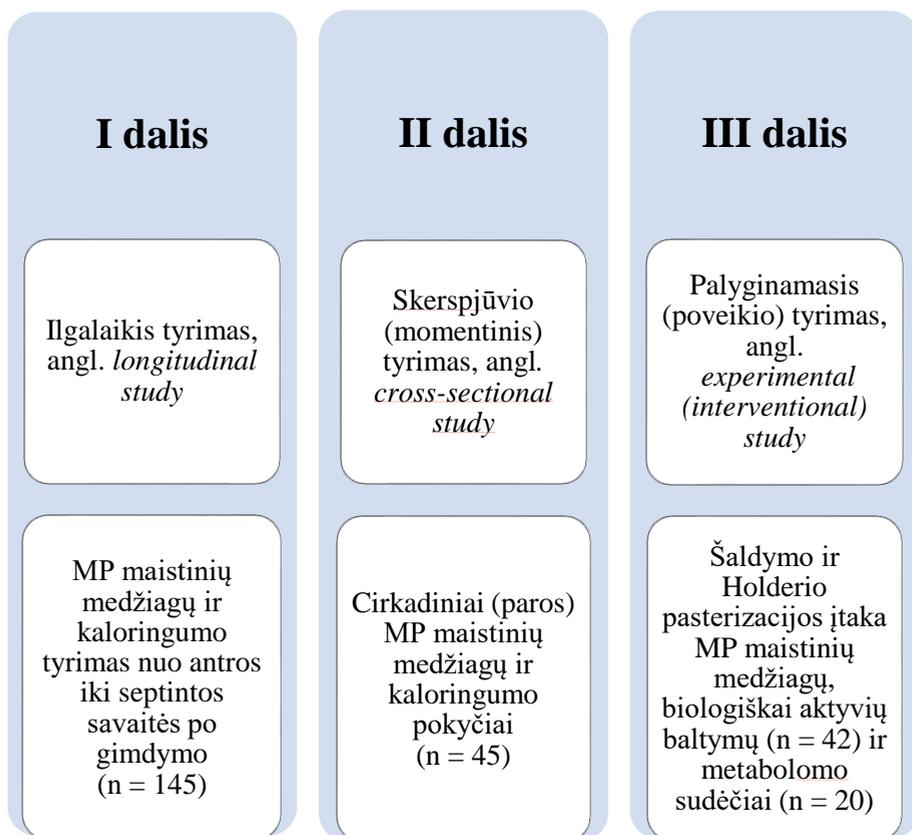
MP sudėtis iki šiol kelia mokslinių intrigu. Atsirandant naujiems tyrimo metodams, galima ištirti ne tik pagrindinių, bet ir mažu kiekiu randamų MP komponentų sudėtį, tirti jų funkcijas ir galimą reikšmę naujagimio sveikatai bei raidai. Tikėtina, kad MP tyrimai taps individualizuoto naujagimio maitinimo ir gydymo pagrindu.

2. TIRIAMIEJI IR TYRIMO METODAI

Tyrimas daugiausia buvo atliekamas VUL SK Neonatologijos centre 2017–2020 m., o MP metabolomo tyrimas atliktas Kaljario universiteto (Italija) Chemijos ir geologijos mokslų katedros tyrimų laboratorijoje.

Tyrimui atlikti gautas Vilniaus regioninio biomedicininio tyrimų etikos komiteto 2017 m. rugsėjo 12 d. leidimas Nr. 158200-17-925-443 (1 priedas) ir šio leidimo 2018 m. lapkričio 6 d. papildymas Nr. 158200-17-925-PP1-107 (2 priedas) bei Valstybinės duomenų apsaugos inspekcijos 2017 m. spalio 19 d. leidimas tvarkyti duomenis Nr. 2R-6550(2.6-1.).

Tyrimas suskirstytas į tris dalis (4 pav.).



MP – motinos pienas.

4 pav. Biomedicininio tyrimo dalys.

2.1. Tyrimo imties apskaičiavimas

Tyrimo imties dydžiams nustatyti visose trijose dalyse naudota „G*Power“ (versija 3.1.9.4) programa. Kriterijaus reikšmingumo lygmuo pasirinktas $\alpha = 0,05$. Atsižvelgta į tai, kad kriterijaus galia būtų ne mažesnė kaip 0,8 ($0,8 < \beta < 0,95$). Pasirinktas imčių dydis atitiko reikalavimus.

2.2. I dalis. Motinos pieno maistinių medžiagų ir kaloringumo tyrimas nuo antros iki septintos savaitės po gimdymo

Pirmoje dalyje siekta išsiaiškinti, kaip MP maistinių medžiagų sudėtis ir energinė vertė kinta per pirmąsias septynias savaites po gimdymo, taip pat – ar tokie veiksniai kaip nėštumo trukmė, naujagimio lytis, motinos amžius, KMI, gimdymo būdas turi įtakos MP sudėčiai.

Tyrimas buvo atliekamas VUL SK Neonatologijos centre nuo 2017 m. spalio iki 2020 m. balandžio. VUL SK Neonatologijos centras yra vienas iš dviejų perinatologijos centrų Lietuvoje, kur gydomi sergantys ir neišnešioti naujagimiai iš visos Lietuvos teritorijos, tačiau didžiausia dalis pacientų atvyksta iš Vilniaus miesto ir Vilniaus apskrities. Šių naujagimių slaugai įprastai hospitalizuojamos ir jų motinos.

Patogiosios atrankos būdu į tyrimą buvo įtrauktos Neonatologijos centre hospitalizuotos, sveikos, vaistų nevartojančios moterys, kurios dėl priešlaikinio gimdymo, naujagimio ligos ar kitų priežasčių nežindė naujagimių, bet juos maitino savo ištrauktu pienu. Esant poreikiui, tyrime dalyvavusios moterys buvo aprūpinamos elektriniais pientraukiais ir supažindinamos su tinkamu jų naudojimu.

Tyrime dalyvavo tik tos motinos, kurių ištraukto pieno kiekis viršydavo jų naujagimių maisto poreikį tyrimo laikotarpiu. Žindančios moterys į tyrimą nebuvo įtrauktos siekiant išvengti neigiamos įtakos natūraliam maitinimui ir galimos žindymo įtakos MP sudėčiai. Jei tiriama moteris pradėdavo žindyti arba sumažėjusi laktacija nebeužtikrindavo naujagimio maisto poreikių, tyrimas būdavo nutraukiamas. Visi įtraukimo į tyrimą ir atmetimo kriterijai pateikiami 7 lentelėje.

7 lentelė. Įtraukimo į tyrimą ir atmetimo kriterijai.

Įtraukimo kriterijai	Atmetimo kriterijai
Sveikos, vaistų nevartojančios motinos;	Motinos ligos: infekcinės (tuberkuliozė, hepatitas B ir C, AIDS, mastitas), onkologinės, endokrininės (cukrinis diabetas); nuolatinis vaistinių preparatų vartojimas;
specifinių dietų nesilaikančios motinos;	vegetarės, veganės;
vienvaisis nėštumas;	daugiavaisis nėštumas;
MP ištraukiamas mechaniniu ar elektriniu pientraukiu;	žindančios motinos; MP ištraukiamas rankomis;
ištraukiamo MP kiekis viršija naujagimio paros maisto poreikį;	visas ištraukiamas MP kiekis sunaudojamas naujagimio maitinimui;
reguliarus MP ištraukimas (ne rečiau kaip keturis kartus per parą);	MP ištraukiamas rečiau kaip keturis kartus per parą;
pasirašymas informuoto asmens sutikimo formoje.	atsisakymas dalyvauti tyrime.

MP – motinos pienas.

Visos tyrimo dalyvės buvo informuotos apie tyrimo tikslus, rezultatų naudojimą tik apibendrinta forma, užtikrinant anonimiškumą ir konfidencialumą, ir pasirašė informuoto asmens sutikimo dalyvauti tyrime formą. Moterys bet kuriuo metu galėjo atsisakyti toliau dalyvauti tyrime.

Įtraukus tiriamąsias į tyrimą buvo surenkami asmens sveikatos bei nėštumo ir gimdymo anamnezės duomenys: moters amžius, ankstesnių gimdymų skaičius, gyvenamoji vieta, svoris ir ūgis nėštumo pradžioje, lėtinės ir infekcinės ligos, nėštumo trukmė, gimdymo būdas, naujagimio lytis, gimimo svoris.

Kiekvienos tyrimo dalyvės pieno sudėtis tirta vieną kartą per savaitę, pradedant antra ir baigiant septinta savaitė po gimdymo: antrą savaitę

(8–10-ą dienomis po gimdymo), trečią savaitę (15–17-ą dienomis po gimdymo), ketvirtą savaitę (22–24-ą dienomis po gimdymo), penktą savaitę (29–31-ą dienomis po gimdymo), šeštą savaitę (36–38-ą dienomis po gimdymo) ir septintą savaitę (43–45-ą dienomis po gimdymo).

MP buvo visiškai ištraukiamas iš vienos arba abiejų krūčių elektriniu arba mechaniniu pientraukiu, mėginiai imami parą laiko. Dažniausiai moterys MP ištraukdavo kas 3 val., t. y. 7–8 kartus per parą. Iš kiekvienos ištraukto pieno porcijos (kol jis buvo dar šiltas ir nenusistovėjęs) moterų buvo prašoma paimti po 1 ml MP tyrimui į plastikinį mėginių indelį. Likęs ištrauktas MP buvo naudojamas naujagimių maitinimui. Ištrauktas pienas kaskart, prieš supilant jį į tyrimų indelį, švirkšte būdavo palaikomas apie 1 val. šaldytuve, siekiant suvienodinti skirtingu metu surinkto MP temperatūrą. Šitaip per parą buvo paimami 7–8 ml tūrio MP mėginiai, kurie iki maistinių medžiagų analizės (apie 24 val. nuo ėmimo pradžios) buvo laikomi šaldytuve +4 °C temperatūroje. Jei naujagimis, išrašytas į namus, vis dar būdavo maitinamas ištrauktu motinos pienu, mėginiai ta pačia metodika būdavo imami tiriamųjų namuose ir, suderinus laiką, pervežami į VUL SK Neonatologijos centrą šaltkreipšyje ant ledo pieno sudėties tyrimui. Jei tą pačią dieną atsiimti pieno mėginių galimybės nebūdavo, moterys buvo prašomos paimtus pieno mėginius užšaldyti buitiniame šaldiklyje. Užšaldyti pieno mėginiai per 1–3 savaites ant ledo būdavo pristatomi į VUL SK Neonatologijos centrą pieno sudėties tyrimui.

Maistinių medžiagų sudėtis tirta analizatoriumi „Miris“ („Miris AB“, Švedija), kurio veikimas pagrįstas infraraudonųjų spindulių spektrofotometrijos principu. Naudota gamyklinė prietaiso kalibracija, pritaikyta homogenizuoto MP tyrimui. Prieš šią analizę, laikantis analizatoriaus „Miris“ gamintojo rekomendacijų, MP buvo pašildomas iki 40 °C temperatūros specialioje vandens vonelėje ir homogenizuojamas ultragarsiniu homogenizatoriumi „Miris Sonicator“.

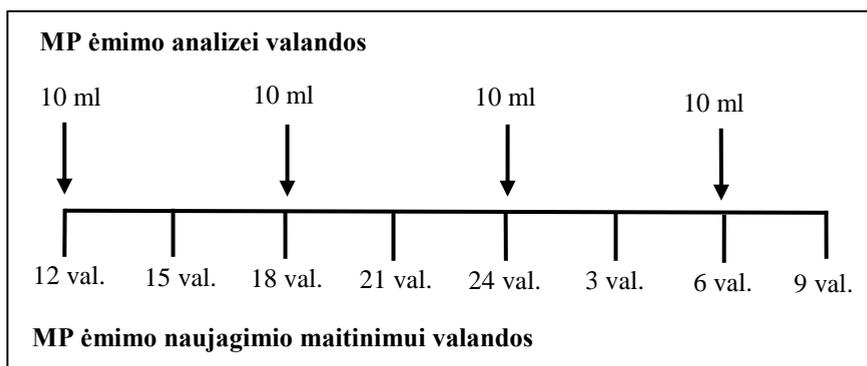
Iš viso į tyrimą buvo įtrauktos 145 dalyvės. Tyrimą visiškai baigė (t. y. pieną tyrimui ištraukdavo septynias savaites po gimdymo) 74 moterys. Likusios moterys dėl įvairių priežasčių (MP trūkumo, maitinimo iš krūties, išvykimo į kitą miestą ir kt.) tyrimą baigė anksčiau. Analizuojant duomenis, tiriamosios buvo padalytos į keturias grupes atsižvelgiant į jų naujagimių gestacinį amžių (GA): < 28⁺⁰ sav. (n = 35), 28⁺⁰–31⁺⁶ sav. (n = 40), 32⁺⁰–36⁺⁶ sav. (n = 37), ≥ 37⁺⁰ sav (n = 33). Šių grupių duomenys lyginti tarpusavyje.

2.3. II dalis. Cirkadiniai motinos pieno maistinių medžiagų ir kaloringumo pokyčiai

Antroje tyrimo dalyje siekta įvertinti MP maistinių medžiagų koncentracijos cirkadinius (paros) kitimus.

Duomenys skerspjūvio tyrimui buvo renkami nuo 2017 m. spalio iki 2018 m. gegužės. Įtraukimo į tyrimą ir atmetimo kriterijai buvo tokie patys kaip pirmoje tyrimo dalyje.

MP mėginiai buvo imami vieną parą tarp 14–16 dienos po gimdymo. Įprastai VUL SK Neonatologijos centre hospitalizuotos moterys pieną naujagimiui maitinti ištraukia 8 kartus per parą. MP maistinių medžiagų analizei naudotas MP, ištrauktas 6, 12, 18 ir 24 val. (su leistina 1 val. paklaida). Iš viso ištraukto MP kiekio į atskirą plastikinį tyrimų indelį buvo paimama 7–10 ml MP, ant kiekvieno indelio užrašomas tiriamosios identifikacinis numeris, MP paėmimo data ir laikas. Likęs ištrauktas MP buvo sunaudojamas naujagimio maitinimui arba užšaldomas. MP ištraukimo maistinių medžiagų sudėties analizei ir naujagimio maitinimui schema pateikiama 5 pav.



MP – motinos pienas.

5 pav. Motinos pieno ištraukimo naujagimio maitinimui ir maistinių medžiagų analizei laikas.

Buvo paimti 45 motinų, iš kurių 27 slaugė neišnešiotus ir 18 – išnešiotus naujagimius, pieno mėginiai. Maistinių medžiagų sudėtis tirta analizatoriumi „Miris“ („Miris AB“, Švedija). Naudota gamyklinė prietaiso kalibracija, pritaikyta homogenizuoto MP tyrimui. Prieš šią analizę, laikantis analizatoriaus „Miris“ gamintojo rekomendacijų, MP buvo pašildomas iki 40 °C temperatūros specialioje vandens vonelėje ir homogenizuojamas ultragarsiniu homogenizatoriumi „Miris Sonicator“.

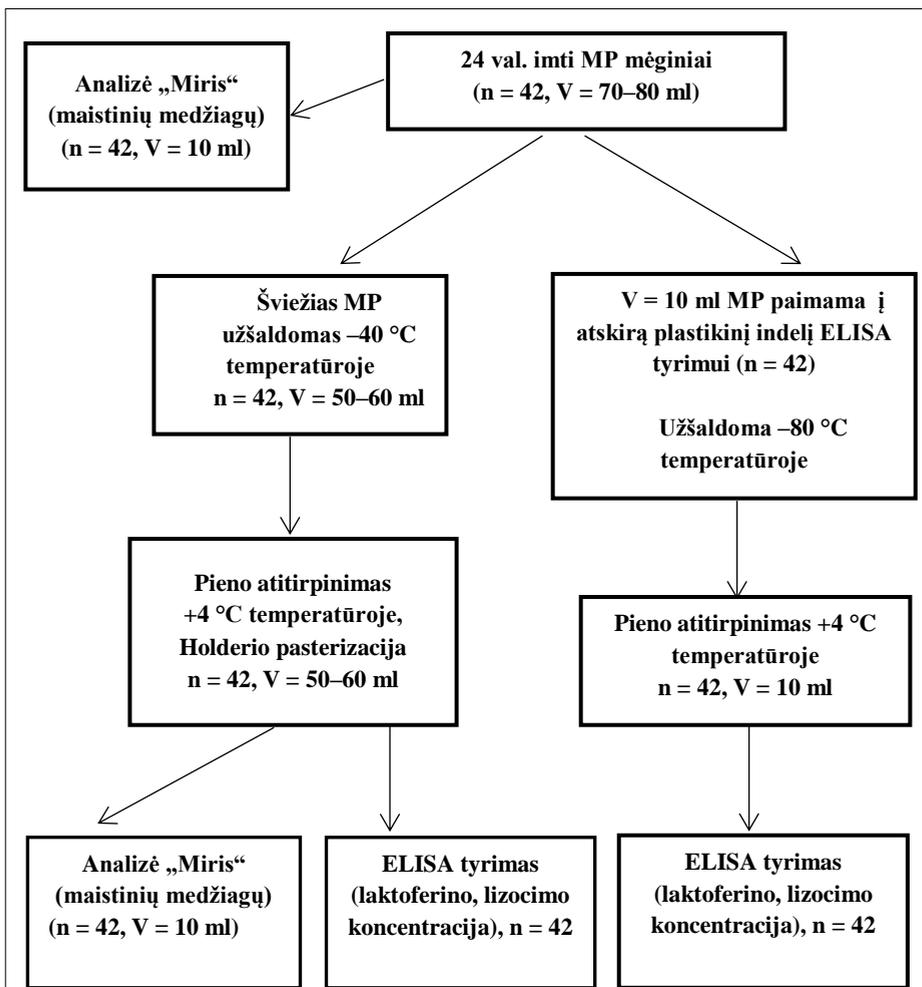
Analizuojant duomenis, vertinti cirkadiniai MP maistinių medžiagų sudėties svyravimai ir palyginti išnešiotų ($GA \geq 37^{+0}$ sav.) ir neišnešiotų ($GA < 37^{+0}$ sav.) naujagimių motinų MP sudėties pokyčiai per parą.

2.4. III dalis. Šaldymo ir Holderio pasterizacijos įtaka motinos pieno maistinių medžiagų, biologiškai aktyvių baltymų ir metabolomo sudėčiai

Trečioje tyrimo dalyje tirta Holderio pasterizacijos įtaka MP maistinių medžiagų, biologiškai aktyvių baltymų (lizocimo, laktoferino) ir metabolomo sudėčiai.

Tyrimui mėginiai buvo imti nuo 2017 m. spalio iki 2018 m. liepos. Įtraukimo ir neįtraukimo į tyrimą kriterijai buvo tokie patys kaip pirmame ir antrame tyrimo etapuose.

Tyrimo metodikos schema yra pavaizduota 6 pav.



MP – motinos pienas; V – vieno mėginio tūris (ml); n – mėginių skaičius.

6 pav. Darbo metodikos schema.

MP mėginiai buvo imami 15–17-ą dieną po gimdymo. MP buvo visiškai ištraukiamas iš vienos arba abiejų krūtų elektriniu arba mechaniniu pientraukiu, jo mėginiai imami parą laiko, dažniausiai 7–8 kartus per parą. Iš kiekvienos ištraukto MP porcijos (kol jis buvo dar šiltas ir nenusistovėjęs) motinų buvo prašoma paimti po 10 ml tyrimui į plastikinį tyrimų indelį. Likęs ištrauktas MP buvo naudojamas naujagimių maitinimui. Ištrauktas MP kaskart, prieš supilant jį į tyrimų indelį, švirkšte būdavo palaikomas apie 1 val. šaldytuve, siekiant suvienodinti skirtingu metu surinkto MP temperatūrą. Per parą buvo paimami 70–80 ml tūrio MP mėginiai, kurie iki maistinių medžiagų analizės (apie 24 val. nuo mėginių ėmimo pradžios)

buvo laikomi šaldytuve +4 °C temperatūroje. Iš viso buvo paimti 42 MP mėginiai.

Maistinių medžiagų sudėtis buvo tiriama du kartus: šviežiai paimto ir atitirpinto pasterizuoto pieno. Iš sukamuoju judesiu gerai sumaišyto šviežiai paimto paros MP mėginio buvo paimama 10 ml pieno ir analizatoriumi „Miris“ atliekama jo maistinių medžiagų analizė. Naudota gamyklinė prietaiso kalibracija, pritaikyta tirti homogenizuotą MP. Prieš šią analizę, laikantis analizatoriaus „Miris“ gamintojo rekomendacijų, pienas buvo pašildomas iki 40 °C temperatūros specialioje vandens vonelėje ir homogenizuojamas ultragarsiniu homogenizatoriumi „Miris Sonicator“.

Biologiškai aktyvių baltymų (laktoferino, lizocimo) koncentracija buvo nustatoma taip pat du kartus: atitirpintame nepasterizuotame ir pasterizuotame piene. Iš šviežiai paimto paros mėginio 10 ml MP buvo paimama į plastikinį tyrimų indelį, mėginiai pristatomi ant ledo į VUL SK Vaikų ligoninės laboratoriją, centrifuguojami 500 x g +4 °C 15 min, gautas supernatantas užšaldomas –80 °C temperatūroje iki imunofermentinio tyrimo atlikimo. Likusi šviežio paros MP mėginio dalis (50–60 ml) buvo užšaldoma ir iki pasterizacijos laikoma pieno banko šaldiklyje –40 °C temperatūroje.

