

Oznaka poročila: ARRS-RPROJ-ZP-2014/5



ZAKLJUČNO POROČILO RAZISKOVALNEGA PROJEKTA

A. PODATKI O RAZISKOVALNEM PROJEKTU

1. Osnovni podatki o raziskovalnem projektu

Šifra projekta	J4-3606
Naslov projekta	Vloga humanega mleka v razvoju črevesne mikrobiote dojenčka
Vodja projekta	8857 Irena Rogelj
Tip projekta	J Temeljni projekt
Obseg raziskovalnih ur	7946
Cenovni razred	C
Trajanje projekta	05.2010 - 04.2013
Nosilna raziskovalna organizacija	481 Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta
Raziskovalne organizacije - soizvajalke	312 Univerzitetni klinični center Ljubljana
Raziskovalno področje po šifrantu ARRS	4 BIOTEHNIKA 4.02 Živalska produkcija in predelava
Družbeno-ekonomski cilj	07. Zdravje
Raziskovalno področje po šifrantu FOS	4 Kmetijske vede 4.02 Znanosti o živalih in mlekarstvu

B. REZULTATI IN DOSEŽKI RAZISKOVALNEGA PROJEKTA

2. Povzetek raziskovalnega projekta¹

SLO

Namen raziskave je bil pojasniti vlogo humanega mleka v razvoju otrokove črevesne mikrobiote, dodatno pa ugotoviti, kakšna je prehrana nosečih in doječih mam v Sloveniji. Komisija RS za medicinsko etiko je klinično študijo odobrila julija 2010, študijo pa smo registrirali tudi pri ClinicalTrials.gov (NCT01548313). V študijo smo do oktobra 2011 vključili 294 nosečnic iz treh slovenskih regij. Vse so sodelovale v raziskavi prehranskih navad, 185 udeleženk pa je bilo vključenih v poglobljeno študijo, v kateri smo jemali tudi biološke vzorce (kolostrum, mleko, mekonij, blato novorojencev in kri prostovoljk). Poglobljeno študijo je zaključilo 162 prostovoljk in njihovih otrok. Med raziskavo smo zbrali 118 vzorcev kolostruma, 96 vzorcev mekonija, 285 vzorcev mleka in 410 vzorcev blata otrok. Pri proučevanju prehrane smo posebno pozornost posvetili vplivu uživanja dolgotrajnih večkrat nenasičenih maščobnih kislin, probiotikov in prehranskih dopolnil na maščobno kislinsko sestavo mleka in mikrobioto

mleka ter blata novorojenčkov. Vsebnost dokozaheksaenojske kisline (DHK) v mleku je bila povezana zlasti z uživanjem morskih rib in prehranskih dopolnil z DHK. Uživanje prehranskih dopolnil ni bilo povezano niti s starostjo, niti z izobrazbo, niti z geografsko regijo. Nosečnice so v povprečju zaužile s prehrano in prehranskimi dopolnili 246 mg DHK/dan, kar je skladno s priporočili (vsaj 200 mg DHK/dan). Med bakterijskimi združbami v kolostrumu mam in v blatu 3 dni starih dojenčkov nismo ugotovili močnih statističnih povezav, so se pa pri posameznih parih mama-otrok pokazali podobni vzorci DGGE, kar kaže, da je že kolostrum vir bakterij, ki naselijo otrokova prebavila. Stafilokoki, klostridiji, enterobakterije, bifidobakterije in predstavniki skupine *Bacteroides-Prevotella*, ki smo jih redno zasledili v vzorcih kolostruma in mleka, so bili tudi običajni predstavniki mikrobiote blata. Podskupina 53 udeleženk (od 66 rekrutiranih) je zadnji mesec nosečnosti uživala pripravek s probiotičnim sevom *Lb. gasseri* K7, ali placebo. Analize mikrobiote kolostruma in mleka (30 dni), za večino skupin bakterij niso pokazale značilnih razlik v količini oziroma zastopanosti, smo pa ugotovili v probiotični skupini povečano število bakterij iz rodu *Lactobacillus* v kolostrumu, ter zmanjšano število *E. coli* v kolostrumu in mleku, kar kaže na vpliv uživanja probiotika na mikrobioto materinega kolostruma/mleka. Mehanizem endogenega prenosa probiotikov iz črevesa do mlečne žleze (MŽ) smo proučevali *in vitro*, na celičnem modelu, vpliv probiotikov na mikrobioto MŽ pa na mišjem modelu. V mezenteričnih limfnih vozlih in MŽ posameznih živali smo dokazali prisotnost živih probiotičnih bakterij in s tem možen endogeni prenos probiotikov. Globinsko sekvenciranje mikrobiomov vzorcev, pridobljenih od 13 parov mama/otrok je pokazalo, da se je mikrobiota v blatu kakor tudi v mleku s časom spreminjala. V blatu otrok v prvih 90 dneh življenja nismo opazili povečanja pestrosti mikrobiote.