MP pasterizacijai naudotas ligoninės donorinio MP banke esantis pasterizatorius „PAS 10000/1“ (HSC, Prancūzija). Holderio pasterizacijos laikas ir temperatūros režimas fiksuotas kompiuteryje, proceso metu pažeidimų nepasitaikė. Pasterizacijos išvakarėse visi užšaldyti MP mėginiai per naktį buvo atitirpinti šaldytuve +4 °C temperatūroje. Atlikus Holderio pasterizaciją, iš kiekvieno mėginio vėl buvo paimama po 10 ml pieno ir pakartotinai nustatoma maistinių medžiagų sudėtis analizatoriumi „Miris“. Likęs pasterizuoto MP kiekis ant ledo buvo pristatomas į VUL SK Vaikų ligoninės laboratoriją laktoferino ir lizocimo tyrimui, kuris buvo atliekamas nedelsiant.

Mėginių ėmimas iki pasterizacijos ir imunofermentinio ELISA tyrimo užtruko 10 mėnesių. Tiek atitirpinto nepasterizuoto, tiek pasterizuoto MP mėginių imunofermentiniai tyrimai buvo atliekami tą pačią dieną. Laktoferino koncentracija nustatyta ELISA metodu panaudojus komercinį rinkinį „Lactoferrin Human ELISA“ („BioVendor“, Čekija). Mažiausia matuojama koncentracija 1,1 ng/ml. Naudotas praskiedimas – 100 000 kartų. Lizocimo koncentracija nustatyta ELISA metodu panaudojus komercinį rinkinį „CircuLex Human Lysozyme ELISA Kit“ (MBL, Japonija). Mažiausia matuojama koncentracija – 23,0 pg/ml. Naudotas praskiedimas – 500 000 kartų. Laktoferino tyrimo glaudumas per dieną ir tarp dienų buvo 3,1 ir 5,6 proc., o lizocimo tyrimo atitinkamai – 5,7 ir 6,0 proc.

Atlikus visus tyrimus, buvo palygintas maistinių medžiagų, energinės vertės ir bioaktyvių baltymų (laktoferino ir lizocimo) kiekis MP prieš Holderio pasterizaciją ir po jos.

Bendradarbiaujant su Kaljario universiteto (Italija) mokslininkais, vertintas Holderio pasterizacijos poveikis MP metabolomo sudėčiai. Šiuo tikslu 2018 m. lapkritį–2019 m. kovą papildomai buvo paimta 40 porinių MP mėginių iš 20 motinų. Pasirinktas imties dydis atitiko anksčiau publikuotų darbų imčių dydį [222, 230], taip pat buvo atsižvelgta į tai, kad bus taikomi pažangiausi ir brangūs tyrimo metodai. Į tyrimą buvo įtrauktos sveikos, vaistų nevartojančios, išnešiotus naujagimius ($GA \geq 37^{+0}$ sav.) pagimdžiusios motinos, ištraukiančios pieną pientraukiu. Rytiniai MP mėginiai (tarp 9–12 val.) buvo imami tarp 15 ir 17 dienos po gimdymo. Moterų buvo prašoma pientraukiu ištraukti 50 ml savo pieno. Gauti MP mėginiai buvo padalijami į dvi dalis (10 ml ir 40 ml), iš karto užšaldomi ir laikomi $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūroje ilgiausiai iki penkių mėnesių. Pasterizacijos dieną viena dalis (40 ml) užšaldytų mėginių buvo atitirpinama, pasterizuojama Holderio būdu ir vėl iš karto užšaldoma $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūroje. Visi užšaldyti MP mėginiai (nepasterizuoto ir pasterizuoto MP, $n = 40$) ant sauso ledo su nuasmenintais duomenimis (MP paėmimo data, identifikacinis numeris) buvo išsiųsti į Italiją, Kaljario universiteto Chemijos ir geologijos mokslų katedros tyrimų laboratoriją, kur buvo atliekamas MP metabolomo tyrimas branduolių magnetinio rezonanso spektroskopijos būdu. Prieš analizę MP mėginiai buvo atitirpinami ir centrifuguojami 30 min. $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūroje naudojant „Amicon Ultra“ 0,5 ml 10 kDa filtrus („Millipore“, Billerica, MA, JAV). Kiekvienas filtruotas mėginys (350 μl) buvo sumaišomas su 350 μl 0,1 M buferinio fosfato tirpalo (pH 7,4) ir supilamas į 5 mm skersmens vamzdelį. Branduolių magnetinio rezonanso spektroskopijos tyrimas buvo atliekamas naudojant „Unity Inova 500“ spektrometrą („Agilent Technologies, Inc.“, Kalifornija). Tyrimo metu gauti spektrai buvo analizuojami naudojant „MestReNova“ 12 versijos („Mestrelab Research SL“, Ispanija) programinę įrangą. Gavus duomenis, palygintas MP metabolomas prieš Holderio pasterizaciją ir po jos.

2.5. Statistinė duomenų analizė

Pirmos tyrimo dalies duomenų statistinė analizė atlikta naudojant „IBM SPSS Statistics 23“ programinį paketą. Vertinant kiekybinius rodiklius, buvo apskaičiuojamas aritmetinis vidurkis ir standartinis nuokrypis bei mediana. Kokybinių kintamųjų nepriklausomumui tikrinti taikytas chi kvadratu (χ^2) kriterijus. Duomenų normalumo sąlygos patikrinimui buvo naudojamas

Šapiro ir Vilko testas. Dviejų priklausomų imčių palyginimui buvo taikomas porinis Stjudento t arba Vilkoksono kriterijai, o nepriklausomų imčių palyginimui taikytas Stjudento t testas arba Mano, Vitnio ir Vilkoksono rangų sumų kriterijus, atsižvelgiant į duomenų normalumo sąlygą. Trims ir keturioms nepriklausomoms imtims palyginti taikytas vienfaktorės dispersinės analizės metodas ANOVA ir Bonferoni kriterijus bei Kruskalo ir Voliso testas, o priklausomoms imtims – Frydmano kriterijus. Skirtumai laikyti statistiškai reikšmingais, kai reikšmingumo lygmuo $\alpha < 0,05$. Dviejų dydžių tiesinės priklausomybės įvertinimui buvo skaičiuojami Pirsono bei Spirmeno koreliacijos koeficientai, atsižvelgiant į duomenų normalumo prielaidą.

Antros ir trečios tyrimo dalių duomenų statistinė analizė atlikta naudojant atvirojo kodo programą R (versija 3.5.2). Vertinant kiekybinius rodiklius, buvo apskaičiuojamas aritmetinis vidurkis, mediana bei standartinis nuokrypis. Šapiro ir Francia testas buvo naudojamas duomenų normalumo vertinimui. Atsižvelgiant į duomenų normalumo prielaidą, dviejų imčių palyginimui buvo taikomas Stjudento t testas arba Vilkoksono rangų sumų testas. Kokybiniai kintamieji pateikti absoliučiaisiais skaičiais ir procentais, palyginimui naudotas Pirsono χ^2 kriterijus. Kai stebėjimų dažnis buvo mažesnis negu 5, buvo taikytas tikslusis Fišerio kriterijus. Skirtumas laikytas statistiškai reikšmingu, kai $p < 0,05$.

Atliekant MP metabolomo tyrimus, daugiamatei statistinei analizei naudotas „SIMCA 14“ („Umetrics“, Švedija) programinės įrangos paketas.

3. REZULTATAI

3.1. I dalis. Motinos pieno maistinių medžiagų ir kaloringumo tyrimas nuo antros iki septintos savaitės po gimdymo

Iš viso į tyrimą buvo įtrauktos 145 dalyvės. 80 proc. motinų buvo iš Vilniaus apskrities (iš jų 80 proc. – Vilniaus miesto gyventojos). Likusios buvo atvykusios iš skirtingų Lietuvos regionų (Utenos, Panevėžio, Šiaulių, Klaipėdos, Marijampolės ir Alytaus apskričių).

Atlikus MP mėginių tyrimus, įvertinti MP maistinių medžiagų ir kaloringumo pokyčiai, priklausantys nuo laktacijos trukmės skirtingo gestacinio amžiaus naujagimius pagimdžiusių motinų grupėse: I grupė – ypač neišnešiotų naujagimių motinos, 22^{+0} – 27^{+6} sav. GA (n = 35); II grupė – labai neišnešiotų naujagimių motinos, 28^{+0} – 31^{+6} sav. GA (n = 40); III grupė – vidutiniškai neišnešiotų ir vėlyvų neišnešiotų naujagimių motinos, 32^{+0} – 36^{+6} sav. GA (n = 37); IV grupė – išnešiotų naujagimių motinos, 37^{+0} – 41^{+6} sav. GA (n = 33). Taip pat palygintas MP maistinių medžiagų kiekis ir energinė vertė šiose keturiose tiriamųjų grupėse tomis pačiomis savaitėmis po gimdymo. Statistiškai reikšmingų skirtumų tarp grupių, atsižvelgiant į motinų amžių, tautybę, KMI, gimdymų skaičių, gimdymo būdą ir naujagimio lytį, nenustatyta (8 lentelė).

MP maistinių medžiagų koncentracija ir energinė vertė septynių savaičių po gimdymo laikotarpiu pateikiama 9 lentelėje.

8 lentelė. Palyginamoji tiriamųjų motinų grupių charakteristika.

Moterų grupė atsižvelgiant į naujagimio GA	22 ⁺⁰ –27 ⁺⁶ sav. (n = 35)	28 ⁺⁰ –31 ⁺⁶ sav. (n = 40)	32 ⁺⁰ –36 ⁺⁶ sav. (n = 37)	37 ⁺⁰ –41 ⁺⁶ sav. (n = 33)	p reikšmė
Grupės charakteristika					
Motinos amžius (metais), $\bar{x} \pm s$	31 ± 4	32 ± 5	34 ± 6	32 ± 5	0,09
Tautybė (lietuvė, kita*), n (proc.)	29 / 6 (83 / 17)	31 / 9 (77,5 / 22,5)	30 / 7 (81 / 19)	28 / 5 (85 / 15)	0,47
KMI :					
per mažas (< 18,5), n (proc.)	3 (8,5)	4 (10)	4 (11)	1 (3)	0,96
normalus (≥ 18,5–≤ 25), n (proc.)	22 (63)	24 (60)	23 (62)	24 (73)	
antsvoris / nutukimas (> 25), n (proc.)	10 (28,5)	12 (30)	10 (27)	8 (24)	
Gimdymų skaičius, $\bar{x} \pm s$	2 ± 1	2 ± 1	2 ± 1	2 ± 1	0,75
Gimdymo būdas (NT/CPO), n (proc.)	17 / 18 (49 / 51)	27 / 13 (67,5 / 32,5)	20 / 17 (54 / 46)	25 / 8 (76 / 24)	0,08
Naujagimio gimimo svoris (g), $\bar{x} \pm s$	871 ± 182	1496 ± 278	2129 ± 531	3301 ± 445	< 0,01
Naujagimio lytis (vyr., mot.), n (proc.)	22 / 13 (63 / 37)	21 / 19 (52,5 / 47,5)	23 / 14 (62 / 38)	23 / 10 (70 / 30)	0,50

$\bar{x} \pm s$ – vidutinė reikšmė ± standartinis nuokrypis; GA – gestacinis amžius; NT – gimdymas natūraliais takais; CPO – cezario pjūvio operacija; *kitos tautybės: rusų, lenkų, ukrainiečių.

9 lentelė. Motinos pieno maistinių medžiagų ir energinės vertės pokyčiai priklausomai nuo laiko po gimdymo.

MP komponentas	Savaitė po gimdymo	$\bar{x} \pm SN^*$				<i>p</i> reikšmė
		I grupė (22 ⁺⁰ –27 ⁺⁶ sav. GA), n = 35	II grupė (28 ⁺⁰ –31 ⁺⁶ sav. GA), n = 40	III grupė (32 ⁺⁰ –36 ⁺⁶ sav. GA), n = 37	IV grupė (37 ⁺⁰ –41 ⁺⁶ sav. GA), n = 33	
Baltymai, g/100 ml	2	1,6 ± 0,4	1,6 ± 0,2	1,6 ± 0,2	1,6 ± 0,2	0,97
	3	1,5 ± 0,2	1,4 ± 0,2	1,4 ± 0,2	1,4 ± 0,2	0,47
	4	1,4 ± 0,2	1,3 ± 0,2	1,3 ± 0,2	1,2 ± 0,2	0,04
	5	1,3 ± 0,1	1,3 ± 0,2	1,2 ± 0,2	1,2 ± 0,2	0,03
	6	1,2 ± 0,1	1,2 ± 0,2	1,2 ± 0,2	1,2 ± 0,2	0,16
	7	1,2 ± 0,1	1,1 ± 0,1	1,1 ± 0,2	1,2 ± 0,1	0,43
Riebalai, g/100 ml	2	4,0 ± 1,1	4,0 ± 0,9	3,7 ± 0,9	4,0 ± 0,7	0,68
	3	4,2 ± 0,8	4,0 ± 0,8	4,1 ± 0,7	4,1 ± 0,7	0,78
	4	4,3 ± 0,7	4,0 ± 0,8	4,0 ± 0,8	4,0 ± 0,9	0,40
	5	4,1 ± 0,7	4,1 ± 0,8	4,0 ± 0,8	3,8 ± 0,9	0,46
	6	4,0 ± 0,7	4,0 ± 0,9	3,9 ± 0,6	4,1 ± 0,9	0,53
	7	4,1 ± 0,6	3,9 ± 1,0	4,0 ± 0,9	3,9 ± 0,8	0,10
Angliavandeniai, g/100 ml	2	7,0 ± 1,5	7,4 ± 0,5	7,5 ± 0,6	7,4 ± 0,7	0,25
	3	7,5 ± 0,6	7,7 ± 0,5	7,7 ± 0,5	7,6 ± 0,7	0,17
	4	7,6 ± 0,5	7,7 ± 0,4	7,8 ± 0,5	7,7 ± 0,5	0,90

Lentelės tęsinys.

	Savaitė	$\bar{x} \pm SN^*$				<i>p</i> reikšmė
			5	7,7 ± 0,5	7,6 ± 0,5	
	6	7,7 ± 0,5	7,6 ± 0,5	7,7 ± 0,6	7,5 ± 0,5	0,97
	7	7,6 ± 0,4	7,6 ± 0,4	7,5 ± 0,6	7,7 ± 0,4	0,56
Energinė vertė, kcal/100 ml	2	73,3 ± 16,7	74,9 ± 8,2	72,9 ± 7,2	75,3 ± 5,9	0,96
	3	76,7 ± 8,0	75,4 ± 7,3	76,5 ± 6,7	76,1 ± 6,5	0,83
	4	77,43 ± 6,6	74,6 ± 7,6	75,0 ± 7,8	74,4 ± 8,0	0,24
	5	75,15 ± 6,9	75,0 ± 7,3	74,7 ± 7,5	72,8 ± 8,6	0,63
	6	74,68 ± 7,1	73,9 ± 9,0	73,1 ± 6,4	74,6 ± 8,3	0,48
	7	74,78 ± 6,0	73,2 ± 7,9	72,8 ± 9,1	73,1 ± 7,7	0,07

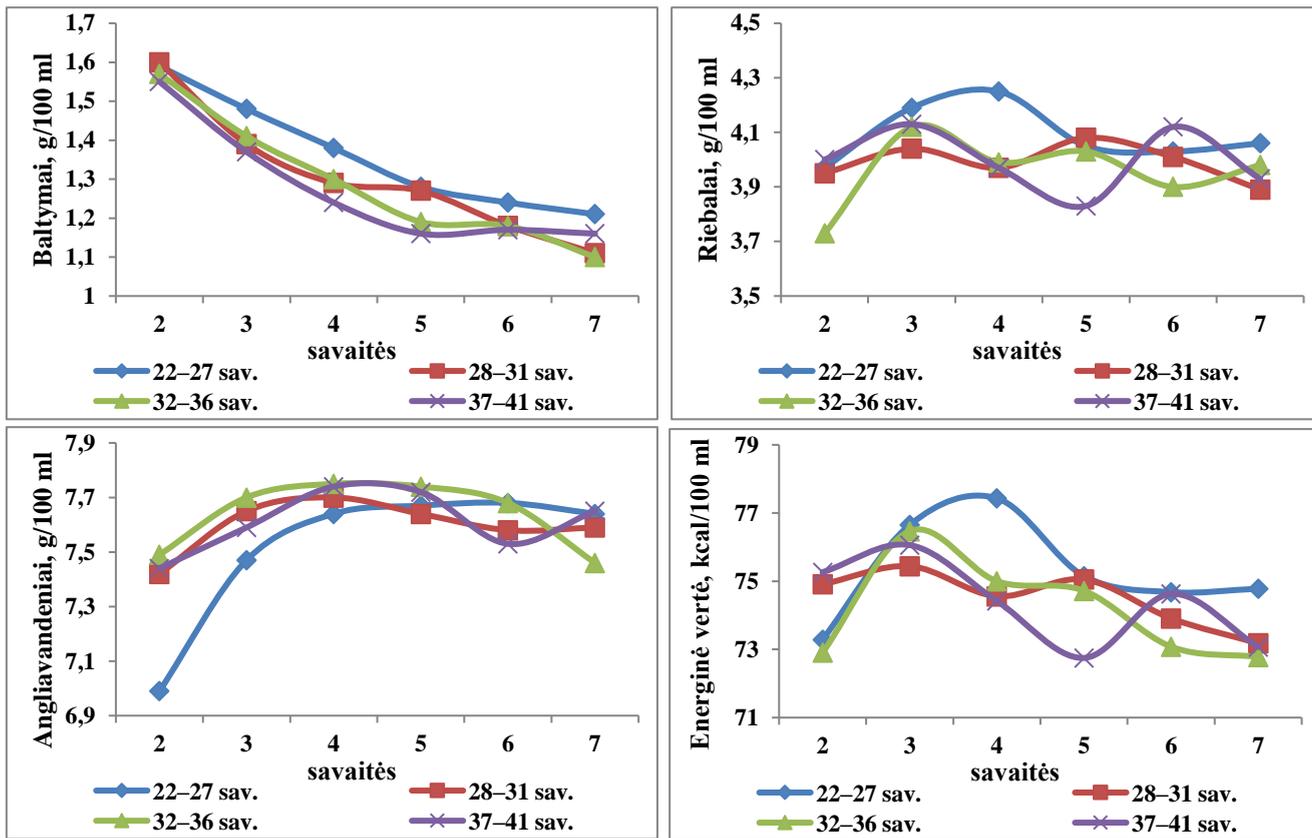
* vidurkis ± standartinis nuokrypis; MP – motinos pienas; statistiškai reikšmingi skirtumai pažymėti paryškiniu šifru. Motinų grupės sudarytos atsižvelgiant į jų naujagimių GA (gestacinį amžių).

Baltymų koncentracija MP visose keturiose gestacinio amžiaus grupėse palaipsniui mažėjo nuo antros iki septintos savaitės po gimdymo. Aptikti reikšmingi baltymų koncentracijos pokyčiai tarp grupių ketvirtą ir penktą savaitėmis po gimdymo. Analizuojant ketvirtos savaitės baltymų koncentraciją MP, nustatyti statistiškai reikšmingi skirtumai tarp I ir II grupių ($p = 0,04$), I ir III grupių ($p = 0,03$), I ir IV grupių ($p < 0,001$). Analizuojant penktos savaitės baltymų koncentraciją MP, nustatyti statistiškai reikšmingi skirtumai tarp I ir III grupių ($p = 0,01$), I ir IV grupių ($p = 0,01$). Taikytas Vilkoksono priklausomų imčių testas.

Riebalų ir angliavandenių koncentracija pasižymėjo ryškiais individualiais skirtumais, tačiau reikšmingų skirtumų skirtingose gestacinio amžiaus grupėse neaptikta. Priklausomai nuo praėjusių savaitių po gimdymo, riebalų koncentracija ryškiau nekito, o angliavandenių – antrą savaitę (pereinamajame MP) buvo mažesnė nei 3–7 savaitėmis po gimdymo.

MP energinės vertės pokyčiai nedaug skyrėsi nuo riebalų koncentracijos svyravimų.

Grafiškai atvaizduoti MP maistinių medžiagų ir energinės vertės pokyčiai pateikiami 7 pav., o koncentracijos skirtumai pereinamajame ir brandžiam MP pateikiami 10 lentelėje.



7 pav. Motinos pieno maistingųjų medžiagų ir energinės vertės pokyčiai priklausomai nuo laktacijos trukmės.

10 lentelė. Maistinių medžiagų ir energinės vertės pokyčiai pereinamajame (2 sav. po gimdymo) ir brandžiame (6 sav. po gimdymo) motinos piene.

	Baltymai, g/100 ml		Riebalai, g/100 ml		Angliavandeniai, g/100 ml		Energinė vertė, kcal/100 ml	
	NN motinų pienas (1–3 grupės)	IN motinų pienas (4 grupė)	NN motinų pienas (1–3 grupės)	IN motinų pienas (4 grupė)	NN motinų pienas (1–3 grupės)	IN motinų pienas (4 grupė)	NN motinų pienas (1–3 grupės)	IN motinų pienas (4 grupė)
2 sav.	1,6	1,6	3,9	4,0	7,3	7,4	73,8	75,3
6 sav.	1,2	1,2	4,0	4,1	7,6	7,5	74,0	74,6
Skirtumas	–25 %	–25 %	3 %	3 %	4 %	1%	0,3 %	–1 %
<i>p</i> reikšmė	< 0,001 *	0,001 *	0,53	0,23	< 0,001 *	0,05	0,47	0,78

NN – neišnešioti naujagimiai (< 37⁺⁰ sav. GA), IN – išnešioti (≥ 37⁺⁰ sav. GA); * – pažymėti statistiškai reikšmingi skirtumai.

Vertinant kitų veiksnių įtaką MP sudėčiai, nustatyta, kad berniukus pagimdžiusių motinų piene antrą savaitę po gimdymo buvo didesnė riebalų koncentracija nei mergaites pagimdžiusių motinų piene (atitinkamai $4,1 \pm 0,8$ ir $3,7 \pm 1,0$ g/100 ml, $p = 0,02$). Dėl šios priežasties pereinamasis berniukus maitinančių motinų pienas buvo kaloringesnis nei mergaites maitinančių motinų pienas (atitinkamai $75,6 \pm 7,4$ ir $71,7 \pm 12,8$, $p = 0,03$). Šie skirtumai nebebuvo statistiškai reikšmingi brandžiam MP. Baltymų ir angliavandenių koncentracija reikšmingai nesiskyrė skirtingos lyties naujagimius pagimdžiusių motinų piene.

Antrą savaitę po gimdymo natūraliais takais gimdžiusių motinų piene buvo didesnė riebalų koncentracija ir didesnis jo kaloringumas, palyginti su gimdžiusių per cezario pjūvį motinų pienu (atitinkamai $4,0 \pm 1,0$ ir $3,7 \pm 0,7$ g/100 ml, $p = 0,02$ bei $75,1 \pm 11,5$ ir $72,5 \pm 6,5$ kcal/100 ml, $p = 0,01$). Šie skirtumai taip pat nebebuvo statistiškai reikšmingi brandžiam MP.

Motinos amžius, KMI neturėjo reikšmingos įtakos MP maistinių medžiagų sudėčiai bei kaloringumui.

3.2. II dalis. Cirkadiniai motinos pieno maistinių medžiagų ir kaloringumo pokyčiai

Iš viso ištirta 180 MP mėginių, paimtų iš 45 motinų (atlikti maistinių medžiagų ir kaloringumo tyrimai). Visos tyrime dalyvavusios moterys buvo nuolatinės Lietuvos gyventojos. Neišnešiotų ir išnešiotų naujagimių motinos reikšmingai nesiskyrė amžiumi, ankstesnių gimdymų skaičiumi, gimdymo būdu ir kitomis charakteristikomis (11 lentelė).

11 lentelė. Pagrindinės tyrimo dalyvių charakteristikos.

	Išnešiotų naujagimių motinos, n = 18	Neišnešiotų naujagimių motinos, n = 27	<i>t</i>	<i>df</i>	<i>p</i> reikšmė
Nėštumo trukmė (sav.), $\bar{x} \pm s$	37–40 38,7 ± 1,0	24–36 30,2 ± 2,5	–15,61	37,04	< 0,001
Naujagimio gimimo svoris (g), $\bar{x} \pm s$	1590–3960 3265 ± 589	845–2380 1477 ± 405	–12,09	43	< 0,001
Naujagimio lytis (vyr., mot.), n (proc.)	11 / 7 (61,1 / 38,9)	18 / 9 (66,7 / 33,3)	0,15	1	0,703
Gimdymo būdas (NT/CPO), n (proc.)	15 / 3 (83,3 / 16,7)	16 / 11 (59,3 / 40,7)	2,92	1	0,087
Gimdymų skaičius, n $\bar{x} \pm s$	1–3 1,6 ± 0,7	1–5 1,7 ± 0,9	0,22	43	0,829
Motinos amžius (metais), $\bar{x} \pm s$	19–40 30,9 ± 6,2	24–43 32,9 ± 4,3	1,28	43	0,209
Tautybė (lietuvių, kita*), n (proc.)	14 / 4 (77,8 / 22,2)	23 / 4 (85,2 / 14,8)	0,25	1	0,694

$\bar{x} \pm s$ – vidutinė reikšmė ± standartinis nuokrypis; NT – gimdymas natūraliais takais; CPO – cezario pjūvio operacija; *t* – testo reikšmė (angl. *test value*); *df* – laisvės laipsniai (angl. *degrees of freedom*); *kitos tautybės: rusų, lenkų, ukrainiečių.

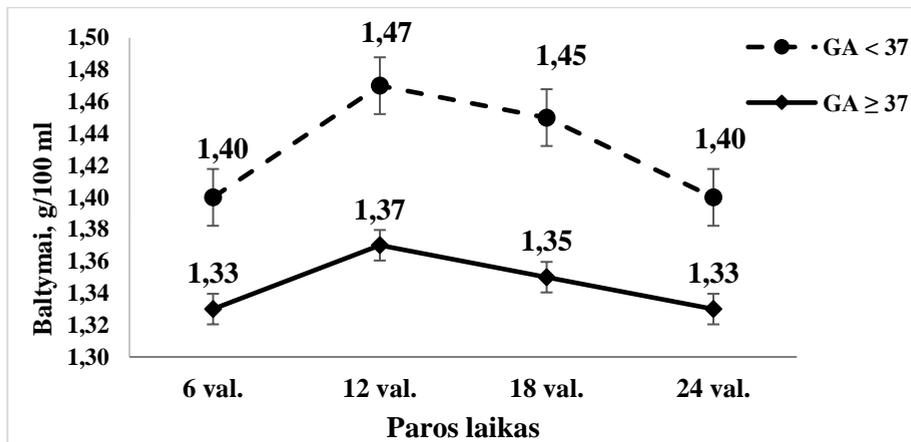
Visų 180 mėginių tyrimų rezultatai atskleidė reikšmingus cirkadinius MP baltymų, riebalų ir kaloringumo svyravimus. Didžiausia šių maistinių medžiagų koncentracija ir energinė vertė per parą buvo dienos metu (12 val. ir 18 val.), o mažiausia – nakties metu (24 val. ir 6 val.). Angliavandenių koncentracija MP nepasižymėjo reikšmingais cirkadiniais svyravimais (12 lentelė).

12 lentelė. Cirkadiniai motinos pieno maistinių medžiagų koncentracijos pokyčiai (n = 45).

		Paros laikas					
		6 val. – 12 val.	6 val. – 18 val.	6 val. – 24 val.	12 val. – 18 val.	12 val. – 24 val.	18 val. – 24 val.
Baltymai, g/100 ml	$\bar{x} \pm s$	1,37 ± 0,2 1,43 ± 0,2	1,37 ± 0,2 1,41 ± 0,2	1,37 ± 0,2 1,37 ± 0,2	1,43 ± 0,2 1,41 ± 0,2	1,43 ± 0,2 1,37 ± 0,2	1,41 ± 0,2 1,37 ± 0,2
	<i>p</i> reikšmė	< 0,001**	0,02*	0,90	0,24	0,001*	0,02*
Riebalai, g/100 ml	$\bar{x} \pm s$	4,06 ± 0,9 4,39 ± 1,1	4,06 ± 0,9 4,57 ± 1	4,06 ± 0,9 4,00 ± 0,7	4,39 ± 1,1 4,57 ± 1,0	4,39 ± 1,1 4,00 ± 0,7	4,57 ± 1,0 4,00 ± 0,7
	<i>p</i> reikšmė	0,04*	0,001*	0,65	0,28	0,02*	< 0,001**
Angliavandeniai, g/100 ml	$\bar{x} \pm s$	7,39 ± 0,2 7,33 ± 0,3	7,39 ± 0,2 7,33 ± 0,2	7,39 ± 0,2 7,37 ± 0,2	7,33 ± 0,3 7,33 ± 0,2	7,33 ± 0,3 7,37 ± 0,2	7,33 ± 0,2 7,37 ± 0,2
	<i>p</i> reikšmė	0,12	0,14	0,40	0,88	0,27	0,22
Energinė vertė, kcal/100 ml	$\bar{x} \pm s$	74,42 ± 9,1 77,58 ± 10,0	74,42 ± 9,1 79,18 ± 9,7	74,42 ± 9,1 73,89 ± 6,8	77,58 ± 10,0 79,18 ± 9,7	77,58 ± 10,0 73,89 ± 6,8	79,18 ± 9,7 73,89 ± 6,8
	<i>p</i> reikšmė	0,03*	< 0,001**	0,59	0,29	0,01*	< 0,001**

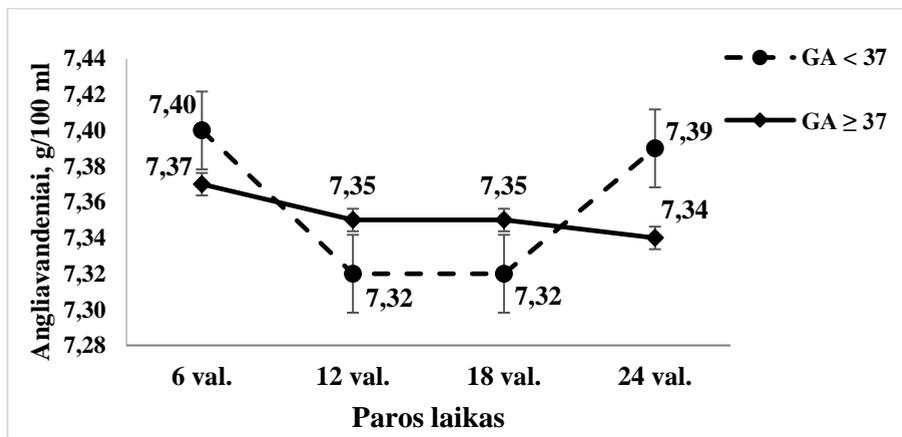
$\bar{x} \pm s$ – vidurkis ± standartinis nuokrypis; reikšmingi skirtumai paryškinti ($p < 0,05$; ** $p < 0,001$).

Maistinių medžiagų koncentracija bei kaloringumas reikšmingai nesiskyrė lyginant prieš laiką ir laiku pagimdžiusių motinų pieną 14–16 parą po gimdymo, tačiau cirkadiniai maistinių medžiagų koncentracijų svyravimai buvo labiau išreikšti neišnešiotų naujagimių motinų piene (8–11 pav.).



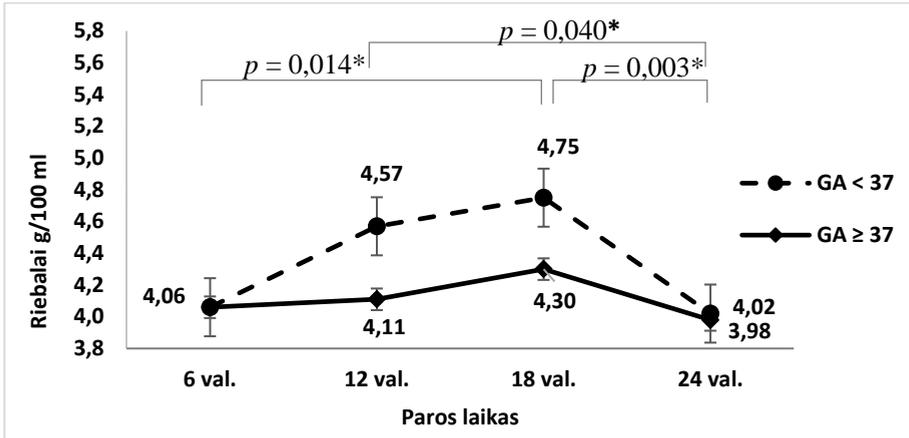
GA < 37 (sav.) – neišnešiotų naujagimių motinų grupė (n = 27); GA ≥ 37 (sav.) – išnešiotų naujagimių motinų grupė (n = 18).

8 pav. Baltymų koncentracijos cirkadiniai svyravimai neišnešiotų ir išnešiotų naujagimių motinų piene.



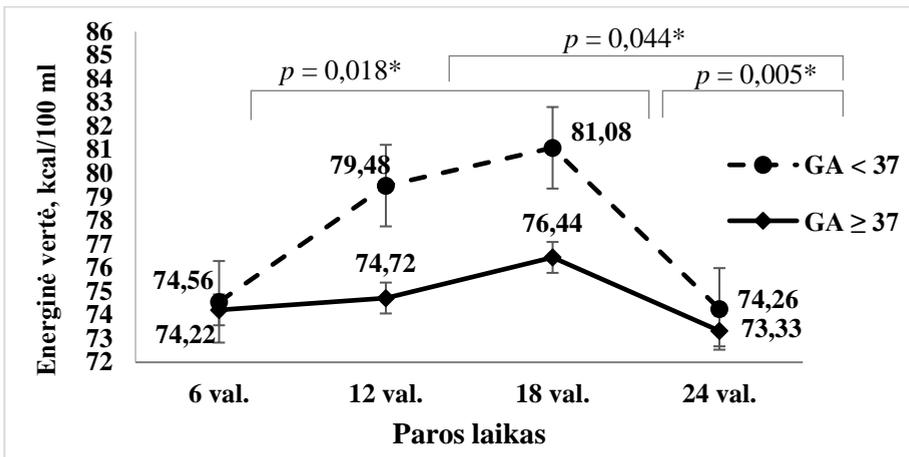
GA < 37 (sav.) – neišnešiotų naujagimių motinų grupė (n = 27); GA ≥ 37 (sav.) – išnešiotų naujagimių motinų grupė (n = 18).

9 pav. Angliavandenių koncentracijos cirkadiniai svyravimai neišnešiotų ir išnešiotų naujagimių motinų piene.



*reikšmingi koncentracijų skirtumai buvo tik neišnešiotų naujagimių motinų grupėje; GA < 37 (sav.) – neišnešiotų naujagimių motinų grupė (n = 27); GA ≥ 37 (sav.) – išnešiotų naujagimių motinų grupė (n = 18).

10 pav. Riebalų koncentracijos cirkadiniai svyravimai neišnešiotų ir išnešiotų naujagimių motinų piene.



*reikšmingi skirtumai buvo tik neišnešiotų naujagimių motinų grupėje; GA < 37 (sav.) – neišnešiotų naujagimių motinų grupė (n = 27); GA ≥ 37 (sav.) – išnešiotų naujagimių motinų grupė (n = 18).

11 pav. Išnešiotų ir neišnešiotų naujagimių motinų pieno energinės vertės cirkadiniai svyravimai.

Nors neišnešiotų naujagimių motinų piene buvo randama daugiau baltymo nei išnešiotų naujagimių motinų piene, šis skirtumas nebuvo statistiškai reikšmingas. Neišnešiotų ir išnešiotų naujagimių motinų pienas pasižymėjo panašiais baltymų koncentracijos cirkadiniais svyravimais

(didžiausia koncentracija būdavo dienos metu, 12 val. ir 18 val.), tačiau, tiriant neišnešiotų ir išnešiotų naujagimių motinų pieną atskirai, šie skirtumai nebuvo statistiškai reikšmingi (8 pav.).

Angliavandenių koncentracija nepasižymėjo reikšmingais cirkadiniais svyravimais. Įdomu, kad neišnešiotų naujagimių motinų piene angliavandenių koncentracijos svyravimai buvo priešingi kitų maistinių medžiagų koncentracijų svyravimams – didesnė angliavandenių koncentracija buvo nakties metu (24 val. ir 6 val.), o mažesnė – dienos metu (12 val. ir 18 val.), 9 pav.

Riebalų koncentracijos ir energinės vertės cirkadiniai svyravimai MP buvo analogiški baltymų koncentracijos svyravimams, tačiau reikšmingi skirtumai aptikti tik neišnešiotų naujagimių motinų grupėje (10 ir 11 pav.).

3.3. III dalis. Šaldymo ir Holderio pasterizacijos įtaka motinos pieno maistinių medžiagų, biologiškai aktyvių baltymų ir metabolomo sudėčiai

Tiriant Holderio pasterizacijos įtaką MP maistinių medžiagų ir biologiškai aktyvių baltymų (laktoferino ir lizocimo) sudėčiai, buvo ištirti 42 poriniai MP mėginiai. Į tyrimą įtrauktų moterų charakteristikos pateikiamos 13 lentelėje. Išnešiotus ir neišnešiotus naujagimius pagimdžiusių motinų grupės reikšmingai nesiskyrė atsižvelgiant į naujagimio lytį, gimdymo būdą, motinos amžių bei gimdymų skaičių.

13 lentelė. Tiriamųjų charakteristikos, palyginant išnešiotų (GA $\geq 37^{+0}$ sav.) ir neišnešiotų (GA $< 37^{+0}$ sav.) naujagimių motinų grupes.

Motinų grupė atsižvelgiant į naujagimio GA	GA $< 37^{+0}$ (n = 22)	GA $\geq 37^{+0}$ (n = 20)	p reikšmė
Grupės charakteristika			
Naujagimio GA (savaitės), $\bar{x} \pm s$	29,7 \pm 2,4	38,7 \pm 1,2	< 0,001
Naujagimio gimimo svoris (g), $\bar{x} \pm s$	1530 \pm 424 Md = 1540	3257 \pm 584 Md = 3380	< 0,001
Naujagimio lytis (vyr., mot.), n (proc.)	15 / 7 (68,2 / 31,8)	12 / 8 (60 / 40)	0,58
Gimdymo būdas (NT/CPO), n (proc.)	16 / 6 (72,7 / 27,3)	17 / 3 (85 / 15)	0,46
Gimdymų skaičius, $\bar{x} \pm s$	1,8 \pm 1,0 Md = 2	1,6 \pm 0,7 Md = 2,2	0,71
Motinos amžius (metais), $\bar{x} \pm s$	32,6 \pm 4,4	30,4 \pm 6,2	0,18

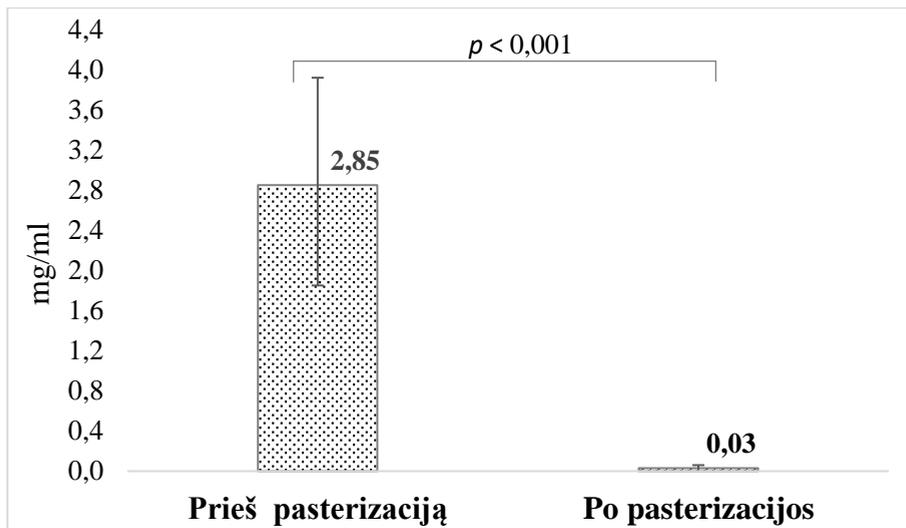
n – tiriamųjų skaičius grupėje; GA – gestacinis amžius; $\bar{x} \pm s$ – vidurkis \pm standartinis nuokrypis; Md – mediana; NT – gimdymas natūraliais takais; CPO – cezario pjūvio operacija.

Atlikus Holderio pasterizaciją, MP maistinių medžiagų vidutinė koncentracija ir energinė vertė reikšmingai nepasikeitė (14 lentelė), tačiau gerokai sumažėjo laktoferino (skirtumas 99 proc.) ir lizocimo (skirtumas 35 proc.) koncentracija (12 ir 13 pav.)

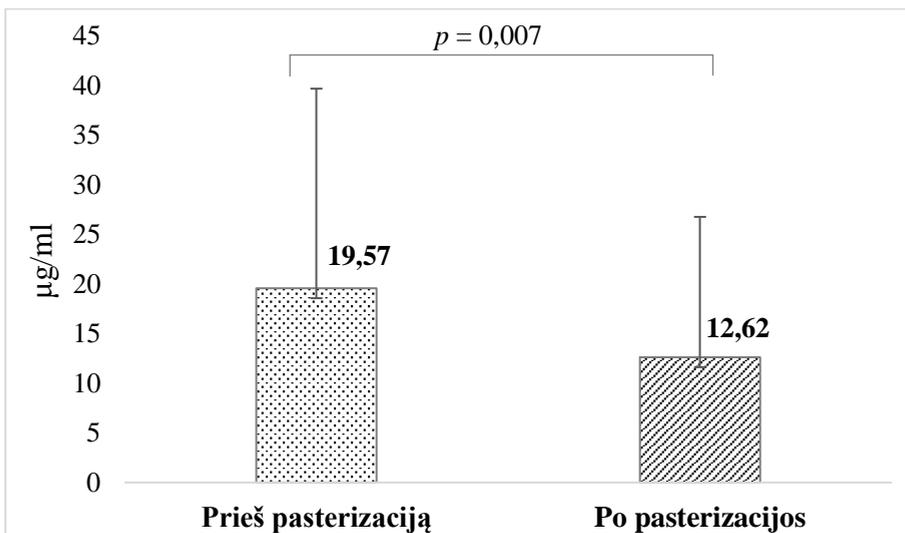
14 lentelė. Maistinių medžiagų koncentracijos skirtumai motinos piene prieš Holderio pasterizaciją ir po jos (n = 42).