ANG

The aim of this study was to investigate the role of human milk in the development of the child intestinal microbiota and, in addition, to establish the diet of pregnant and lactating mothers in Slovenia. The study was approved by the National Medical Ethics Committee in July 2010, and was registered at ClinicalTrials.gov (NCT01548313). Until October 2011, 294 pregnant women from three Slovenian regions were enrolled in the study. All participants were included in the survey of dietary habits, while 185 participants were included also in the detailed study, in which biological samples were also taken (colostrum, milk, meconium, faeces of newborns and blood of mothers). 162 volunteers and their children completed the detailed study. During the study we collected 118 samples of colostrum, 96 meconium samples, 285 milk samples and 410 samples of children's faeces. In the study of nutrition we paid particular attention to the impact of the consumption of long-chain polyunsaturated fatty acids, probiotics and food supplements on fatty acid composition of milk and on the microbiota of milk and faeces of newborns. The content of docosahexaenoic acid (DHA) in breast milk was associated with the consumption of marine fish and supplements with DHA. Consumption of supplements was not associated with age, education, or geographic region. Pregnant women consumed by diet and supplements on average 246 mg DHA/day, which is in accordance with recommendations (at least 200 mg DHA/day). We didn't find statistical association between the bacterial communities in the colostrum of mothers and faeces of 3-days-old infants however, the individual mother-child pairs showed similar DGGE patterns, suggesting that colostrum presents a source of bacteria that colonize the GIT of the child. Staphylococci, clostridia, enterobacteria, bifidobacteria and *Bacteroides - Prevotella*, regularly observed in samples of colostrum and milk, are also common representatives of the faecal microbiota. Subgroup of 53 women (from 66 recruited) consumed in the last month of pregnancy preparation with a probiotic strain *Lb. gasseri* K7 or placebo. Analysis of the microbiota of colostrum and milk (30 days) did not show significant differences in the quantity of bacterial groups but we found in the probiotic group increased number of lactobacilli in colostrum and reduced number of *E. coli* in colostrum and milk, which indicates the impact of probiotic on microbiota of mother's milk. The mechanism of endogenous transfer of probiotics from the gut to the mammary gland (MG) were studied *in vitro*, using cell model, and the effect of probiotics on the MG microbiota on the mouse model. We demonstrated the presence of live probiotic bacteria in the mesenteric lymph nodes and MG of individual animals and thus a possible endogenous transfer of probiotics. Deep sequencing of microbiom of samples obtained from 13 mother/child pairs showed that the microbiota in the faeces as well as in the milk changed during time but we didn't observe the increase of the faecal microbiota diversity during the first 90 days of life.

3. Poročilo o realizaciji predloženega programa dela na raziskovalnem projektu²

Glavni cilj predlagane raziskave je bil pojasniti vlogo humanega mleka v začetnem razvoju otrokove črevesne mikrobiote dodatni pa ugotoviti, kakšna je prehrana nosečih in doječih mam v Sloveniji. Z raziskavami smo preverjali sledeče raziskovalne hipoteze: a) zaradi različnih prehranskih navad bodo med regijami opazne razlike v mikrobioti humanega mleka in v količini ter sestavi dolgo verižnih VNMK; b) uživanje probiotikov in VNMK med nosečnostjo vpliva na mikrobioto in maščobno-kislinsko sestavo mleka; c) mikrobiota mleka zdravih mater in fekalna mikrobiota dojenih otrok vsebujeta