Rodiklis	Prieš pasterizaciją, $\bar{x} \pm s$	Po pasterizacijos, $\bar{x} \pm s$	<i>p</i> reikšmė
Baltymai, g/100 ml	1,4 ± 0,2	1,4 ± 0,2	0,87
Riebalai, g/100 ml	4,3 ± 0,7	4,2 ± 0,7	0,54
Angliavandeniai, g/100 ml	7,3 ± 0,2	7,3 ± 0,2	0,14
Energinė vertė, kcal/100 ml	77 ± 7	76 ± 7	0,48

$\bar{x} \pm s$ – vidurkis ± standartinis nuokrypis.

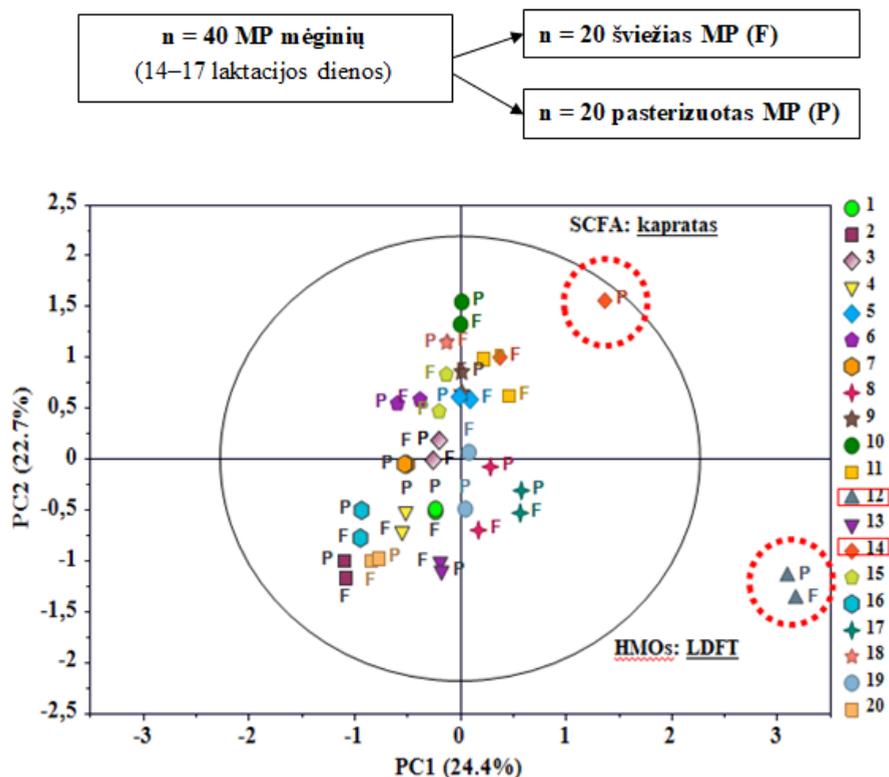


12 pav. Laktoferino koncentracija motinos piene prieš Holderio pasterizaciją ir po jos (n = 42).



13 pav. Lizocimo koncentracija motinos piene prieš Holderio pasterizaciją ir po jos (n = 42).

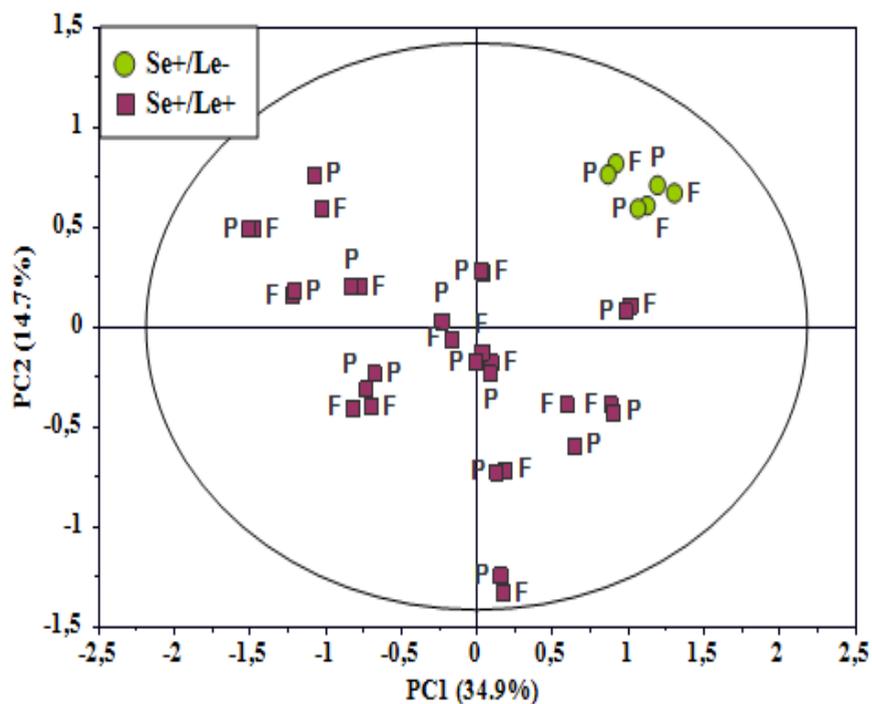
Taip pat buvo įvertinta Holderio pasterizacijos įtaka MP metabolomo sudėčiai. Branduolių magnetinio rezonanso spektroskopijos būdu ištirta 40 porinių MP mėginių, paimtų iš 20 sveikų, laiku pagimdžiusių motinų. Tiriant vandenyje tirpią MP metabolitų frakciją, reikšmingų skirtumų užšaldytame šviežiame ir pasterizuotame MP negauta (14 pav.).



SCFA – trumpųjų grandinių riebalų rūgštys (angl. *short-chain fatty acids*); HMOs: LDFT – MP oligosacharidai: laktodifukotetraozė (angl. *human milk oligosaccharides, lactodifucotetraose*); išskirtys apvestos raudona punktyrine linija.

14 pav. Motinos pieno metabolomas (vandenyje tirpi metabolitų frakcija) prieš Holderio pasterizaciją ir po jos.

Vizualinė spektrų analizė pagal vyraujančius MP oligosacharidus leido nustatyti du tyrimo dalyvių fenotipus (abu sekrecinius): Se+/Le+ (17 motinų) ir Se+/Le- (3 motinų). Atlikus analizę, šviežio MP mėginiai buvo grafiškai artimi atitinkamiems pasterizuoto MP mėginiams – tai rodo, kad prieš Holderio pasterizaciją ir po jos nėra oligosacharidų sudėties skirtumų (15 pav.).



F – šviežio MP mėginiai (angl. *fresh milk*), P – pasterizuoto MP mėginiai (angl. *pasteurised milk*). Se+/Le- ir Se+/Le+ – sekreciniai tipai pagal vyraujančius MP oligosacharidus (Se- sekrecinis genas, Le- Lewis genas).

15 pav. Motinos pieno oligosacharidai prieš Holderio pasterizaciją ir po jos.

4. REZULTATŲ APTARIMAS

Tai yra pirmasis tokio pobūdžio tyrimas, kuriuo siekta nuodugniai įvertinti Lietuvoje gyvenančių moterų pieno sudėtį ir įvairius jai įtakos turinčius veiksnius. Kadangi MP sudėtis iš dalies priklauso nuo genetinių veiksnių, regiono, kitų įvairių specifinių populiacijos rodiklių, svarbu žinoti ne tik pasaulinius, bet ir savo šalies duomenis. MP sudėties tyrimai ne tik atskleidžia pieno sudėties pokyčių dėsningumus, bet kartu yra ir mokslo įrodymais pagrįstos individualizuoto sergančių ir neišnešiotų naujagimių maitinimo programos pagrindas.

Siekiant įvairiapusiškai išnagrinėti MP sudėtį ir jos kitimus, tyrimas buvo suskirstytas į tris dalis, taikyti įvairūs tyrimo metodai. Tirtas ne tik fiziologinių, nuo motinos ir vaiko priklausančių veiksnių, bet ir įvairių procedūrų (šaldymo, Holderio pasterizacijos) poveikis MP sudėčiai.

Toliau pateikiamas kiekvienos darbo dalies rezultatų aptarimas.

4.1. I dalis. Motinos pieno maistinių medžiagų ir kaloringumo tyrimas nuo antros iki septintos savaitės po gimdymo

Mūsų tyrimas, kaip ir anksčiau atlikti, atskleidė, kad MP maistinių medžiagų sudėtis keičiasi priklausomai nuo laiko, praėjusio po gimdymo [15, 231]. Lyginant su 41 tyrimą apimančios *D. Gidrewicz* ir *T. Fenton* metaanalizės duomenimis [15], mūsų tirtų motinų pieno sudėtis pirmas septynias savaites po gimdymo išsiskyrė apie 0,5 g/100 ml didesniu riebalų kiekiu (kartu kaloringumu), o kitų MP maistinių medžiagų koncentracija buvo labai panaši.

Priešpienyje randama santykinai daug baltymo, vėliau jo kiekis palaipsniui mažėja iki 5–6 laktacijos savaitės, ir galiausiai lieka maždaug pastovus [15, 158]. Mūsų gauti duomenys sutampa su anksčiau atliktų tyrimų duomenimis, taip pat atskleidė neišnešiotų naujagimių motinų pieno sudėties ypatumus. Ketvirtą ir penktą laktacijos savaitę ypač neišnešiotų naujagimių (< 28⁺⁰ sav. GA) motinų piene rasta daugiau baltymo. Panašius tyrimų rezultatus pateikia ir *D. Gidrewicz* ir *T. Fenton* [15] – reikšmingi baltymo koncentracijos skirtumai tarp išnešiotų ir neišnešiotų naujagimių pieno buvo 2–4 bei 7–9 savaitėmis po gimdymo. *J. Bauer* ir *J. Gerss* duomenimis [232], baltymo koncentracija MP buvo atvirkščiai proporcinga naujagimio gestaciniam amžiui. Kita vertus, *J. Maly* su bendraautoriais pateikia priešingus rezultatus – jie nerado reikšmingo MP baltymo koncentracijos skirtumo tarp skirtingo gestacinio amžiaus naujagimių (24–30 sav. ir 31–35 sav. GA) motinų grupių [161]. Baltymai, tarp kurių yra daug

biologiškai aktyvių medžiagų, ypač svarbūs naujagimio augimui, taip pat imuninei, virškinimo, centrinei nervų ir kitoms sistemoms. Mūsų ir kitų mokslininkų gauti rezultatai leidžia teigti, kad MP atitinka specifinius naujagimio poreikius – didesnis baltymo kiekis reikalingas neišnešiotu naujagimio įvairių organų sistemų brendimui, imuninei apsaugai dėl didesnės infekcinių ligų rizikos, taip pat stabiliam svorio augimui.

Riebalų koncentracija MP pasižymėjo didžiausiais individualiais skirtumais, tačiau nuo antrosios iki septintosios savaitės po gimdymo reikšmingų riebalų koncentracijos pokyčių MP nenustatyta. Panašius rezultatus pateikia ir kiti autoriai [15, 161].

Mūsų gautais duomenimis, angliavandenių koncentracija pereinamajame MP buvo santykinai mažesnė nei brandžiam MP. Įdomu, kad šis skirtumas buvo ryškesnis neišnešiotų naujagimių (22^{+0} – 36^{+6} sav. GA) motinų piene. Galima galvoti apie tam tikrą motinos organizmo prisitaikymą prie individualių naujagimio poreikių: mažesnis angliavandenių kiekis MP sąlygoja mažesnę jo osmoliariškumą ir galbūt kompensuoja fermento laktazės nepakankamumą, taip sudarydamas palankesnes sąlygas geresniam MP virškinimui naujagimio žarnyne [79, 165]. Mūsų gauti duomenys patvirtina anksčiau atliktų tyrimų rezultatus, teigiančius, kad angliavandenių koncentracija MP turi tendenciją didėti pirmosiomis savaitėmis po gimdymo [15, 161].

Mūsų tyrimas atskleidė ir kitus, tikėtina, neatsitiktinius veiksnius, kurie turi įtakos MP sudėčiai. Įdomu, kad berniukus pagimdžiusių motinų pereinamasis pienas buvo riebesnis ir kaloringesnis už mergaites pagimdžiusių motinų piene. Analogiškus rezultatus pateikia ir *C. J. Fischer Fumeaux* su bendraautoriais [167]. Anksčiau Kenijoje atliktas tyrimas atskleidė, kad MP maistinių medžiagų sudėtis skiriasi ne tik priklausomai nuo naujagimio lyties, bet ir nuo ekosocialinės padėties: labiau pasiturinčių berniukus maitinančių motinų piene buvo randama daugiau riebalų, o vargingiau gyvenančių – priešingai, daugiau riebalų rasta mergaites maitinančių motinų piene [201]. Šie duomenys leidžia spėlioti apie galimą krūties liaukos „programavimą“ dar vaisiui esant gimdoje.

Gimdymo būdas irgi turėjo įtakos MP sudėčiai – mūsų tyrime natūraliais takais pagimdžiusių motinų pereinamasis pienas turėjo daugiau riebalų ir buvo kaloringesnis nei gimdžiusių per cezario pjūvio operaciją. *E. Beser Ozmen* su bendraautoriais atliktas tyrimas taip pat atskleidė gimdymo būdo sąlygotus MP sudėties skirtumus: natūraliais takais pagimdžiusių motinų priešpienyje rasta daugiau baltymo nei gimdžiusių per cezario pjūvį [233]. Šie duomenys verčia atkreipti ypatingą dėmesį į naujagimių, gimusių per

cezario pjūvį, svorio augimą pirmosiomis savaitėmis po gimdymo ir įvertinti, ar nėra nepakankamos mitybos požymių.

Vertinant MP sudėtį, svarbu atsižvelgti į tai, kad rezultatams įtakos gali turėti metodiniai ypatumai – pavyzdžiui, kaip MP mėginiai paimami, laikomi, kokiais metodais tiriami ir kt. [15, 209]. Mūsų tyrime MP mėginiai buvo imami parą laiko, o tai leido išvengti cirkadinių svyravimų įtakos rezultatams. MP buvo visiškai ištraukiamas tik elektriniu arba mechaniniu pientraukiu, atsisakyta MP mėginių ėmimo rankomis ir iš žindančių motinų – taip paimant pieną buvo gauti pakankamai homogeniški MP mėginiai, išvengta MP sudėties svyravimų vadinamajame pradiniame ir galiniame MP. Didžioji dalis MP mėginių buvo ištiriami neužšaldyti, taip pat prieš analizę homogenizuojami, o tai leido sumažinti MP riebalų praradimą. Nors mūsų pasirinktas infraraudonųjų spindulių spektrofotometrijos metodas nėra tiesioginis MP maistinių medžiagų sudėties tyrimo metodas, jis yra patogus ir plačiai taikomas dėl savo paprastumo, greito rezultatų gavimo, nedidelio tyrimui reikalingo MP kiekio (3–5 ml). Anksčiau atliktų tyrimų duomenys parodė, kad Miris analizė yra pakankamai patikima, palyginti su klasikiniiais cheminiais MP tyrimo metodais [219, 234, 235].

Ši tyrimo dalis turi keletą trūkumų. Dėl gana ilgo tyrimo laikotarpio tik maždaug pusė moterų paimdavo savo pieno mėginius iki septintos savaitės po gimdymo. Likusios dalyvės nebegalėjo iki galo dalyvauti tyrime, nes pradėdavo žindyti arba dėl sumažėjusios pieno gamybos joms nebeužtekdavo jo tyrimui. Taip pat nebuvo vertinta pirmųjų parų po gimdymo (priešpienio) sudėtis. Imti priešpienio mėginius buvo atsisakyta, nes mūsų tyrimo dalyvės VUL SK Neonatologijos centre paprastai buvo hospitalizuojamos tik pirmos savaitės po gimdymo pabaigoje. Be to, būtų buvę sudėtinga laikytis vienodos visų MP mėginių paėmimo metodikos, nes pirmomis paromis po gimdymo gaminasi nedidelis pieno kiekis, ir motinos dažnai jį ištraukia rankomis. Priešpienis dažnai būna visiškai sunaudojamas naujagimiui maitinti, taigi būtų neetiška dalį jo paimti maistinių medžiagų analizei. Nuo antros savaitės laktacija dažnai būna gausesnė, naujagimiui maitinti reikia daugiau MP, todėl naujagimių slaugai hospitalizuotos motinos dažniausiai renkasi pieno ištraukimą pientraukiais. Dar vienas trūkumas yra tas, kad dėl įvairių techninių aplinkybių apie 30 proc. MP mėginių iki analizės buvo užšaldyti ir atitirpinti, o tai galbūt turėjo įtakos MP tyrimų rezultatams.

Apibendrinant gautus rezultatus, MP sudėčiai įtakos turintys veiksniai buvo nėštumo trukmė, gimdymo būdas, naujagimio lytis, laktacijos trukmė. Po gimdymo nuo antros iki septintos savaitės palaipsniui mažėja MP baltymo kiekis, taip pat padidėja MP angliavandenių kiekis. MP riebalų

kiekis ir energinė vertė šiuo laktacijos laikotarpiu ryškiau nekinta. Buvo aptikta skirtingos gestacijos naujagimius pagimdžiusių motinų pieno sudėties skirtumų: neišnešiotų naujagimių motinų piene tam tikrais laktacijos laikotarpiais buvo daugiau baltymo ir mažesnis angliavandenių kiekis. Natūraliais takais ir berniukus pagimdžiusių motinų pereinamasis pienas buvo kaloringesnis dėl didesnio riebalų kiekio, palyginti su gimdžiusių per cezario pjūvį ir mergaites maitinančių motinų pienu. Tikėtina, kad nuo įvairių faktorių priklausantys MP sudėties pokyčiai yra neatsitiktiniai ir turi svarbią reikšmę naujagimio augimui, vystymuisi ir sveikatos būklei.

4.2. II dalis. Cirkadiniai motinos pieno maistinių medžiagų ir kaloringumo pokyčiai

Cirkadiniai MP sudėties pokyčiai jau buvo aprašyti kitų mokslininkų, tačiau jų pateikiami duomenys yra labai skirtingi ar net prieštaringi. Iki šiol nėra vienodos nuomonės, kas sąlygoja MP sudėties cirkadinius pokyčius. Spėjama, kad MP maistinių medžiagų koncentracijos svyravimų per parą gali atsirasti dėl motinos organizmo hormoninių pokyčių, krūtyse esančio pieno kiekio kitimų, žindymo ypatumų, motinos mitybos įpročių, etninių skirtumų [171, 175, 202, 236]. Deja, iki šiol nėra aiškaus atsakymo, kaip kiekvienas iš šių veiksnių sąlygoja cirkadinius MP sudėties pokyčius.

Mūsų gauti rezultatai atskleidė reikšmingus riebalų ir baltymų koncentracijos pokyčius per parą. Dauguma iki šiol atliktų tyrimų aprašo MP riebalų cirkadinius pokyčius [18, 169–171, 237, 238], o apie kitų maistinių medžiagų pokyčius duomenų yra mažiau.

DARLING tyrimas [202] atskleidė, kad MP maistinių medžiagų kiekis gali būti susijęs su krūtyse pasigaminusio pieno kiekiu: MP baltymų ir riebalų kiekis buvo atvirkščiai proporcingas krūtyse esančiam pieno tūriui, o laktozės koncentracija tiesiogiai priklausė nuo MP tūrio. Mūsų tyrimo metu motinų krūtys galėjo būti pilnesnės anksti ryte (6 val.), nes dalis jų neištraukdavo pieno naktį (3 val.). Nepaisant to, mes nenustatėme MP baltymų ir riebalų koncentracijos skirtumo tarp 24 val. ir 6 val. mėginių.

Reikšmingus MP baltymų koncentracijos cirkadinius svyravimus aprašė ispanų mokslininkai (*C. L. Sánchez López* ir bendraautorai) [173] – didžiausią MP baltymų koncentraciją jie rado nakties metu (20 val.–8 val.) paimtuose mėginiuose. Priešingai nei ispanų tyrime, mūsų tirtuose MP mėginiuose didžiausia baltymų koncentracija nustatyta dienos metu (12 val. ir 18 val.). Atsižvelgdami į tai, kad mūsų rezultatai atskleidė vienodus riebalų ir baltymų koncentracijos svyravimus per parą, darome prielaidą, kad šie pokyčiai galėtų būti susiję su motinų mitybos įpročiais: dieniniai MP

mėginiai (12 val. ir 18 val.) buvo imami po pusryčių ir vakarienės, o naktiniai mėginiai (24 val. ir 6 val.) – po santykinai ilgesnio nevalgymo laikotarpio. Kiti tyrėjai nerado reikšmingų cirkadinių MP baltymų koncentracijos pokyčių galbūt dėl mažo tyrime dalyvavusių motinų skaičius [18, 95, 169, 174].

Anksčiau atliktų tyrimų duomenys nurodo, kad MP angliavandenių koncentracija per parą išlieka santykinai stabili. Mūsų tyrimo duomenys sutampa su kitų autorių duomenimis [18, 95, 175] – mes taip pat neradome reikšmingų cirkadinių MP angliavandenių koncentracijos pokyčių.

Įdomu, kad neišnešiotų naujagimių motinų grupėje visų MP maistinių medžiagų ir energinės vertės cirkadiniai pokyčiai buvo ryškesni, palyginti su išnešiotų naujagimių motinų grupe, nors statistiškai reikšmingų skirtumų tarp grupių aptikta tik analizuojant riebalų koncentracijos ir energinės vertės pokyčius. Spėjame, kad baltymų ir angliavandenių cirkadinių svyravimų skirtumų negavome galbūt dėl mažo mėginių skaičiaus neišnešiotų ir išnešiotų naujagimių motinų grupėse. Taigi nėštumo trukmė yra vienas iš veiksnių, galinčių nulemti MP maistinių medžiagų koncentracijos kitimo pobūdį.

Šis tyrimas turi pranašumų ir trūkumų. Siekdami išsiaiškinti cirkadinius neišnešiotų ir išnešiotų naujagimių motinų pieno skirtumus, mėginius suskirstėme į dvi grupes ir analizę vykdėme ribotu laikotarpiu, t. y. 14–16 parą po gimdymo. Yra duomenų, kad cirkadinių MP maistinių medžiagų svyravimų pobūdis keičiasi priklausomai nuo laktacijos laikotarpio [173, 176], tačiau mūsų tyrimo duomenys gali būti panaudoti tik apibūdinant pereinamąjį MP. Kita vertus, neradome nė vieno iki šiol atlikto tyrimo, atskleidžiančio cirkadinius neišnešiotų ir išnešiotų naujagimių motinų pieno skirtumus.

Apibendrinant gautus rezultatus – mes radome reikšmingus cirkadinius MP baltymų ir riebalų svyravimus: didžiausia šių maistinių medžiagų koncentracija buvo dienos metu (12 val. ir 18 val.), o mažiausia – nakties metu (24 val. ir 6 val.). MP angliavandenių koncentracija nepasižymėjo reikšmingais cirkadiniais svyravimais. Kaip ir kiti mokslininkai, neturime aiškaus paaiškinimo, kas sąlygoja šiuos MP maistinių medžiagų koncentracijų pokyčius per parą ir kokią įtaką naujagimiui jie turi. Spėjame, kad šie MP pokyčiai gali būti dėl motinos mitybos įpročių. Taip pat galime teigti, kad priešlaikinis gimdymas irgi yra vienas iš veiksnių, turinčių įtakos cirkadiniams MP maistinių medžiagų koncentracijos pokyčiams. Reikia tolesnių tyrimų, kurie padėtų atskleisti neišnešiotų ir išnešiotų naujagimių motinų pieno cirkadinių pokyčių ypatumus. Tie tyrimai turėtų apimti ilgesnį

laktacijos laikotarpį ir vertinti šių pokyčių įtaką naujagimio sveikatai ir vystymuisi.

4.3. III dalis. Šaldymo ir Holderio pasterizacijos įtaka motinos pieno maistinių medžiagų, biologiškai aktyvių baltymų ir metabolomo sudėčiai

Donorinio MP kokybė, maksimalus jo biologinių bei maistinių savybių išsaugojimas paruošimo metu šiandien yra aktuali problema. Yra žinoma, kad pasterizuotas donorinis MP savo savybėmis neprilygsta šviežiam MP. Nors iki šiol atlikta nemažai tyrimų, vertinančių Holderio pasterizacijos įtaką MP sudėčiai, jų rezultatai yra gana skirtingi ar net prieštaringi. Tai galima būtų paaiškinti skirtinga atliktų tyrimų metodika bei naudojama įranga Holderio pasterizacijai [239, 240]. Rezultatams įtakos gali turėti MP laikymo sąlygos iki pasterizacijos, jo atitirpinimo būdas, pasterizacijai naudojamas MP kiekis, MP mėginio paruošimas tyrimui ir galiausiai – pasirinktas MP komponentų tyrimo metodas ir naudojama įranga.

Mūsų tyrimas atskleidė, kad užšaldyto MP laikymas iki 10 mėnesių, atitirpinimas ir pasterizacija reikšmingai nepakeitė pagrindinių maistinių medžiagų (baltymų, riebalų, angliavandenių) koncentracijos ir nesumažino MP energinės vertės.

Literatūros duomenimis, MP šaldymas ir pasterizacija neturi įtakos angliavandenių sudėčiai, tačiau gali sąlygoti riebalų ir baltymų sumažėjimą [189, 239]. Pateikiami atliktų tyrimų duomenys yra gana skirtingi, tai iš dalies galėtų būti paaiškinama nevienoda tyrimų metodika, MP mėginių paėmimu ir laikymu iki pasterizacijos. Įtakos MP sudėčiai gali turėti ne tik pasterizacija, bet ir jo užšaldymas [241]. MP šaldymas ir atitirpinimas pakeičia riebalų globulių struktūrą, sąlygoja jų membranų plyšimą, o tai paskatina riebalų agregaciją ir prilipimą prie naudojamų indų ir priemonių sienelių. Baltymai gali būti absorbuojami į pažeistų riebalų globulių membranas [32]. Yra duomenų, kad MP lipazė išlieka aktyvi esant $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūrai, kas sąlygoja lipolizę ir palaiptą riebalų netekimą [196]. *R. Orbach* su bendraautorais [192] nustatė, kad žemesnė šaldymo temperatūra sąlygoja mažesnę MP riebalų netekimą.

MP sudėčiai įtakos taip pat gali turėti pieno paėmimo ir paruošimo analizei būdai. Laikant ištrauktą pieną, palaiptui atsiskiria jo riebalai, kurie gali prilipti prie indo sienelių. Tam įtakos turi MP tūrio ir naudojamo indo sienelių paviršiaus ploto santykis [221]. Taip pat žinoma, kad pieno homogenizacija prieš analizę užtikrina reprezentatyvius rezultatus [221, 242, 243]. Mūsų atveju nepakitusių maistinių medžiagų sudėtį atitirpintame

pasterizuotame piene galėtume aiškinti tuo, kad MP mėginiai buvo laikomi užšaldyti žemoje temperatūroje (-40°C), o prieš Miris analizę buvo homogenizuojami ultragarsiniu metodu. Mūsų gauti duomenys sutampa su *R. L. Lamb* ir bendraautorių, kurie irgi nenustatė MP maistinių medžiagų koncentracijos skirtumo prieš Holderio pasterizaciją ir po jos, duomenimis [244].

Mūsų nustatyta vidutinė laktoferino koncentracija nepasterizuotame pereinamajame MP ($2,645 \pm 1,04$ mg/ml išnešiotų naujagimių ir $3,027 \pm 1,09$ mg/ml neišnešiotų naujagimių motinų piene) yra artima nurodytai kituose šaltiniuose [245, 246]. Dėl Holderio pasterizacijos poveikio gavome beveik visišką laktoferino suirimą (> 99 proc.), o kitų tyrimų duomenimis, šio baltymo netekimas yra 35–90 proc. [239]. Mūsų tyrime visi MP mėginiai buvo pasterizuojami Holderio būdu vienu metu. Proceso eiga buvo stebima kompiuteryje, vyko griežtai laikantis pasterizacijos temperatūros režimo. Po pasterizacijos mėginiai nedelsiant buvo pristatomi į laboratoriją ir atliekami imunofermentiniai tyrimai. Nepaisant to, mūsų tyrimas atskleidė, kad pasterizacijos sąlygotas laktoferino netekimas gali būti dar didesnis, nei nurodoma literatūroje.

Mūsų nustatyta lizocimo koncentracija pereinamajame MP pasižymėjo ryškiais individualiais skirtumais (vidutiniškai $20,85 \pm 20,12$ $\mu\text{g/ml}$ išnešiotų naujagimių ir $18,35 \pm 20,52$ $\mu\text{g/ml}$ neišnešiotų naujagimių motinų piene) ir yra mažesnė nei nurodoma kai kuriuose literatūros šaltiniuose [245, 246], bet panaši į gautąją *Y. C. Hsu* ir bendraautorių tyrimu [16]. Manome, kad lizocimo koncentracijos sumažėjimą galėjo sąlygoti MP užšaldymas ir laikymas iki pasterizacijos. *J. C. Chang* su bendraautoriais aprašė, kad MP užšaldymas lemia reikšmingą lizocimo koncentracijos sumažėjimą (net 39,8 proc.), o MP laktoferino koncentracija dėl šaldymo sumažėjo tik 11,5 proc. [247]. Kita vertus, mes gavome, kad lizocimo sumažėjimas dėl Holderio pasterizacijos poveikio buvo 35 proc., o tai atitinka anksčiau atliktų tyrimų rezultatus [239].

Šios tyrimo dalies trūkumas yra tas, kad mes negalime išskirti, kokią reikšmę MP maistinių medžiagų ir biologiškai aktyvių baltymų sudėčiai turėjo kiekviena iš su MP atliekamų procedūrų (MP užšaldymas, laikymo trukmė, Holderio pasterizacija) atskirai. Žinios apie kiekvieno iš šių veiksmų įtaką leistų optimizuoti MP paruošimą donorinio pieno banke ir taip sumažinti svarbių MP sudedamųjų dalių netekimą.

Iki šiol dar mažai žinoma, ar Holderio pasterizacija turi įtakos MP metabolomo sudėčiai [224]. Mūsų motinų pieno metabolomo tyrimas atskleidė, kad Holderio pasterizacija neturėjo įtakos vandenyje tirpios metabolitų frakcijos ir MP oligosacharidų sudėčiai. Mūsų rezultatai

patvirtina kitų mokslininkų duomenis, kad pasterizuotas MP išsaugo labai svarbias, MP oligosacharidų sąlygojamas, biologines funkcijas [188, 248].

MP metabolomo tyrimas atskleidė ir kitą mūsų tyrime dalyvavusių moterų pieno ypatumą – visos tyrimo dalyvės pagal vyraujančius MP oligosacharidus buvo sekrecinio fenotipo, taip pat 17 iš 20 motinų turėjo *Lewis* geną (17 motinų buvo Se+/Le+ ir 3 motinos Se+/Le- fenotipo). Se+/Le+ fenotipo motinų piene randama α 1-2 ir α 1-4 fukozilintų oligosacharidų, tokių kaip 2'-fukozilaktozė (2'FL), lakto-N-difukoheksahazė I (LNDFH I) ir kitų, o Se+/Le- fenotipo – yra α 1-2 fukozilintų oligosacharidų, tačiau nerandama α 1-4 fukozilintų oligosacharidų [82]. Remiantis kitose šalyse atliktais tyrimais, Prancūzijoje, Italijoje, Švedijoje, Vokietijoje, Meksikoje ir Japonijoje apie 80 proc. moterų turi sekrecinį fenotipą (Se+), o Afrikoje, Viduriniuosiuose Rytuose ir Bangladeše – tik 50 proc. *Lewis* geno lemiamas fenotipas (Le+) nustatomas maždaug 50 proc. visos populiacijos [86].

Apsauginės MP savybės iš dalies priklauso nuo MP vyraujančių oligosacharidų sudėties. Nustatyta, kad tų motinų, kurių piene randama daug α 1-2 fukozilintų oligosacharidų (2'FL, LNDFH I), kūdikiai rečiau serga infekciniu viduriavimu [249]. *C. P. Sothi* ir bendrautorių tyrimai su gyvūnais atskleidė, kad maitinimui skirto mišinio papildymas MP oligosacharidais 2'-fukozilaktoze (2'FL) ir 6'-sialilaktoze (6'SL) sumažino NEK vystymąsi pelių ir kiaulių jaunikliams [250]. Įvertinę šiuos duomenis, darome prielaidą, kad mūsų tirtų Lietuvoje gyvenančių motinų pienas dėl vyraujančių oligosacharidų sudėties turėjo pasižymėti išskirtinėmis apsauginėmis savybėmis. Šie aspektai yra labai svarbūs skiriant donorinį MP neišnešiotiems naujagimiams, kai dėl tam tikrų priežasčių trūksta jų nuosavų motinų pieno. Pagrindinis šios tyrimo dalies trūkumas yra maža imtis, neatspindinti visos Lietuvos motinų populiacijos.

Apibendrinant rezultatus – donorinis MP išsaugo daugelį nepakitusių komponentų. MP šaldymas ir Holderio pasterizacija neturėjo įtakos MP maistinių medžiagų, oligosacharidų koncentracijai, vandenyje tirpiai metabolitų frakcijai, tačiau reikšmingai sumažino bioaktyvių baltymų – lizocimo ir laktoferino kiekius: gautas vidutinis lizocimo sumažėjimas (37 proc.) ir beveik visiškas laktoferino sunykimas (koncentracijų pokytis prieš ir po pasterizacijos > 99 proc.). Nepakitusi MP maistinė vertė, oligosacharidai ir metabolomas (vandenyje tirpi frakcija) ir iš dalies išliekanti biologiškai aktyvių baltymų dalis donorinį MP skatina rinktis kaip alternatyvų maistą sergančių ir neišnešiotų naujagimių maitinimui, kai trūksta nuosavos motinos pieno. Siekiant pagerinti donorinio MP kokybę, tikslinga ieškoti naujų MP paruošimo ir laikymo metodų, leidžiančių

užtikrinti patogeninių mikroorganizmų sunaikinimą maksimaliai išsaugant MP biologinę ir maistinę vertę.

IŠVADOS

1. Nežindančių motinų pieno maistinių medžiagų sudėtis po gimdymo kinta. Baltymų koncentracija pereinamajame motinos piene buvo didžiausia, paskui palaipsniui mažėjo iki šeštos savaitės po gimdymo. Lyginant pereinamąjį ir brandų motinos pieną, angliavandenių koncentracija turėjo tendenciją didėti, o riebalų koncentracija ir kaloringumas reikšmingai nepakito.

2. Motinos pieno pagrindinių maistinių medžiagų sudėčiai reikšmingi veiksniai yra nėštumo trukmė, gimdymo būdas, naujagimio lytis. Nenustatyta motinos amžiaus ir kūno masės indekso ryšio su motinos pieno maistinių medžiagų kiekiu.

3. Nustatyti reikšmingi cirkadiniai motinos pieno baltymų, riebalų koncentracijos ir kaloringumo svyravimai. Angliavandenių koncentracijos reikšmingų cirkadinių svyravimų motinos piene nebuvo.

4. Motinos pieno šaldymas ir Holderio pasterizacija sąlygoja didelius biologiškai aktyvių baltymų (laktoferino ir lizocimo) koncentracijos pokyčius, tačiau neturi įtakos pagrindinių maistinių medžiagų, oligosacharidų ir vandenyje tirpių metabolitų koncentracijai motinos piene.

5. Motinos pieno metabolomo tyrimas atskleidė, kad visos tirtos motinos pagal jų piene vyraujančius oligosacharidus buvo sekretinio fenotipo (Se+), nuo *Lewis* geno priklausanti fenotipą turėjo 17 iš 20 (t. y. 85 proc.) motinų.

REKOMENDACIJOS

1. Siekiant optimizuoti neišnešiotų naujagimių maitinimą, tirti MP sudėtį ir individualiai skirti MP papildus pagal rekomenduojamus maistinių medžiagų paros kiekius. Nesant galimybės ištirti MP sudėtį, vadovautis vidutinėmis maistinių medžiagų vertėmis atsižvelgiant į naujagimio gestacinį amžių ir laktacijos trukmę (9 lentelė).

2. Donorinis MP turėtų būti antrojo pasirinkimo maistas sergančių ir neišnešiotų naujagimių maitinimui, kai trūksta nuosavos motinos pieno, nes MP paruošimas (pasterizacija) ir saugojimas (užšaldymas) reikšmingai nepakeičia MP maistinės vertės, oligosaraidų ir vandenyje tirpios metabolitų frakcijos.

3. Dėl cirkadinių MP maistinių medžiagų svyravimų skatinti naujagimių, kurie po gimimo nepriauga pakankamai svorio, dažnesnį žindymą dienos metu. Jei tokie naujagimiai yra maitinami ištrauktu MP, pirmenybę teikti dienos metu surinktam MP dėl jo didesnės maistinės ir energinės vertės.

4. Reikalingi tolesni tyrimai, kurie suteiktų žinių apie optimalius MP paėmimo, saugojimo, paruošimo ir praturtinimo būdus, taip pat – apie įvairaus gestacinio amžiaus naujagimius pagimdžiusių motinų pieno sudėtį vėlesniu laktacijos laikotarpiu. Gautos žinios leistų optimizuoti sergančių ir neišnešiotų naujagimių maitinimą, užtikrinti geresnę jų sveikatą ir kartu – gyvenimo kokybę.

LITERATŪROS SĄRAŠAS

1. Lönnerdal B. Bioactive proteins in breast milk. *J Paediatr Child Health*. 2013;49(Suppl. 1):1–7.
2. Ballard O, Morrow AL. Human milk composition: nutrients and bioactive factors. *Pediatr Clin North Am*. 2013;60:49–74.
3. Andreas NJ, Kampmann B, Mehring Le-Doare K. Human breast milk: a review on its composition and bioactivity. *Early Hum Dev*. 2015;91:629–35.
4. Fanos V. Metabolomics, milk-oriented microbiota (MOM) and multipotent stem cells: the future of research on breast milk. *J Pediatr Neonatal Individ Med*. 2015;4(1):e040115.
5. Fanos V, Pintus R, Reali A DA. Miracles and mysteries of breast milk: from Egyptians to the 3 M's (Metabolomics, Microbiomics, Multipotent stem cells). *J Pediatr Neonat Individ Med*. 2017;6(2):e060204.
6. Kaingade P, Somasundaram I, Nikam A, Behera P, Kulkarni S, Patel J. Breast milk cell components and its beneficial effects on neonates: Need for breast milk cell banking. *J Pediatr Neonatal Individ Med*. 2017;6(1):e060115.
7. Garwolińska D, Namieśnik J, Kot-Wasik A, Hewelt-Belka W. Chemistry of Human Breast Milk - A Comprehensive Review of the Composition and Role of Milk Metabolites in Child Development. *J Agric Food Chem*. 2018;66(45):11881–96.
8. American Academy of Pediatrics. Section on Breastfeeding. Breastfeeding and the use of human milk. *Pediatrics*. 2012;129(3):e827-41.
9. Corpeleijn WE, Kouwenhoven SMP, Paap MC, Van Vliet I, Scheerder I, Muizer Y, et al. Intake of own Mother's milk during the first days of life is associated with decreased morbidity and mortality in very low birth weight infants during the first 60 days of life. *Neonatology*. 2012;102(4):276–81.
10. Meinen-Derr J, Poindexter B, Wrage L, Morrow AL, Stoll B, Donovan EF. Role of human milk in extremely low birth weight infants' risk of necrotizing enterocolitis or death. *J Perinatol*. 2009;29(1):57–62.
11. Sullivan S, Schanler RJ, Kim JH, Patel AL, Trawöger R, Kiechl-Kohlendorfer U, et al. An Exclusively Human Milk-Based Diet Is Associated with a Lower Rate of Necrotizing Enterocolitis than a Diet of Human Milk and Bovine Milk-Based Products. *J Pediatr*. 2010;156(4):562–7.
12. Vohr BR, Poindexter BB, Dusick AM, McKinley LT, Wright LL, Langer JC, et al. Beneficial effects of breast milk in the neonatal intensive care unit on the developmental outcome of extremely low birth weight infants at 18 months of age. *Pediatrics*.