bakteriocinogene seve; d) probiotične bakterije lahko prehajajo v mlečno žlezo po endogeni poti; e) polifazni pristop k študiji črevesne mikrobiote otrok omogoča opis populacije bakterij, ki naseljujejo kolostrum, mekonij, mleko in blato novorojencev. Komisija republike Slovenije za medicinsko etiko je klinično študijo odobrila julija 2010, študijo pa smo registrirali tudi pri ClinicalTrials.gov (NCT01548313). Od decembra 2010 do oktobra 2012 smo v študijo vključili 294 nosečnic iz treh slovenskih regij (Ljubljana, Maribor, Nova Gorica/Izola). Vključevanje je potekalo s pomočjo pripravljenih letakov, ki so bili na voljo v ginekoloških centrih, na tečajih šole za starše, ki so potekali v porodnišnicah in preko spletne strani (www.moje-mleko.si), ki smo jo pripravili v začetni fazi projekta. O raziskavi smo javnost obveščali tudi preko izobraževalnih poljudnih člankov.

Vse udeleženske so sodelovale v raziskavi prehranskih navad, ki smo jih ugotavljali s pomočjo vprašalnikov o pogostosti uživanja živil (FFQ = Food frequency questionnaire) pred nosečnostjo, med nosečnostjo in med dojenjem, 185 udeleženk pa je bilo vključenih v poglobljeno študijo, v kateri smo ugotavljali trenutno prehrano (4-dnevni tehtani prehranski dnevnik; p4-PD), jemali biološke vzorce (kolostrum, mleko, mekonij, blato novorojencev in kri prostovoljk) ter spremljali razvoj in zdravstveno stanje njihovih otrok. Celotna shema raziskave je prikazana v priponki (Timetable figure).

Od 294 vključenih nosečnic jih je med študijo odstopilo 23 (8 %), predvsem zaradi zdravstvenih zapletov med nosečnostjo ali pri otroku. Poglobljeno študijo je zaključilo 162 prostovoljk in njihovih otrok. Med raziskavo smo zbrali 133 vzorcev krvnega seruma za analize vitamina D, 154 vzorcev krvne plazme za analize maščobnokislinske sestave, 118 vzorcev kolostruma, 96 vzorcev mekonija, 285 vzorcev mleka in 410 vzorcev blata otrok. Udeleženske raziskave so bile stare med 19,7 in 43 let, 72,8 % med 25 in 34 let, kar 77,9 % jih je imelo vsaj višjo izobrazbo, indeks telesne mase (ITM) udeleženk pred nosečnostjo je bil od 16,5 – 38,9, v 27.-34. tednu nosečnosti pa od 19,7 – 43,0. Rodilo se je 86 dečkov in 81 deklic, pri povprečni gestacijski starosti 39,1 teden (12 nedonošenčkov), s povprečno porodno težo 3308,7 g (11 otrok med 1500 – 2499 g). Z vaginalnim porodom se je rodilo 80 % in s carskim rezom 20 % otrok. V prvem mesecu življenja je bilo izključno dojenih 73 % dojenčkov, v prvih treh mesecih pa 68 %. Do prvega leta starosti se je delno dojilo še 42 % dojenčkov.

Določanje trenutnega prehranskega vnosa z metodo p4-PD je zamudno in neprijazno tako za prostovoljke, kot za raziskovalce pri obdelavi podatkov. Zato smo želeli metodo nadgraditi in posodobiti. V ta namen smo testirali uporabo nemškega računalniškega programa (Prodi 5.7 Expert Plus, Nutri-Science, Stuttgart, Nemčija, 2011) in slovenske spletne aplikacije, za ovrednotenje prehranskega vnosa (Odprta platforma za klinično prehrano, OPKP, <http://opkp.si>) ter možnost zamenjave prehranskih zapisov v papirni obliki (p4-PD) s spletnimi aplikacijami (Web-PD). Ugotovili smo visoko korelacijo tako med p-PD in Web-PD, kot tudi med ovrednotenjem prehranskih dnevnikov s spletno aplikacijo in računalniškim programom, kar je pomemben rezultat – možnost aplikacije pri načrtovanju prehrane in svetovanju.