- 2006;118(1):e115-23.
13. Vohr BR, Poindexter BB, Dusick AM, McKinley LT, Higgins RD, Langer JC, et al. Persistent beneficial effects of breast milk ingested in the neonatal intensive care unit on outcomes of extremely low birth weight infants at 30 months of age. *Pediatrics*. 2007;120(4):e953-9.
 14. China Jiméñez B, Awad Parada Y, Villarino Marín A, Sáenz De Pipaón Marcos M. Short, medium and long-term benefits of human milk intake in very-low-birth-weight infants. *Nutr Hosp*. 2017;34(5):1059–66.
 15. Gidrewicz DA, Fenton TR. A systematic review and meta-analysis of the nutrient content of preterm and term breast milk. *BMC Pediatr*. 2014;14:216.
 16. Hsu YC, Chen CH, Lin MC, Tsai CR, Liang JT, Wang TM. Changes in preterm breast milk nutrient content in the first month. *Pediatr Neonatol*. 2014;55:449–54.
 17. Hollanders JJ, Kouwenhoven SMP, van der Voorn B, van Goudoever JB, Rotteveel J, Finken MJJ. The association between breastmilk glucocorticoid concentrations and macronutrient contents throughout the day. *Nutrients*. 2019;11(2):259.
 18. Moran-Lev H, Mimouni FB, Ovental A, Mangel L, Mandel D, Lubetzky R. Circadian macronutrients variations over the first 7 weeks of human milk feeding of preterm infants. *Breastfeed Med*. 2015;10(7):366–70.
 19. Hahn W-H, Song J-H, Song S, Kang NM. Do gender and birth height of infant affect calorie of human milk? An association study between human milk macronutrient and various birth factors. *J Matern Fetal Neonatal Med*. 2017;30(13):1608–12.
 20. Galante L, Milan A, Reynolds C, Cameron-Smith D, Vickers M, Pundir S. Sex-Specific Human Milk Composition: The Role of Infant Sex in Determining Early Life Nutrition. *Nutrients*. 2018;10(9):1194.
 21. van Sadelhoff J, van de Heijning B, Stahl B, Amodio S, Rings E, Mearin M, et al. Longitudinal Variation of Amino Acid Levels in Human Milk and Their Associations with Infant Gender. *Nutrients*. 2018;10(9):1233.
 22. Sinanoglou VJ, Cavouras D, Boutsikou T, Briana DD, Lantzouraki DZ, Paliatiou S, et al. Factors affecting human colostrum fatty acid profile: A case study. *PLoS One*. 2017;12(4):e0175817.
 23. Harzer G, Haug M, Dieterich I, Gentner PR. Changing patterns of human milk lipids in the course of the lactation and during the day. *Am J Clin Nutr*. 1983;37(4):612–21.
 24. Miliku K, Duan QL, Moraes TJ, Becker AB, Mandhane PJ, Turvey SE, et al. Human milk fatty acid composition is associated with dietary, genetic, sociodemographic, and environmental factors in the CHILD Cohort Study. *Am J Clin Nutr*. 2019;110(6):1370–83.

25. Etem Pişkin İ, Nur Karavar H, Araslı M, Ermiş B. Effect of maternal smoking on colostrum and breast milk cytokines. *Eur Cytokine Netw.* 2012;23(4):187–90.
26. Aumeistere L, Ciproviča I, Zavadska D, Andersons J, Volkovs V, Ceļmalniece K. Impact of Maternal Diet on Human Milk Composition Among Lactating Women in Latvia. *Medicina (B Aires).* 2019;55(5):173.
27. Gardner A, Rahman I, Lai C, Hepworth A, Trengove N, Hartmann P, et al. Changes in Fatty Acid Composition of Human Milk in Response to Cold-Like Symptoms in the Lactating Mother and Infant. *Nutrients.* 2017;9(9):1034.
28. Riskin A, Almog M, Peri R, Halasz K, Srugo I, Kessel A. Changes in immunomodulatory constituents of human milk in response to active infection in the nursing infant. *Pediatr Res.* 2012;71(2):220–5.
29. Adhisivam B, Vishnu Bhat B, Rao K, Kingsley SM, Plakkal N, Palanivel C. Effect of Holder pasteurization on macronutrients and immunoglobulin profile of pooled donor human milk. *J Matern Neonatal Med.* 2019;32(18):3016–9.
30. Bertino E, Peila C, Cresi F, Maggiora E, Sottemano S, Gazzolo D, et al. Donor Human Milk: Effects of Storage and Heat Treatment on Oxidative Stress Markers. *Front Pediatr.* 2018;6:253.
31. Arroyo G, Ortiz Barrientos KA, Lange K, Nave F, Miss Mas G, Lam Aguilar P, et al. Effect of the Various Steps in the Processing of Human Milk in the Concentrations of IgA, IgM, and Lactoferrin. *Breastfeed Med.* 2017;12(7):443–5.
32. Vieira AA, Soares FVM, Pimenta HP, Abranches AD, Moreira MEL. Analysis of the influence of pasteurization, freezing/thawing, and offer processes on human milk's macronutrient concentrations. *Early Hum Dev.* 2011;87:577–80.
33. Fanos V. Metabolomics, milk-oriented microbiota (MOM) and multipotent stem cells: the future of research on breast milk. *J Pediatr Neonat Indiv Med.* 2015;4(1):e040115.
34. Iacovidou N, Syggelou A, Chalkias A, Atzori L, Xanthos T, Fanos V. Metabolomics applied in neonatology. *Bioanalysis.* 2014;6(3):403–10.
35. Carraro S, Giordano G, Reniero F, Perilongo G, Baraldi E. Metabolomics: a new frontier for research in pediatrics. *J Pediatr.* 2009;154(5):638–44.
36. Agostoni C, Braegger C, Decsi T, Kolacek S, Koletzko B, Michaelsen KF, et al. Breast-Feeding: a commentary by the ESPGHAN Committee on Nutrition. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2009;49:112–25.
37. World Health Organization (WHO), United Nations Children's Fund (UNICEF). Implementation guidance [Internet]. Protecting, promoting and supporting breastfeeding in facilities providing

- maternity and newborn services – the revised Baby-friendly Hospital Initiative. 2018. Available from: <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/272943/9789241513807-eng.pdf?ua=1>
38. Arslanoglu S, Boquien CY, King C, Lamireau D, Tonetto P, Barnett D, et al. Fortification of human milk for preterm infants: update and recommendations of the European milk bank association (EMBA) working group on human milk fortification. *Front Pediatr*. 2019;7:76.
 39. Poulimeneas D, Bathrellou E, Antonogeorgos G, Mamalaki E, Kouvari M, Kuligowski J, et al. Feeding the preterm infant: an overview of the evidence. *Int J Food Sci Nutr*. 2021;72(1):4–13.
 40. Arslanoglu S, Corpeleijn W, Moro G, Braegger C, Campoy C, Colomb V, et al. Donor human milk for preterm infants: current evidence and research directions. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2013;57:535–42.
 41. Matthews E, Collins CT, Ellison V, Hussey L, Slade J, Keir A, et al. Top 10 research priorities for human milk banking and use of donor human milk: A partnership between parents and clinicians. *J Paediatr Child Health*. 2020;56(5):770–6.
 42. Rimantas Stukas, Roma Bartkevičiūtė, Arūnas Valiulis, Algis Abaravičius, Albertas Barzda GŠ. Influence of the levels of polychlorinated biphenyls in human milk on the health of Lithuanian breastfed infants. *Ekologija*. 2007;53(4):1–6.
 43. Becher G, Skaare JU, Polder A, Sletten B, Rossland OJ, Hansen HK, et al. PCDDs, PCDFs, and PCBs in human milk from different parts of Norway and Lithuania. *J Toxicol Environ Health*. 1995;46(2):133–48.
 44. Schneider N, Garcia-Rodenas CL. Early Nutritional Interventions for Brain and Cognitive Development in Preterm Infants: A Review of the Literature. *Nutrients*. 2017;9(3):E187.
 45. Visentin S. Micronutrients and neurodevelopment: An update. *Arch Argent Pediatr*. 2016;114(6):570–5.
 46. Ehrenkranz RA, Dusick AM, Vohr BR, Wright LL, Wrage LA, Poole WK. Growth in the neonatal intensive care unit influences neurodevelopmental and growth outcomes of extremely low birth weight infants. *Pediatrics*. 2006;117(4):1253–61.
 47. Schneider J, Fischer Fumeaux CJ, Duerden EG, Guo T, Foong J, Graz MB, et al. Nutrient Intake in the First Two Weeks of Life and Brain Growth in Preterm Neonates. *Pediatrics*. 2018;141(3):pii: e20172169.
 48. Victora CG, Bahl R, Barros AJD, França GVA, Horton S, Krasevec J, et al. Breastfeeding in the 21st century: epidemiology, mechanisms, and lifelong effect. *Lancet*. 2016;387(10017):475–90.
 49. Liao Y, Jiang R, Lönnerdal B. Biochemical and molecular impacts of lactoferrin on small intestinal growth and development during early

- life. *Biochem Cell Biol.* 2012;90(3):476–84.
50. Le Doare K, Holder B, Bassett A, Pannaraj PS. Mother’s Milk: A Purposeful Contribution to the Development of the Infant Microbiota and Immunity. *Front Immunol.* 2018;9:361.
 51. Brenmoehl J, Ohde D, Wirthgen E, Hoeflich A. Cytokines in milk and the role of TGF-beta. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab.* 2018;32(1):47–56.
 52. Matsumoto N, Yorifuji T, Nakamura K, Ikeda M, Tsukahara H, Doi H. Breastfeeding and risk of food allergy: A nationwide birth cohort in Japan. *Allergol Int.* 2019;69(1):91–7.
 53. Owen CG, Whincup PH, Kaye SJ, Martin RM, Davey Smith G, Cook DG, et al. Does initial breastfeeding lead to lower blood cholesterol in adult life? A quantitative review of the evidence. *Am J Clin Nutr.* 2008;88(2):305–14.
 54. Maayan-Metzger A, Avivi S, Schushan-Eisen I, Kuint J. Human milk versus formula feeding among preterm infants: short-term outcomes. *Am J Perinatol.* 2012;29(2):121–6.
 55. Villamor-Martínez E, Pierro M, Cavallaro G, Mosca F, Villamor E. Mother’s Own Milk and Bronchopulmonary Dysplasia: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Front Pediatr.* 2019;7:224.
 56. Huang J, Zhang L, Tang J, Shi J, Qu Y, Xiong T, et al. Human milk as a protective factor for bronchopulmonary dysplasia: a systematic review and meta-analysis. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed.* 2019;104(2):F128–36.
 57. Zhang S, Su F, Li J, Chen W. The Analgesic Effects of Maternal Milk Odor on Newborns: A Meta-Analysis. *Breastfeed Med.* 2018;13(5):327–34.
 58. Holmes AP, Schmidlin HN, Kurzum EN. Breastfeeding Considerations for Mothers of Infants with Neonatal Abstinence Syndrome. *Pharmacotherapy.* 2017;37(7):861–9.
 59. World Health Organization. The optimal duration of exclusive breastfeeding: report of an expert consultation. Geneva, Switzerland. 28-30 March. 2001; Available from: https://www.who.int/nutrition/publications/optimal_duration_of_exc_bfeeding_review_eng.pdf
 60. WHO/UNICEF Global Strategy for Infant and Young Child Feeding. World Health Organization: Geneva, Switzerland; 2003.
 61. Lippi D., Baldini M. Maternity in the Ancient Egypt. *Mater.* 2000;49–54.
 62. Moro GE. History of Milk Banking: From Origin to Present Time. *Breastfeed Med.* 2018;13(S1):S16–7.
 63. Baublys P, Neniškis J. *Motina ir vaikas.* Vilnius; 1958.
 64. Steponaitienė L, Baublys P. *Vaikas auga.* Vilnius; 1969.
 65. Baublys P. *Kodėl kūdikiui reikalingas motinos pienas? (lankstinukas).* Sanitarinio švietimo namai, Vilnius.

66. Vingraite J, Raugale A, Kadziauskine K, Michaelsen KF. Breast-feeding pattern and influencing factors in Lithuania. *Adv Exp Med Biol.* 2000;478:433–4.
67. Markūnienė E. Medicininiai, psichologiniai ir socialiniai kūdikių žindymo veiksniai. Daktaro disertacija. Kauno medicinos universitetas; 2003.
68. Vingraite J, Bartkeviciute R, Michaelsen KF. A cohort study of term infants from Vilnius, Lithuania: Feeding patterns. *Acta Paediatr.* 2004;93(10):1349–55.
69. Leviniene G, Tamulevičiene E, Kudzyte J, Petrauskiene A, Zaborskis A, Aželiene I, et al. Factors associated with breastfeeding duration. *Medicina (Lithuania).* 2013;49(9):415–21.
70. Sadauskaite-Kuehne VV, Ludvigsson J, Padaiga Ž, Jašinskiene E, Samuelsson U. Longer breastfeeding is an independent protective factor against development of type 1 diabetes mellitus in childhood. *Diabetes Metab Res Rev.* 2004;20(2):150–7.
71. Pundzius J, Fraumeno L. Žindymas ir medikamentai. *Medicina (Kaunas).* 2004;42(12):1035–45.
72. Petereit R. Motinos pieno oligosacharidai. *Lietuvos gydytojo žurnalas.* 2018;4:51–2.
73. Urbonas V, Navarackaitė I. Motinos pieno ypatumai. Ar motinos pienas sterilus? Vaikų alergologijos naujienos. 2016;32–8.
74. Pancekauskaitė G, Ivanauskienė V, Tamelienė R. Donorinio motinos pieno įtaka nekrozinio enterokolito dažniui Lietuvos sveikatos mokslų universiteto ligoninėje Kauno klinikose. *Lietuvos akušerija ir ginekologija.* 2018;196–200.
75. Pancekauskienė G, Tamelienė R, Ivanauskienė V, Stonkienė D, Vazgienė I, Sudikienė S, et al. Lietuvos sveikatos mokslų universiteto ligoninės Kauno klinikų Donorinio motinos pieno banko darbo rezultatai 2017–2019 m. *Lith Obstet Gynecol.* 2020;23(3):226–31.
76. Lawrence RA, Lawrence RM. Breastfeeding: a Guide for Medical Profession. 8th ed. 2016. 975 p.
77. Boix-Amorós A, Collado MC, Mira A. Relationship between milk microbiota, bacterial load, macronutrients, and human cells during lactation. *Front Microbiol.* 2016;7:492.
78. Hambraeus L. Proprietary milk versus human breast milk in infant feeding. A critical appraisal from the nutritional point of view. *Pediatr Clin North Am.* 1977;24(1):17–36.
79. Coppa G V, Gabrielli O, Pierani P, Catassi C, Carlucci A, Giorgi PL. Changes in carbohydrate composition in human milk over 4 months of lactation. *Pediatrics.* 1993;91(3):637–41.
80. Schanler R. Nutritional composition of human milk and preterm formula for the premature infant. In: AG Hoppin, editor. UpToDate [Internet]. 2018. Available from: <https://www.uptodate.com/contents/nutritional-composition-of->

- human-milk-and-preterm-formula-for-the-premature-infant?search=Nutritional composition of human milk and preterm formula for the premature infant
81. Bode L. Human milk oligosaccharides: Every baby needs a sugar mama. *Glycobiology*. 2012;22(9):1147–62.
 82. Tonon KM, de Morais MB, Abrão ACFV, Miranda A, Morais TB. Maternal and Infant Factors Associated with Human Milk Oligosaccharides Concentrations According to Secretor and Lewis Phenotypes. *Nutrients*. 2019;11(6):1358.
 83. Bode L. Human Milk Oligosaccharides: Structure and Functions. *Nestle Nutr Inst Workshop Ser*. 2020;94:1–9.
 84. Lewis ZT, Totten SM, Smilowitz JT, Popovic M, Parker E, Lemay DG, et al. Maternal fucosyltransferase 2 status affects the gut bifidobacterial communities of breastfed infants. *Microbiome*. 2015;3(1):13.
 85. Autran CA, Kellman BP, Kim JH, Asztalos E, Blood AB, Spence ECH, et al. Human milk oligosaccharide composition predicts risk of necrotising enterocolitis in preterm infants. *Gut*. 2018;67(6):1064–70.
 86. Dessì A, Briana D, Corbu S, Gavrili S, Marincola FC, Georgantzi S, et al. Metabolomics of breast milk: The importance of phenotypes. *Metabolites*. 2018;8(4):79.
 87. Miqdady M, Al Mistarihi J, Azaz A, Rawat D. Prebiotics in the Infant Microbiome: The Past, Present, and Future. *Pediatr Gastroenterol Hepatol Nutr*. 2020;23(1):1-14.
 88. Lis-Kuberka J, Orczyk-Pawiłowicz M. Sialylated oligosaccharides and glycoconjugates of human milk. The impact on infant and newborn protection, development and well-being. *Nutrients*. 2019;11(2):306.
 89. Donovan SM, Comstock SS. Human Milk Oligosaccharides Influence Neonatal Mucosal and Systemic Immunity. *Ann Nutr Metab*. 2016;69 Suppl 2(3):42–51.
 90. Ray C, Kerketta JA, Rao S, Patel S, Dutt S, Arora K, et al. Human Milk Oligosaccharides: The Journey Ahead. *Int J Pediatr*. 2019;2019:2390240.
 91. Delplanque B, Gibson R, Koletzko B, Lapillonne A, Strandvik B. Lipid Quality in Infant Nutrition: Current Knowledge and Future Opportunities. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2015;61(1):8–17.
 92. Koletzko B. Human milk lipids. *Ann Nutr Metab*. 2016;69(Suppl 2):28–40.
 93. Koletzko B, Agostoni C, Bergmann R, Ritzenthaler K, Shamir R. Physiological aspects of human milk lipids and implications for infant feeding: A workshop report. *Acta Paediatr Int J Paediatr*. 2011;100(11):1405–15.
 94. Krohn K, Demmelmair H, Koletzko B. Macronutrient requirements for growth: fats and fatty acids. In: Duggan C, Watkins J, Koletzko

- B, Walker W, editors. *Nutrition in Pediatrics*. 5th ed. Raleigh, People's Medical Publishing House; 2016.
95. Khan S, Hepworth AR, Prime DK, Lai CT, Trengove NJ, Hartmann PE. Variation in fat, lactose, and protein composition in breast milk over 24 hours: Associations with infant feeding patterns. *J Hum Lact*. 2013;29(1):81–9.
 96. Grote V, Verduci E, Scaglioni S, Vecchi F, Contarini G, Giovannini M, et al. Breast milk composition and infant nutrient intakes during the first 12 months of life. *Eur J Clin Nutr*. 2016;70(2):250–6.
 97. Keikha M, Bahreynian M, Saleki M, Kelishadi R. Macro- and Micronutrients of Human Milk Composition: Are They Related to Maternal Diet? A Comprehensive Systematic Review. *Breastfeed Med*. 2017;12(9):517–27.
 98. Michaelsen KF, Larsen PS, Thomsen BL, Samuelson G. The Copenhagen Cohort Study on Infant Nutrition and Growth: breast-milk intake, human milk macronutrient content, and influencing factors. *Am J Clin Nutr*. 1994;59(3):600–11.
 99. Jones E, Bell S, Shankar S. An audit of preterm nutritional intake using a human milk analyser. *Infant*. 2012;8(3):91–4.
 100. Tanaka K, Hosozawa M, Kudo N, Yoshikawa N, Hisata K, Shoji H, et al. The pilot study: Sphingomyelin-fortified milk has a positive association with the neurobehavioural development of very low birth weight infants during infancy, randomized control trial. *Brain Dev*. 2013;35(1):45–52.
 101. Isaacs CE, Litov RE, Thormar H. Antimicrobial activity of lipids added to human milk, infant formula, and bovine milk. *J Nutr Biochem*. 1995;6(7):362–6.
 102. Carlson SE, Werkman SH, Peeples JM, Cooke RJ, Tolley EA. Arachidonic acid status correlates with first year growth in preterm infants. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 1993;90(3):1073–7.
 103. Hadley KB, Ryan AS, Forsyth S, Gautier S, Salem N. The essentiality of arachidonic acid in infant development. *Nutrients*. 2016;8(4):216.
 104. Neuringer M, Anderson GJ, Connor WE. The essentiality of n-3 fatty acids for the development and function of the retina and brain. *Annu Rev Nutr*. 1988;8:517–41.
 105. Pallot C, Mazzocco J, Meillon C, Semama DS, Chantegret C, Ternoy N, et al. Alteration of erythrocyte membrane polyunsaturated fatty acids in preterm newborns with retinopathy of prematurity. *Sci Rep*. 2019;9(1):7930.
 106. Lee JH. Polyunsaturated fatty acids in children. *Pediatr Gastroenterol Hepatol Nutr*. 2013;16(3):153–61.
 107. Moltó-Puigmartí C, Castellote AI, Carbonell-Estrany X, López-Sabater MC. Differences in fat content and fatty acid proportions

- among colostrum, transitional, and mature milk from women delivering very preterm, preterm, and term infants. *Clin Nutr.* 2011;30(1):116–23.
108. Peng L, Li Z-R, Green RS, Holzman IR, Lin J. Butyrate enhances the intestinal barrier by facilitating tight junction assembly via activation of AMP-activated protein kinase in Caco-2 cell monolayers. *J Nutr.* 2009;139(9):1619–25.
 109. Haschke F, Haiden N, Thakkar SK. Nutritive and Bioactive Proteins in Breastmilk. *Ann Nutr Metab.* 2016;69(suppl 2):17–26.
 110. Lönnerdal B, Erdmann P, Thakkar SK, Sauser J, Destailats F. Longitudinal evolution of true protein, amino acids and bioactive proteins in breast milk: a developmental perspective. *J Nutr Biochem.* 2017;41:1–11.
 111. Lawrence RA, Lawrence RM. Synthesis of Human Milk. In: *Breastfeeding: a Guide for Medical Profession*, Eighth Edition. 2016. p. 79–83.
 112. Donovan SM. Human Milk Proteins: Composition and Physiological Significance. *Nestle Nutr Inst Workshop Ser.* 2019;90:93–101.
 113. Rai D, Adelman AS, Zhuang W, Rai GP, Boettcher J, Lönnerdal B. Longitudinal Changes in Lactoferrin Concentrations in Human Milk: A Global Systematic Review. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 2014;54(12):1539–47.
 114. Lönnerdal B. Nutritional and physiologic significance of human milk proteins. *Am J Clin Nutr.* 2003;77(6):1537S-1543S.
 115. Atkinson S, Lönnerdal B. Protein and Non-Protein Nitrogen in Human Milk [Internet]. 1st ed. CRC Press; 2019. 264 p. Available from: <https://www.taylorfrancis.com/books/9781000714623>
 116. Goldman AS, Garza C, Nichols BL, Goldblum RM. Immunologic factors in human milk during the first year of lactation. *J Pediatr.* 1982;100(4):563–7.
 117. Palmeira P, Carneiro-Sampaio M. Immunology of breast milk. *Rev Assoc Med Bras.* 2016;62(6):584–93.
 118. Liao Y, Weber D, Xu W, Durbin-Johnson BP, Phinney BS, Lönnerdal B. Absolute Quantification of Human Milk Caseins and the Whey/Casein Ratio during the First Year of Lactation. *J Proteome Res.* 2017;16(11):4113–21.
 119. Hernell O, Hansson L. Human milk k-casein and inhibition of helicobacter pylori adhesion to human gastric mucosa. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 1995;21(3):288–96.
 120. Lönnerdal B. Bioactive proteins in human milk—potential benefits for preterm infants. *Clin Perinatol.* 2017;44:179–91.
 121. Kvistgaard AS, Pallesen LT, Arias CF, López S, Petersen TE, Heegaard CW, et al. Inhibitory effects of human and bovine milk constituents on rotavirus infections. *J Dairy Sci.* 2004;87(12):4088–96.

122. Newburg DS, Peterson JA, Ruiz-Palacios GM, Matson DO, Morrow AL, Shults J, et al. Role of human-milk lactadherin in protection against symptomatic rotavirus infection. *Lancet*. 1998;351(9110):1160–4.
123. Erick M. Breast milk is conditionally perfect. *Med Hypotheses*. 2018;111:82–9.
124. Greer FR. Do breastfed infants need supplemental vitamins? *Pediatr Clin North Am*. 2001;48(2):415–23.
125. Ng E, Loewy AD. Guidelines for Vitamin K prophylaxis in newborns. *Paediatr Child Heal*. 2018;23(6):394–7.
126. Munns CF, Shaw N, Kiely M, Specker BL, Thacher TD, Ozono K, et al. Global Consensus Recommendations on Prevention and Management of Nutritional Rickets. *J Clin Endocrinol Metab*. 2016;101(2):394–415.
127. Domellöf M. Iron requirements, absorption and metabolism in infancy and childhood. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*. 2007;10(3):329–35.
128. Domellöf M. Meeting the Iron Needs of Low and Very Low Birth Weight Infants. *Ann Nutr Metab*. 2017;71(3):16–23.
129. Mulevičienė A. Kūdikų ir mažų vaikų mitybinių mažakraujysčių ryšys su sveikatos rodiklių ir išmatų mikrobiotos pokyčiais. *Daktaro disertacija*. Vilnius; 2018.
130. Domellöf M, Braegger C, Campoy C, Colomb V, Decsi T, Fewtrell M, et al. Iron requirements of infants and toddlers. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2014;58(1):119–29.
131. Sebastiani G, Barbero AH, Borrás-Novet C, Casanova MA, Aldecoa-Bilbao V, Andreu-Fernández V, et al. The effects of vegetarian and vegan diet during pregnancy on the health of mothers and offspring. *Nutrients*. 2019;11(3):557.
132. Carratù B, Boniglia C, Scalise F, Ambruzzi AM, Sanzini E. Nitrogenous components of human milk: Non-protein nitrogen, true protein and free amino acids. *Food Chem*. 2003;81(3):357–62.
133. Garofalo R. Cytokines in Human Milk. *J Pediatr*. 2010;156(2 Suppl.):S36–40.
134. Bardanzellu F, Fanos V, Reali A. Omics in human colostrum and mature milk: Looking to old data with new eyes. *Nutrients*. 2017;9(8):843.
135. Bardanzellu F, Peroni DG, Fanos V. Human Breast Milk: Bioactive Components, from Stem Cells to Health Outcomes. *Curr Nutr Rep*. 2020;9(1):1–13.
136. Pichiri G, Lanzano D, Piras M, Dessì A, Reali A, Puddu M, et al. Human breast milk stem cells : a new challenge for perinatologists. *J Pediatr Neonatal Individ Med*. 2016;5(1):e050120.
137. Witkowska-Zimny M, Kaminska-El-Hassan E. Cells of human breast milk. *Cell Mol Biol Lett*. 2017;22:11.

138. Cabinian A, Sinsimer D, Tang M, Zumba O, Mehta H, Toma A, et al. Transfer of maternal immune cells by breastfeeding: Maternal cytotoxic t lymphocytes present in breast milk localize in the peyer's patches of the nursed infant. *PLoS One*. 2016;11(6):e0156762.
139. Hassiotou F, Hepworth AR, Metzger P, Tat Lai C, Trengove N, Hartmann PE, et al. Maternal and infant infections stimulate a rapid leukocyte response in breastmilk. *Clin Transl Immunol*. 2013;2(4):e3.
140. Cregan MD, Fan Y, Appelbee A, Brown ML, Klopčič B, Koppen J, et al. Identification of nestin-positive putative mammary stem cells in human breastmilk. *Cell Tissue Res*. 2007;329(1):129–36.
141. Patki S, Kadam S, Chandra V, Bhonde R. Human breast milk is a rich source of multipotent mesenchymal stem cells. *Hum Cell*. 2010;23(2):35–40.
142. Reali A, Puddu M, Pintus MC, Marcialis MA, Pichiri G, Coni P, et al. Multipotent stem cells of mother's milk. *J Pediatr Neonatal Individ Med*. 2016;5(1):e050103.
143. Hosseini SM, Talaei-Khozani T, Sani M, Owrangi B. Differentiation of human breast-milk stem cells to neural stem cells and neurons. *Neurol Res Int*. 2014;2014:807896.
144. Briere CE, McGrath JM, Jensen T, Matson A, Finck C. Breast milk stem cells. *Adv Neonatal Care*. 2016;16(6):410–9.
145. Hunt KM, Foster JA, Forney LJ, Schütte UME, Beck DL, Abdo Z, et al. Characterization of the diversity and temporal stability of bacterial communities in human milk. *PLoS One*. 2011;6(6):e21313.
146. Cabrera-Rubio R, Collado MC, Laitinen K, Salminen S, Isolauri E, Mira A. The human milk microbiome changes over lactation and is shaped by maternal weight and mode of delivery. *Am J Clin Nutr*. 2012;96(3):544–51.
147. Drago L, Toscano M, De Grandi R, Grossi E, Padovani EM, Peroni DG. Microbiota network and mathematic microbe mutualism in colostrum and mature milk collected in two different geographic areas: Italy versus Burundi. *ISME J*. 2017;11(4):875–84.
148. Khodayar-Pardo P, Mira-Pascual L, Collado MC, Martínez-Costa C. Impact of lactation stage, gestational age and mode of delivery on breast milk microbiota. *J Perinatol*. 2014;34(8):599–605.
149. Fernández L, Langa S, Martín V, Maldonado A, Jiménez E, Martín R, et al. The human milk microbiota: Origin and potential roles in health and disease. *Pharmacol Res*. 2013;69(1):1–10.
150. Rescigno M, Urbano M, Valzasina B, Francolini M, Rotta G, Bonasio R, et al. Dendritic cells express tight junction proteins and penetrate gut epithelial monolayers to sample bacteria. *Nat Immunol*. 2001;2(4):361–7.
151. Biasini A, Monti F, Laguardia MC, Stella M, Marvulli L, Neri E. High protein intake in human/maternal milk fortification for ≤ 1250 gr infants: Intrahospital growth and neurodevelopmental outcome at two

- years. *Acta Biomed.* 2017;88(4):470–6.
152. Belfort MB, Ehrenkranz RA. Neurodevelopmental outcomes and nutritional strategies in very low birth weight infants. *Semin Fetal Neonatal Med.* 2017;22(1):42–8.
 153. Ong KK, Kennedy K, Castañeda-Gutiérrez E, Forsyth S, Godfrey KM, Koletzko B, et al. Postnatal growth in preterm infants and later health outcomes: A systematic review. *Acta Paediatr Int J Paediatr.* 2015;104(10):974–86.
 154. Bacchetta J, Harambat J, Dubourg L, Guy B, Liutkus A, Canterino I, et al. Both extrauterine and intrauterine growth restriction impair renal function in children born very preterm. *Kidney Int.* 2009;76(4):445–52.
 155. Coscia A, Bertino E, Tonetto P, Peila C, Cresi F, Arslanoglu S, et al. Nutritional adequacy of a novel human milk fortifier from donkey milk in feeding preterm infants: study protocol of a randomized controlled clinical trial. *Nutr J.* 2018;17(1):6.
 156. O'Connor DL, Kiss A, Tomlinson C, Bando N, Bayliss A, Campbell DM, et al. Nutrient enrichment of human milk with human and bovine milk-based fortifiers for infants born weighing <1250 g: A randomized clinical trial. *Am J Clin Nutr.* 2018;108(1):108–16.
 157. Hopperton KE, O'Connor DL, Bando N, Conway AM, Ng DVY, Kiss A, et al. Nutrient Enrichment of Human Milk with Human and Bovine Milk-Based Fortifiers for Infants Born <1250 g: 18-month Neurodevelopment Follow-up of a Randomized Clinical Trial. *Curr Dev Nutr.* 2019;3(12):nzz129.
 158. Kreissl A, Zwiauer V, Repa A, Binder C, Thanhaeuser M, Jilma B, et al. Human Milk Analyser shows that the lactation period affects protein levels in preterm breastmilk. *Acta Paediatr.* 2016;105(6):635–40.
 159. Mahajan S, Chawla D, Kaur J, Jain S. Macronutrients in breastmilk of mothers of preterm infants. *Indian Pediatr.* 2017;54(8):635–7.
 160. Yang T, Zhang L, Bao W, Rong S. Nutritional composition of breast milk in Chinese women: A systematic review. *Asia Pac J Clin Nutr.* 2018;27(3):491–502.
 161. Maly J, Burianova I, Vitkova V, Ticha E, Navratilova M, Cermakova E, et al. Preterm human milk macronutrient concentration is independent of gestational age at birth. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed.* 2019;104(1):F50–6.
 162. Chung MY. Factors affecting human milk composition. *Pediatr Neonatol.* 2014;55(6):421–2.
 163. Perrin MT, Fogleman AD, Newburg DS, Allen JC. A longitudinal study of human milk composition in the second year postpartum: implications for human milk banking. *Matern Child Nutr.* 2017;13(1):e12239.
 164. Sahin S, Ozdemir T, Katipoglu N, Akcan AB, Kaynak Turkmen M.

- Comparison of Changes in Breast Milk Macronutrient Content during the First Month in Preterm and Term Infants. *Breastfeed Med.* 2020;15(1):56–62.
165. Gabrielli O, Zampini L, Galeazzi T, Padella L, Santoro L, Peila C, et al. Preterm milk oligosaccharides during the first month of lactation. *Pediatrics.* 2011;128(6):e1520-31.
 166. Trend S, Strunk T, Lloyd ML, Kok CH, Metcalfe J, Geddes DT, et al. Levels of innate immune factors in preterm and term mothers' breast milk during the 1st month postpartum. *Br J Nutr.* 2016;115(7):1178–93.
 167. Fischer Fumeaux CJ, Garcia-Rodenas CL, De Castro CA, Courtet-Compondu M-C, Thakkar SK, Beauport L, et al. Longitudinal Analysis of Macronutrient Composition in Preterm and Term Human Milk: A Prospective Cohort Study. *Nutrients.* 2019;11(7):pii: E1525.
 168. Thakkar SK, Carlos Antonio De Castro, Beauport L, Tolsa JF, Fischer Fumeaux CJ, Affolter M, et al. Temporal progression of fatty acids in preterm and term human milk of mothers from Switzerland. *Nutrients.* 2019;11(1):112.
 169. Weber A, Loui A, Jochum F, Bühner C, Obladen M. Breast milk from mothers of very low birthweight infants: variability in fat and protein content. *Acta Paediatr.* 2001;90(7):772–5.
 170. Lubetzky R, Littner Y, Mimouni FB, Dollberg S, Mandel D. Circadian variations in fat content of expressed breast milk from mothers of preterm infants. *J Am Coll Nutr.* 2006;25(2):151–4.
 171. Lubetzky R, Mimouni FB, Dollberg S, Salomon M, Mandel D. Consistent circadian variations in creatinocrit over the first 7 weeks of lactation: a longitudinal study. *Breastfeed Med.* 2007;2(1):15–8.
 172. White RD. Circadian variation of breast milk components and implications for care. *Breastfeed Med.* 2017;12(7):398–400.
 173. Sánchez López CL, Hernández A, Rodríguez AB, Rivero M, Barriga C, Cubero J. Análisis del contenido en nitrógeno y proteínas de leche materna, día vs noche [Nitrogen and protein content analysis of human milk, diurnality vs nocturnality]. *Nutr Hosp.* 2011;26(3):511–4.
 174. Clark RM, Ross SA, Hill DW, Ferris AM. Within-day variation of taurine and other nitrogen substances in human milk. *J Dairy Sci.* 1987;70(4):776–80.
 175. Çetinkaya AK, Dizdar EA, Yarcı E, Sari FN, Oguz SS, Uras N, et al. Does circadian variation of mothers affect macronutrients of breast milk? *Am J Perinatol.* 2017;34(7):693–6.
 176. Sánchez CL, Cubero J, Sánchez J, Franco L, Rodríguez AB, Rivero M, et al. Evolution of the circadian profile of human milk amino acids during breastfeeding. *J Appl Biomed.* 2013;11(2):59–70.
 177. Pundir S, Wall CR, Mitchell CJ, Thorstensen EB, Lai CT, Geddes DT, et al. Variation of Human Milk Glucocorticoids over 24 hour

- Period. *J Mammary Gland Biol Neoplasia*. 2017;22(1):85–92.
178. van der Voorn B, de Waard M, van Goudoever JB, Rotteveel J, Heijboer AC, Finken MJ. Breast-Milk Cortisol and Cortisone Concentrations Follow the Diurnal Rhythm of Maternal Hypothalamus-Pituitary-Adrenal Axis Activity. *J Nutr*. 2016;146(11):2174–9.
 179. Katzer D, Pauli L, Mueller A, Reutter H, Reinsberg J, Fimmers R, et al. Melatonin Concentrations and Antioxidative Capacity of Human Breast Milk According to Gestational Age and the Time of Day. *J Hum Lact*. 2016;32(4):NP105–10.
 180. Hampel D, Shahab-Ferdows S, Islam MM, Peerson JM, Allen LH. Vitamin Concentrations in Human Milk Vary with Time within Feed, Circadian Rhythm, and Single-Dose Supplementation. *J Nutr*. 2017;147(4):603–11.
 181. Barkova EN, Nazarenko E V, Zhdanova E V. Diurnal variations in qualitative composition of breast milk in women with iron deficiency. *Bull Exp Biol Med*. 2005;140(4):394–6.
 182. Sánchez CL, Cubero J, Sánchez J, Chancelón B, Rivero M, Rodríguez AB, et al. The possible role of human milk nucleotides as sleep inducers. *Nutr Neurosci*. 2009;12(1):2–8.
 183. Weaver G, Bertino E, Gebauer C, Grovslie A, Mileusnic-Milenovic R, Arslanoglu S, et al. Recommendations for the establishment and operation of human milk banks in Europe: a consensus statement from the European Milk Bank Association (EMBA). *Front Pediatr*. 2019;7:53.
 184. Ireson D. Formula vs. Donor Breast Milk for Preterm or Low-Birth-Weight Infants. *Am J Nurs*. 2020;120(9):67.
 185. Moro GE, Billeaud C, Rachel B, Calvo J, Cavallarin L, Christen L, et al. Processing of donor human milk: Update and recommendations from the European Milk Bank Association (EMBA). *Front Pediatr*. 2019;7:49.
 186. Vass RA, Bell EF, Colaizy TT, Schmelzel ML, Johnson KJ, Walker JR, et al. Hormone levels in preterm and donor human milk before and after Holder pasteurization. *Pediatr Res*. 2020;88(4):612–7.
 187. Wesolowska A, Sinkiewicz-Darol E, Barbarska O, Bernatowicz-Lojko U, Borszewska-Kornacka MK, van Goudoever JB. Innovative techniques of processing human milk to preserve key components. *Nutrients*. 2019;11(5):1–17.
 188. Hahn W-H, Kim J, Song S, Park S, Kang NM. The human milk oligosaccharides are not affected by pasteurization and freeze-drying. *J Matern Fetal Neonatal Med*. 2019;32(6):985–91.
 189. Picaud JC, Buffin R. Human milk—treatment and quality of banked human milk. *Clin Perinatol*. 2017;44:95–119.
 190. Becker GE, Smith HA, Cooney F. Methods of milk expression for lactating women. *Cochrane Database Syst Rev [Internet]*. 2016;(9).

- Available from:
<http://doi.wiley.com/10.1002/14651858.CD006170.pub5>
191. Păduraru L, Dimitriu DC, Avasiloaiei AL, Moscalu M, Zonda GI, Stamatin M. Total antioxidant status in fresh and stored human milk from mothers of term and preterm neonates. *Pediatr Neonatol.* 2018;59(6):600–5.
 192. Orbach R, Mandel D, Mangel L, Marom R, Lubetzky R. The effect of deep freezing on human milk macronutrients content. *Breastfeed Med.* 2019;14:172–6.
 193. Păduraru L, Zonda GI, Avasiloaiei A-L, Moscalu M, Dimitriu DC, Stamatin M. Influence of refrigeration or freezing on human milk macronutrients and energy content in early lactation: results from a tertiary centre survey. *Paediatr Child Health.* 2019;24:250–7.
 194. Berkow SE, Freed LM, Hamosh M, Bitman J, Wood DL, Happ B, et al. Lipases and lipids in human milk: Effect of freeze–thawing and storage. *Pediatr Res.* 1984;18(12):1257–62.
 195. Cederholm U, Hjort C, Ewald U, Nilsson D, Polberger S, Stigson L, et al. Guidelines for use of human milk and milk handling in Sweden. 2016; Available from: <https://neo.barnlakarforeningen.se/wp-content/uploads/sites/14/2014/03/Guidelines-2017-English.pdf>
 196. Bitman J, Wood DL, Mehta NR, Hamosh P, Hamosh M. Lipolysis of triglycerides of human milk during storage at low temperatures: a note of caution. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 1983;2:521–4.
 197. Innis SM. Impact of maternal diet on human milk composition and neurological development of infants. *Am J Clin Nutr.* 2014;99(3):734S–41S.
 198. Bravi F, Wiens F, Decarli A, Dal Pont A, Agostoni C, Ferraroni M. Impact of maternal nutrition on breast-milk composition: A systematic review. *Am J Clin Nutr.* 2016;104(3):646–62.
 199. Hosseini M, Valizadeh E, Hosseini N, Khatibshahidi S, Raeisi S. The Role of Infant Sex on Human Milk Composition. *Breastfeed Med.* 2020;15(5):341–6.
 200. Baldeón ME, Zertuche F, Flores N, Fornasini M. Free amino acid content in human milk is associated with infant gender and weight gain during the first four months of lactation. *Nutrients.* 2019;11(9):2239.
 201. Fujita M, Roth E, Lo YJ, Hurst C, Vollner J, Kendell A. In poor families, mothers’ milk is richer for daughters than sons: A test of Trivers-Willard hypothesis in agropastoral settlements in Northern Kenya. *Am J Phys Anthropol.* 2012;149(1):52–9.
 202. Nommsen LA, Lovelady CA, Heinig MJ, Lönnerdal B, Dewey KG. Determinants of energy, protein, lipid, and lactose concentrations in human milk during the first 12 mo of lactation: The DARLING Study. *Am J Clin Nutr.* 1991;53(2):457–65.
 203. Dewey KG, Finley DA, Lönnerdal B. Breast milk volume and