Pri proučevanju vpliva prehrane smo se osredotočili na vpliv uživanja dolgoveriznih večkrat nenasičenih maščobnih kislin (VNMK), probiotikov in prehranskih dopolnil na maščobno kislinsko sestavo mleka (30 dni po porodu) in mikrobioto mleka ter blata novorojenčkov. Povprečna vsebnost dokozaheksaenojske kisline (C22:6n-3, DHK) v zrelem mleku je bila 0.26 (\pm 0.15) ut.%. Vsebnost DHK v mleku je variirala v odvisnosti od prehrane, zlasti v povezavi z uživanjem morskih rib in prehranskih dopolnil z DHK. V času pred nosečnostjo je 68.9 % prostovoljk v anketni list zapisalo, da zaužijejo vsaj eno porcijo rib ali ribjih izdelkov na teden, v času nosečnosti pa 62.3 %. S pomočjo OPKP

izračunan vnos DHK iz morskih rib je bil višji pred nosečnostjo kot med nosečnostjo (srednja vrednost 194,9 in 165,4 mg DHK/dan; $p < 0,05$). Nosečnice so v povprečju zaužile 80.8 mg DHK/dan s prehranskimi dopolnili. Tekom nosečnosti je 94.7 % prostovoljk poročalo o uživanju enega ali več prehranskih dopolnil. Uživanje prehranskih dopolnil ni bilo povezano niti s starostjo, niti z izobrazbo, niti z geografsko regijo. Najpogosteje zaužita prehranska dopolnila so bila multivitaminska prehranska dopolnila (94.4%), folna kislina (91.7%) in prehranska dopolnila z n-3 maščobnimi kisljinami kamor štejemo tudi DHK (35.9%). Nosečnice so v povprečju zaužile s prehrano in prehranskimi dopolnili 246.2 mg DHK/dan, kar je skladno s priporočili (vsaj 200 mg DHK/dan). Na koncentracijo DHK v humanem mleku je vplivala tako prehrana pred nosečnostjo (Spearman's rho = 0.261), nekoliko manj prehrana med nosečnostjo (Spearman's rho = 0.170) in prehrana tekom dojenja (Spearman's rho = 0.406). Na koncentracijo DHK v mleku pa je pomembno vplivalo tudi uživanje prehranskih dopolnil tekom nosečnosti (Spearman's rho = 0.297) in dojenja (Spearman's rho = 0.377). Vzajemni učinek prehrane in prehranskih dopolnil se je izkazal za najvišjega tekom dojenja (Spearman's rho = 0.600).

Pri proučevanju morebitnih povezav med mikrobioto materinega mleka in fekalno mikrobioto otroka, smo se usmerili najprej v iskanje povezav med mikrobioto kolostruma in blata, odvzetega po treh dneh. V ta namen smo v mikrobiomu kolostruma in blata po treh dneh kvantificirali s PCR v realnem času 14 različnih bakterijskih skupin, bakterijsko DNA pa smo analizirali tudi z metodo DGGE. Med bakterijskimi združbami v kolostrumu mam in blatu njihovih 3 dni starih dojenčkov nismo ugotovili močnih statističnih povezav niti s PCR v realnem času niti z analizo profilov DGGE. So se pa pri posameznih parih mama-otrok pokazali podobni vzorci DGGE, kar kaže, da je že kolostrum vir bakterij, ki naselijo otrokova prebavila. Stafilokoki, klostridiji, enterobakterije, bifidobakterije in predstavniki skupine *Bacteroides-Prevotella*, ki smo jih redno zasledili v vzorcih kolostruma in mleka, so bili tudi običajni predstavniki mikrobiote blata. Posebej dobro so bile v kolostrumu zastopane enterobakterije (100 %-v vseh vzorcih), *Clostridium* cluster XIV (95.6 %), skupina *Bacteroides-Prevotella* (62.2 %) in *Bifidobacterium* (53.3 %), čeprav v majhnih koncentracijah.

V bakterijski mikrobioti so prevladovali *Bacilli*- streptococci in staphylococci, ki smo jih običajno zasledili tudi v blatu otrok. Izpostaviti velja tudi *Staphylococcus epidermidis*, v mleku in blatu (qPCR, DGGE). V posameznih vzorcih kolostruma smo zasledili genske determinante za bakteriocine salivaricin A, B, streptin in citolizin, kar kaže na to, da so bakteriocinogeni sevi prisotni v mikrobioti kolostruma in zelo verjetno tudi mleka, preko mleka pa lahko preidejo v otrokova prebavila.

Podskupina 54 udeleženk od 66 rekrutiranih je zadnji mesec nosečnosti uživala probiotični pripravek, ki je vseboval naš lastni probiotični sev *Lb. gasseri* K7, ali placebo. Analize mikrobiote kolostruma in mleka (30 dni), s konvencionalno metodo štetja in z metodo PCR v realnem času, za večino skupin niso pokazale značilnih razlik v številu oziroma zastopanosti, smo pa ugotovili v probiotični skupini povečano število kolonijskih enot (ke) bakterij iz rodu *Lactobacillus* v kolostrumu, kamor sodi tudi probiotični sev K7, ter zmanjšano število ke *E. coli* v kolostrumu in mleku odvzetem 30 dni po porodu, kar kaže na določene učinke uživanja probiotika na mikrobioto materinega kolostruma/mleka. Mehanizem endogenega prenosa probiotikov iz črevesa do mlečne žleze (MŽ) smo proučevali *in vitro*, na celičnem modelu, vpliv probiotikov na mikrobioto MŽ pa na mišjem modelu z aplikacijo probiotičnih sevov *Lb. gasseri* K7 (LK7) in *Lb. rhamnosus* GG (LGG). V mezenteričnih limfnih vozlih in MŽ posameznih živali smo dokazali prisotnost živih probiotičnih bakterij in s tem možen endogeni prenos probiotikov. Iz zrelega mleka (30 dni) smo izolirali bifidobakterije in MKB in pri

posameznih izolatih opravili gensko karakterizacijo. Genotipizacija z metodo RAPD 86-ih izolatov mlečnokislinskih bakterij s poudarkom na laktobacilih je pokazala, da so pripadali 11 skupinam. Predstavnike teh skupin smo identificirali kot *Lb. fermentum* (48 % izolatov), *Lb. gasseri* (21 % izolatov), *Lb. salivarius*, *Lb. reuteri*, *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus epidermidis* in *Bifidobacterium breve*. To so zanimivi kandidati za probiotike.

Globinsko sekvenciranje mikrobiomov vzorcev, pridobljenih od 13 parov mama/otrok je pokazalo, da se je mikrobiota v blatu (upoštevajoč tudi mekonij) kakor tudi v mleku (upoštevajoč tudi kolostrum) s časom spreminjala. V kolostrumu/mleku je bilo spreminjanje naključno. Pri mekoniju/blatu pa je bilo mogoče zaslediti tudi manj naključno spreminjanje, predvsem v smeri povečevanja deleža bifidobakterij, ki jih na začetku v večini vzorcev skoraj ni bilo. Ugotovili smo velike razlike med posameznimi otroki. Dva otroka sta izstopala po višji vsebnosti bifidobakterij, ki so bile ugotovljene že v mekoniju; prevladovala je vrsta *B. breve* oz. *B. longum* (zaradi podobnosti v nukleotidnih zaporedjih 16S rDNA pri obeh vrstah obeh ni mogoče trditi, za katero od vrst gre). Gruč, ki bi se ohranile ves čas, ni bilo opaziti, ne pri mleku ne pri blatu, ampak so se le-te s časom spreminjale. V blatu otroka v prvih 90 dneh življenja nismo opazili bistvenega povečevanja pestrosti mikrobiote. V blatu smo odkrili od 10-50 OTU (operacijskih taksonomskih enot), v mleku pa 20-70. Upoštevati moramo, da je neposredne primerjava pestrosti v mleku in blatu zaradi narave teh podatkov lahko zavajajoča – namreč, zaradi veliko manjše koncentracije bakterij oziroma njihove DNA v mleku pridejo lahko pridejo bolj do izraza tudi tiste OTU, ki so prisotne v sledovih (kontaminanti), kar pa zabriše pravo pestrost. Pri določenih posameznikih se kaže povezava med prisotnostjo bifidobakterij v mekoniju in/ali blatu na začetku ter večjimi koncentracijami tega rodu tudi kasneje. Podobno se je pokazalo v določenih primerih tudi za vrsto *Enterococcus faecalis*. DNA drugih bakterijskih skupin, kot npr. *Streptococcus salivarius* pa se je pojavljala bolj naključno. Primerjava DNA iz vzorcev materinega mleka in blata njenega otroka, odvzetih ob istem času, je pokazala, da je v blatu prisotna DNA istih skupin mikroorganizmov kot v mleku, vendar v majhnih deležih in samo ob tistem vzorčenju.