- composition during late lactation (7-20 months). *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 1984;3(5):713–20.
204. Lubetzky R, Sever O, Mimouni FB, Mandel D. Human Milk Macronutrients Content: Effect of Advanced Maternal Age. *Breastfeed Med.* 2015;10(9):433–6.
205. Bachour P, Yafawi R, Jaber F, Choueiri E, Abdel-Razzak Z. Effects of smoking, mother's age, body mass index, and parity number on lipid, protein, and secretory immunoglobulin a concentrations of human milk. *Breastfeed Med.* 2012;7(3):179–88.
206. Burianova I, Bronsky J, Pavlikova M, Janota J, Maly J. Maternal body mass index, parity and smoking are associated with human milk macronutrient content after preterm delivery. *Early Hum Dev.* 2019;137:104832.
207. Moossavi S, Sepehri S, Robertson B, Bode L, Goruk S, Field CJ, et al. Composition and Variation of the Human Milk Microbiota Are Influenced by Maternal and Early-Life Factors. *Cell Host Microbe.* 2019;25(2):324-335.e4.
208. Azad MB, Robertson B, Atakora F, Becker AB, Subbarao P, Moraes TJ, et al. Human Milk Oligosaccharide Concentrations Are Associated with Multiple Fixed and Modifiable Maternal Characteristics, Environmental Factors, and Feeding Practices. *J Nutr.* 2018;148(11):1733–42.
209. Wu X, Jackson RT, Khan SA, Ahuja J, Pehrsson PR. Human milk nutrient composition in the United States: current knowledge, challenges, and research needs. *Curr Dev Nutr.* 2018;2(7):nzy025.
210. Boyce C, Watson M, Lazidis G, Reeve S, Dods K, Simmer K, et al. Preterm human milk composition: A systematic literature review. *Br J Nutr.* 2016;116(6):1033–45.
211. Butte N, Lopez-Alarcon M, Garza C. Nutrient adequacy of exclusive breastfeeding for the term infant during the first six months of life. Geneva: World Health Organization; 2002.
212. Du J, Gay MCL, Lai CT, Trengove RD, Hartmann PE, Geddes DT. Comparison of gravimetric, creamatocrit and esterified fatty acid methods for determination of total fat content in human milk. *Food Chem.* 2017;217:505–10.
213. Jensen RG. Lipids in human milk. *Lipids.* 1999 Dec;34(12):1243–71.
214. Ferris AM, Jensen RG. Lipids in human milk: a review. 1: Sampling, determination, and content. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 1984;3(1):108–22.
215. Jensen RG, Clark RM. Methods of lipid analysis. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 1984;3(2):296–9.
216. Newburg D, Neubauer S. Carbohydrates in milks: analysis, quantities, and significance. In: Jensen R, editor. *Handbook of milk composition.* San Diego: Academic Press; 1995.
217. Nichols BL. Atwater and USDA nutrition research and service: a

- prologue of the past century. *J Nutr.* 1994;124(9 Suppl):1718s-1727s.
218. Poitevin E. Official methods for the determination of minerals and trace elements in infant formula and milk products: A review. *J AOAC Int.* 2016;99(1):42–52.
 219. Menjo A, Mizuno K, Murase M, Nishida Y, Taki M, Itabashi K, et al. Bedside analysis of human milk for adjustable nutrition strategy. *Acta Paediatr Int J Paediatr.* 2009;98(2):380–4.
 220. Zhu M, Yang Z, Ren Y, Duan Y, Gao H, Liu B, et al. Comparison of macronutrient contents in human milk measured using mid-infrared human milk analyser in a field study vs. chemical reference methods. *Matern Child Nutr.* 2017;13(1):e12248.
 221. Fusch G, Rochow N, Choi A, Fusch S, Poeschl S, Ubah AO, et al. Rapid measurement of macronutrients in breast milk: How reliable are infrared milk analyzers? *Clin Nutr.* 2015;34(3):465–76.
 222. Marincola FC, Noto A, Caboni P, Reali A, Barberini L, Lussu M, et al. A metabolomic study of preterm human and formula milk by high resolution NMR and GC/MS analysis: Preliminary results. *J Matern Neonatal Med.* 2012;25(Suppl. 5):62–7.
 223. Weiss RH, Kim K. Metabolomics in the study of kidney diseases. *Nat Rev Nephrol.* 2011;8(1):22–33.
 224. Ten-doménech I, Ramos-garcia V, Piñeiro-ramos JD, Gormaz M, Parra-llorca A, Vento M, et al. Current practice in untargeted human milk metabolomics. *Metabolites.* 2020;10(2):1–17.
 225. Gay MCL, Koleva PT, Slupsky CM, du Toit E, Eggesbo M, Johnson CC, et al. Worldwide variation in human milk metabolome: Indicators of breast physiology and maternal lifestyle? *Nutrients.* 2018;10(9):1151.
 226. Gómez-Gallego C, Morales JM, Monleón D, du Toit E, Kumar H, Linderborg KM, et al. Human breast milk NMR metabolomic profile across specific geographical locations and its association with the milk microbiota. *Nutrients.* 2018;10(10).
 227. Isganaitis E, Venditti S, Matthews TJ, Lerin C, Demerath EW, Fields DA. Maternal obesity and the human milk metabolome: associations with infant body composition and postnatal weight gain. *Am J Clin Nutr.* 2019;110(1):111–20.
 228. Wen L, Wu Y, Yang Y, Han TL, Wang W, Fu H, et al. Gestational diabetes mellitus changes the metabolomes of human colostrum, transition milk and mature milk. *Med Sci Monit.* 2019;25:6128–52.
 229. Meng X, Dunsmore G, Koleva P, Elloumi Y, Wu RY, Sutton RT, et al. The Profile of Human Milk Metabolome, Cytokines, and Antibodies in Inflammatory Bowel Diseases Versus Healthy Mothers, and Potential Impact on the Newborn. *J Crohn's Colitis.* 2019;13(4):431–41.
 230. Qian L, Zhao A, Zhang Y, Chen T, Zeisel SH, Jia W, et al. Metabolomic approaches to explore chemical diversity of human

- breast-milk, formula milk and bovine milk. *Int J Mol Sci.* 2016;17(12):1–16.
231. Léké A, Grognet S, Deforceville M, Goudjil S, Chazal C, Kongolo G, et al. Macronutrient composition in human milk from mothers of preterm and term neonates is highly variable during the lactation period. *Clin Nutr Exp.* 2019;26:59–72.
232. Bauer J, Gerst J. Longitudinal analysis of macronutrients and minerals in human milk produced by mothers of preterm infants. *Clin Nutr.* 2011;30(2):215–20.
233. Beser Ozmen E, Okman E, Sari FN, Kucukoglu Keser M, Dizdar EA, Tayman C, et al. Comparison of the Macronutrient Content of Colostrum: Locals with Refugees. *Breastfeed Med.* 2020;15(7):453–7.
234. Casadio YS, Williams TM, Lai CT, Olsson SE, Hepworth AR, Hartmann PE. Evaluation of a mid-infrared analyzer for the determination of the macronutrient composition of human milk. *J Hum Lact.* 2010;26(4):376–83.
235. Silvestre D, Fraga M, Gormaz M, Torres E, Vento M. Comparison of mid-infrared transmission spectroscopy with biochemical methods for the determination of macronutrients in human milk. *Matern Child Nutr.* 2014;10(3):373–82.
236. Daly SE, Di Rosso A, Owens RA, Hartmann PE. Degree of breast emptying explains changes in the fat content, but not fatty acid composition, of human milk. *Exp Physiol.* 1993;78(6):741–55.
237. Prentice A, Prentice AM, Whitehead RG. Breast-milk fat concentrations of rural African women. 1. Short-term variations within individuals. *Br J Nutr.* 1981;45(3):483–94.
238. Jackson DA, Imong SM, Silprasert A, Ruckphaopunt S, Woolridge MW, Baum JD, et al. Circadian variation in fat concentration of breast-milk in a rural northern Thai population. *Br J Nutr.* 1988;59(3):349–63.
239. Peila C, Moro GE, Bertino E, Cavallarin L, Giribaldi M, Giuliani F, et al. The effect of Holder pasteurization on nutrients and biologically-active components in donor human milk: a review. *Nutrients.* 2016;8:1–19.
240. Buffin R, Hays S, Draï J, Sarda M-N, Picaud J-C. Better control of Holder pasteurization results in higher retention of human milk lactoferrin, IgA, and lysozyme. *Front Pediatr.* 2018;6:381.
241. García-Lara NR, Vieco DE, De la Cruz-Bértolo J, Lora-Pablos D, Velasco NU, Pallás-Alonso CR. Effect of Holder pasteurization and frozen storage on macronutrients and energy content of breast milk. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2013;57:377–82.
242. Fusch G, Kwan C, Kotrri G, Fusch C. “Bed side” human milk analysis in the neonatal intensive care unit: a systematic review. *Clin Perinatol.* 2017;44:209–67.

243. García-Lara NR, Escuder-Vieco D, García-Algar O, De la Cruz J, Lora D, Pallás-Alonso C. Effect of freezing time on macronutrients and energy content of breastmilk. *Breastfeed Med.* 2012;7:295–301.
244. Lamb RL, Haszard JJ, Little HMJ, Franks AF, Meeks MG. Macronutrient Composition of Donated Human Milk in a New Zealand Population. *J Hum Lact.* 2020 Oct 8;0890334420963666. doi: 10.1177/0890334420963666. Online ahead of print.
245. Montagne PM, Cuillière ML, Molé CM, Béné MC, Faure GC. Dynamics of the main immunologically and nutritionally available proteins of human milk during lactation. *J Food Compos Anal.* 2000;13:127–37.
246. Lönnerdal B, Erdmann P, Thakkar SK, Sauser J, Destailats F. Longitudinal evolution of true protein, amino acids and bioactive proteins in breast milk: a developmental perspective. *J Nutr Biochem.* 2017;41:1–11.
247. Chang J, Chen C, Fang L, Tsai C-R, Chang Y-C, Wang T-M. Influence of prolonged storage process, pasteurization, and heat treatment on biologically-active human milk proteins. *Pediatr Neonatol.* 2013;54:360–6.
248. Bertino E, Coppa G V, Giuliani F, Coscia A, Gabrielli O, Sabatino G, et al. Effects of Holder pasteurization on human milk oligosaccharides. *Int J Immunopathol Pharmacol.* 2008;21(2):381–5.
249. Morrow AL, Ruiz-Palacios GM, Altaye M, Jiang X, Guerrero ML, Meinen-Derr JK, et al. Human milk oligosaccharides are associated with protection against diarrhea in breast-fed infants. *J Pediatr.* 2004;145(3):297–303.
250. Sodhi CP, Wipf P, Yamaguchi Y, Fulton WB, Kovler M, Niño DF, et al. The human milk oligosaccharides 2'-fucosyllactose and 6'-sialyllactose protect against the development of necrotizing enterocolitis by inhibiting toll-like receptor 4 signaling. *Pediatr Res.* 2020 Mar 27;10.1038/s41390-020-0852–3. doi: 10.1038/s41390-020-0852-3. Online ahead of print.

PRIEDAI

1 priedas



VILNIAUS UNIVERSITETO MEDICINOS FAKULTETAS
Viešoji įstaiga, Universiteto g. 3, LT- 01513 Vilnius, tel. (8 5) 268 7001, faks. (8 5) 272 8646, el. p. infor@cr.vu.lt
Duomenys kaupiami ir saugomi Juridinių asmenų registre, kodas 211950810.
Fakulteto duomenys: M.K. Čiurlionio g. 21/27, LT-03101 Vilnius, tel. (8 5) 239 8701, (8 5) 239 7800, faks. (8 5) 239 8705,
el. p. mf@mf.vu.lt

VILNIAUS REGIONINIS BIOMEDICININIŲ TYRIMŲ ETIKOS KOMITETAS
M.K. Čiurlionio g. 21/27, LT-03101 Vilnius, tel. (8 5) 268 6998, el. p. rbtek@mf.vu.lt

LEIDIMAS ATLIKTI BIOMEDICININĮ TYRIMĄ

2017-09-12 Nr.158200-17-925-443

Tyrimo pavadinimas:

**Skirtingo gestacinio amžiaus naujagimių pagimdžiusių Lietuvos moterų
pieno sudėties ir ją įtakančių faktorių tyrimas**

Protokolo Nr.:	MPS - 2017
Versija:	04
Data:	2017-08-31
Informuoto asmens sutikimo forma:	04 2017-08-31
Pagrindinis tyrėjas:	Ieva Jūra Paulavičienė
Įstaigos pavadinimas:	Vaikų ligoninė, VšĮ VUL SK filialas
Adresas:	Santariškių g. 7, 08661 Vilnius
Leidimas galioja iki:	2020-05

Leidimas išduotas Vilniaus regioninio biomedicininų tyrimų etikos komiteto posėdžio (protokolas Nr. 158200-2017/09), vykusio 2017 m. rugsėjo 12 d. sprendimu.

Pirmininkas



Saulius Vosylius
Saulius Vosylius



VILNIAUS UNIVERSITETO
MEDICINOS FAKULTETAS
VILNIAUS REGIONINIS BIOMEDICININIŲ TYRIMŲ ETIKOS KOMITETAS

Biomedicininio tyrimo

2018-11-06 Nr.158200-17-925-PP1-107

„Skirtingo gestacinio amžiaus naujagimius
pagimdžiusių Lietuvos moterų pieno sudėties ir ją
įtakančių faktorių tyrimas“

pagrindinei tyrėjai Ievai Jūrai Paulavičienei

Dėl leidimo Nr. 158200-17-925-443 papildymo Nr. 1

PRITARIMAS

Vilniaus regioninis biomedicininų tyrimų etikos komitetas susipažino su Jūsų prašymu leisti keisti/papildyti biomedicininio tyrimo „Skirtingo gestacinio amžiaus naujagimius pagimdžiusių Lietuvos moterų pieno sudėties ir ją įtakančių faktorių tyrimas“, leidimą Nr. 158200-17-925-443, išduotą 2017-09-12 d.

Komiteto posėdžio, vykusio 2018 lapkričio 6 d. metu nutarta pritariti jūsų prašymui:

1. Vadovautis atnaujintu protokolu Nr. MPS-2017, versija Nr.05, data 2018-08-16.
2. Teikti atnaujintą Informuoto asmens sutikimo formą versija Nr. 05, data 2018-08-16

Pirmininkas



prof. dr. (HP) Saulius Vosylius

Viešoji įstaiga
Universiteto g. 3
01513 Vilnius

Duomenys kaupiami ir saugomi
Juridinių asmenų registre
Kodas 211950810

Fakulteto duomenys:
M. K. Čiurlionio g. 21/27, 03101 Vilnius
Tel. (8 5) 239 8700, el. p. mf@mf.vu.lt
www.mf.vu.lt

Komiteto duomenys:
M. K. Čiurlionio g. 21/27, 03101 Vilnius
Tel. (8 5) 268 6998, el. p. r betek@mf.vu.lt
www.mf.vu.lt/content/vr/betek/naujienos

PADĖKA

Noriu padėkoti visiems, kurie padėjo man rengiant disertaciją:

prof. dr. Vytautui Usoniui, mano doktorantūros darbo vadovui, kuris konsultavo tyrimų metodikos ir techniniais klausimais, padėjo spręsti iškilusius sunkumus, ketverius metus skatino nesustoti ir eiti pirmyn;

doc. dr. Arūnui Liubšiui, nestokojančiam vertingų naujų idėjų ir patarimų, kuris konsultavo tyrimų metodikos, duomenų sklaidos klausimais, aktyviai prisidėjo rengiant publikacijas, padėjo užmegzti kontaktus su užsienio mokslininkais, teikė psichologinę paramą, skatino nesustoti ir tikėjo šio darbo sėkme;

dr. Audronei Eidukaitei ir jos vadovaujamam Vaikų ligoninės laboratorijos personalui – šie žmonės geranoriškai sutiko bendradarbiauti atliekant motinos pieno biologškai aktyvių baltymų tyrimus;

Kaljario universiteto profesoriui Vassilios Fanos ir jo vadovaujamam personalui už bendradarbiavimą, motinos pieno metabolomo tyrimus ir gautų rezultatų analizę;

Vilniaus donorinio motinos pieno banko kolektyvui – gyd. L. Tamulienei bei slaugytojoms Giedrei Žukienei ir Vaidai Mickevičienei už geranorišką pagalbą paimant pieno mėginius, maistinių medžiagų analizę „Miris“ analizatoriumi ir kitą techninę pagalbą;

dr. Almai Molytei, kuri padėjo atlikti statistinę darbo duomenų analizę ir prisidėjo prie publikacijų rengimo;

prof. dr. Nijolei Drazdienei – savo pirmajai neonatologijos mokytojai, taip pat visam Neonatologijos centro kolektyvui, kurie mane mokė, dalijosi patirtimi ir įžvalgomis, padėjo tobulėti ir ištiesdavo pagalbos ranką visada, kai to prireikdavo;

Vaikų ligų klinikos darbuotojams, kurie skaitė rankraštį, diskutavo ir pateikė vertingų pastabų;

VUL SK Neonatologijos centre gydytų naujagimių motinoms, kurios geranoriškai sutiko dalyvauti tyrime – be jų nebūtų šio darbo rezultatų;

savo šeimai, kuri visada buvo šalia, palaikė ir tikėjo manimi, – jų meilė ir rūpestis padėjo įveikti šį kelią.

PUBLIKACIJOS DISERTACIJOS TEMA

1. Paulavičienė IJ, Liubšys A, Usonis V. Motinos pienas neišnešiotam naujagimiui: ar tik maistas, ar ir vaistas? Lietuvos akušerija ir ginekologija. 2017; 20 (4):278–85.
2. Paulavičienė IJ, Liubšys A, Molyte A, Eidukaite A, Usonis V. Circadian changes in the composition of human milk macronutrients depending on pregnancy duration: a cross-sectional study. *Int Breastfeed J.* 2020; 15 (1):49.
3. Paulavičienė IJ, Liubšys A, Eidukaite A, Molyte A, Tamulienė L, Usonis V. The Effect of Prolonged Freezing and Holder Pasteurisation on the Macronutrient and Bioactive Protein Compositions of Human Milk. *Breastfeed Med.* 2020; 15 (9):583–88.
4. Paulavičienė IJ, Liubšys A, Tamulienė L, Vaitkevičienė R, Molytė A, Usonis V. Laktacijos laikotarpis ir kiti veiksniai, turintys įtakos motinos pieno maistinių medžiagų sudėčiai. Lietuvos akušerija ir ginekologija 2020; 23(3): 232–39.

Darbo rezultatų sklaida

1. Tamulienė L, Paulavičienė IJ, Liubšys A. Just maternal milk for sick and premature babies: first experience of donor milk bank at Vilnius Perinatal Centre. Stendinis pranešimas IV tarptautiniame Europos pieno bankų asociacijos kongrese. Škotija, 2017.
2. Paulavičienė IJ, Liubšys A, Usonis V. Dynamics of human milk macronutrient composition during a 24-hour period. Žodinis pranešimas Vilniaus universiteto Medicinos fakulteto 4-ojoje tarptautinėje konferencijoje „Evoliucinė medicina: sveikata ir ligos besikeičiančioje aplinkoje“. Lietuva, 2018. Pranešimas apdovanotas geriausių trumpų žodinių pranešimų kategorijoje. Pranešimo santrauka publikuota žurnalo priede *Acta medica Lituanica* 2018 (25):70.
3. Paulavičienė I. Motinos pieno ir donorinio motinos pieno vertė neišnešiotam naujagimiui. Žodinis pranešimas nacionalinėje konferencijoje „Vaikų sveikatos aktualijos 2018. Sergančių vaikų maitinimas“. Lietuva, 2018.
4. Paulavičienė IJ, Liubšys A, Tamulienė L, Vaitkevičienė R, Gudaitienė R, Strupienė L, Usonis V. Using a human milk analyser in clinical practice: circadian changes of human milk composition. Žodinis pranešimas XIV Batijos šalių laboratorinės medicinos kongrese. Lietuva, 2018. Pranešimo santrauka publikuota žurnalo priede *Laboratorinė medicina* 2018 (20):S24.

5. Paulavičienė IJ, Liubšys A, Tamulienė L, Molytė A, Usonis V. Macronutrient Composition of Human Milk Depending On Different Gestational Age at Birth. Stendinis pranešimas 8-tajame Europos neonatologų ir perinatologų draugijų sąjungos (UENPS) kongrese. Rumunija, 2018. Pranešimo tezės publikuotos žurnale *Journal of Pediatric and Neonatal Individualized Medicine* 2018; 7 (2):4–5.

6. Tamulienė L, Paulavičienė I.J., Liubšys A. First – Year Experience of Donor Milk Bank at the Vilnius Perinatal Centre. Stendinis pranešimas 8-tajame Europos neonatologų ir perinatologų draugijų sąjungos (UENPS) kongrese. Rumunija, 2018. Pranešimo tezės publikuotos žurnale *Journal of Pediatric and Neonatal Individualized Medicine* 2018; 7 (2):12–3.

7. Paulavičienė IJ, Liubšys A, Usonis V. Circadian changes of human milk macronutrients composition depending on pregnancy duration. Stendinis pranešimas 4-ajame tarptautiniame Baltijos pediatrių kongrese ir Europos pediatrių akademijos (EAP/UEMS-SP) konferencijoje. Lietuva, 2019.

8. Paulavičienė I. Influence of Circadian Rhythm and Holder Pasteurization on Human Milk Composition. Žodinis pranešimas 4 – tajame tarptautiniame Baltijos pediatrių kongrese ir Europos pediatrių akademijos (EAP/UEMS-SP) konferencijoje. Lietuva, 2019m.

9. Paulavičienė IJ, Liubšys A, Vaitkevičienė R, Gudaitienė R, Usonis V. Does pregnancy duration or Holder pasteurization influence macronutrient or bioactive protein content in human milk? Stendinis pranešimas 3-jame jungtiniame Europos neonatologų draugijų (jENS) kongrese. Nyderlandai, 2019.

10. Paulavičienė IJ, Tamulienė L, Liubšys A, Usonis V. The influence of freezing and Holder pasteurisation on human milk composition. Stendinio pranešimo pristatymas 5-ajame tarptautiniame Europos pieno bankų asociacijos (EMBA) kongrese. Italija, 2019.

UŽRAŠAMS

Vilniaus universiteto leidykla
Saulėtekio al. 9, III rūmai, LT-10222 Vilnius
El. p.: info@leidykla.vu.lt, www.leidykla.vu.lt
Tiražas 15 egz.