Pri načrtovanju raziskave, metodoloških pristopih in načrtovanju statističnih analiz so sodelovali Prof. dr. Juan Miguel Rodríguez (Universidad Complutense de Madrid, Spain), prof. dr. Berthold Koletzko, pediater specialist in predstojnik Oddelka za presnovo in prehransko medicino (Dr. von Hauner Children's Hospital, München, Germany) ter dr. med. dr. Eric Ding (Harvard Medical School iz Bostona, ZDA). Vsi so predavali tudi na simpoziju »Moje-mleko«, ki smo organizirali v okviru projekta. Sodelavo nadaljujemo pri pripravi bodočih publikacij oziroma prijavah projektov. V sodelovanju s Parque Científico de Madrid je bilo opravljeno metagenomsko sekvenciranje izbranih vzorcev (tehnologija Illumina), v sodelovanju z Era7 Information Technologies, Granada, Španija, pa bioinformacijska analiza rezultatov metagenomskega sekvenciranja kolostruma, mekonija, mleka in blata.

4. Ocena stopnje realizacije programa dela na raziskovalnem projektu in zastavljenih raziskovalnih ciljev³

Zastavljeni program smo realizirali, poleg tega pa celo znatno razširili. Uspešno vključevanje prostovoljk in izjemno zanimanje za raziskavo tako s strani prostovoljk kot medicinskega osebja, ki smo ga zaradi narave projekta morali vključevati v raziskavo (šole za starše – vključevanje prostovoljk; osebje v porodnišnicah – zbiranje vzorcev mekonija in kolostruma; pediatri in študenti prostovoljci, antropologi), smo poleg načrtovanih študij jemali vzorce krvi prostovoljk za ugotavljanje oskrbljenosti z vit D in maščobnokislinske slike, opravili antropometrične meritve in ultrazvočno merjenje kostne gostote pri materah in otrocih (dobili dodatno privoljenje Etične komisije) in spremljali zdravstveno stanje otrok do prvega leta starosti. Zaradi množice podatkov, ki smo jih pridobili, celotna statistična obdelava še ni opravljena, realizirani pa so zastavljeni cilji in 4 od 5-ih raziskovalnih hipotez. Prve hipoteze (zaradi različnih prehranskih navad bodo med regijami opazne razlike v mikrobioti humanega mleka in v količini ter sestavi dolgo verižnih VNMK) ne moremo niti potrditi niti zavrniti, saj smo biološke vzorce zbirali samo v ljubljanski regiji (sprememba utemeljena v naslednjem poglavju), lahko pa iz rezultatov zaključimo, da se slovenske nosečnice in doječe matere v povprečju prehranjujejo v skladu s priporočili, vključno z uživanjem primernih prehranskih dopolnil, ki ni bilo povezano niti s starostjo, niti z izobrazbo, niti z geografsko regijo. Poudariti pa moramo, da vzorec iz vidika stopnje izobrazbe ni bil reprezentativen za Slovenijo, saj je imelo kar 77,9 % prostovoljk vsaj višjo izobrazbo. Potrdili smo: 2. hipotezo, da uživanje VNMK pred in med nosečnostjo vpliva na maščobno-kislinsko sestavo mleka, uživanje specifičnih probiotikov pa na mikrobioto mleka, saj smo pri probiotični skupini prostovoljk določili povečano število bakterij iz rodu *Lactobacillus* v kolostrumu ter zmanjšano število *E. coli* v kolostrumu in mleku; 3. hipotezo, da mikrobiota mleka zdravih mater in posledično fekalna mikrobiota dojenih otrok vsebujeta bakteriocinogene seve, saj smo v vzorcih kolostruma zasledili genske determinante za bakteriocine salivarin A, B, streptin in citolizin; 4. hipotezo,

da probiotične bakterije lahko prehajajo v mlečno žlezo po endogeni poti (in vitro in na mišjem modelu); 5. hipotezo, da polifazni pristop k študiji črevesne mikrobiote otrok omogoča opis populacije bakterij, ki naseljujejo kolostrum, mekonij, mleko in blato novorojencev, saj je, poleg drugih rezultatov, globinsko sekvenciranje mikrobiomov vzorcev, pridobljenih od 13 parov mama/otrok jasno pokazalo, da se je mikrobiota v blatu (upoštevajoč tudi mekonij) kakor tudi v mleku (upoštevajoč tudi kolostrum) s časom spreminjala, v mleku bolj naključno, v blatu pa predvsem v smeri povečevanja deleža bifidobakterij, ki jih na začetku v večini vzorcev skoraj ni bilo.

5. Utemeljitev morebitnih sprememb programa raziskovalnega projekta oziroma sprememb, povečanja ali zmanjšanja sestave projektne skupine⁴

V sklopu proučevanje maščobno-kislinske in mikrobne sestave humanega mleka ter črevesne mikrobiote otrok je bilo predvideno, da iz vsake regije naključno izberemo 40 mam. Zaradi nepremostljivih tehničnih ovir in visokih stroškov pri organiziranju zbiranja vzorcev iz različnih regij smo ta sklop raziskav izvedli le na osebkih pretežno iz centralno-slovenske regije (171 iz ljubljanske regije, 10 iz mariborske regije, 4 iz primorske regije), pri čemer pa smo število prostovoljk, predvidenih za ta sklop raziskave, povečali, saj smo presodili, da bo to za raziskavo koristno.

Del zbranih bioloških vzorcev smo analizirali tudi s pomočjo sekvenciranja nove generacije, ki daje vpogled v celotni mikrobiom vzorcev kolostruma, mekonija, blata ali mleka. Take metagenomske analize zahtevajo kompleksnejšo bioinformacijsko analizo, zaradi česar so objave šele v pripravi oziroma v postopku recenzije. Ker so tovrstne analize povezane z velikimi stroški, smo se pri ostalih molekularnih analizah (kvantitativna PCR) v času trajanja projekta skoncentrirali v prvi vrsti na analize kolostruma, mekonija in blata po treh dneh, saj je v literaturi prav na to tematiko najmanj objavljenih rezultatov.

6. Najpomembnejši znanstveni rezultati projektne skupine⁵

Znanstveni dosežek		
1.	COBISS ID	3303048
		Vir: COBISS.SI
	Naslov	SLO Povezava med tipom prehrane in mikrobioto blata vegetarijancev in omnivorov v Sloveniji
		ANG Association of dietary type with fecal microbiota in vegetarians and omnivores in Slovenia
Opis	SLO	Čeprav je splošno znano, da prehrana vpliva na mikrobioto prebavil, je zelo težko dokazati povezavo med posameznimi sestavinami hrane ali prehranskimi vzorci in sestavo mikrobiote. V predstavljenem delu nam je uspelo dokazati razlike v sestavi mikrobiote blata vegetarijancev in omnivorov v Sloveniji. Vegetarijanska prehrana je bila povezana z višjim deležem Bacteroides-Prevotella, Bacteroides thetaiotaomicron, Clostridium clostridioforme and Faecalibacterium prausnitzii in nižjim deležem Clostridium klastra XIVa. Uživanje hrane živalskega izvora in vegetarijanske prehrane je pojasnilo največji del variance v sestavi mikrobiote. Ker so bile med nosečnicami raziskave Moje-mleko tudi vegetarijance, so rezultati pomemben del za primerjavo in interpretacijo rezultatov.
	ANG	Although it is generally accepted that nutrition effects the gut microbiota, it is very difficult to establish the association of particular food ingredients or dietary patterns with microbiota composition. In this work we succeeded to establish the differences in the fecal microbiota composition in vegetarians and omnivores in Slovenia. Vegetarian diet was associated with higher ratio of Bacteroides-Prevotella, Bacteroides thetaiotaomicron, Clostridium clostridioforme and Faecalibacterium prausnitzii, and lower ratio of Clostridium cluster XIVa. Consumption of foods of animal origin and vegetarian type of diet explained the largest share of variance in microbiota structure. As among pregnant women included in the project My-milk were also vegetarians the results are important part for comparison and interpretation of results.
		Steinkopff; European journal of nutrition; 2014; in press; Impact Factor: 3.127; Srednja vrednost revije / Medium Category Impact Factor: 2.432;

	Objavljeno v	WoS: SA; Avtorji / Authors: Bogovič Matijašič Bojana, Obermajer Tanja, Lipoglavšek Luka, Grabnar Iztok, Avguštin Gorazd, Rogelj Irena	
	Tipologija	1.01 Izvirni znanstveni članek	
2.	COBISS ID	3067727	Vir: COBISS.SI
	Naslov	SLO	Izzivi pri določanju telesne maščobe pri nosečnicah
		ANG	Challenges in determining body fat in pregnant women
	Opis	SLO	Primerjali smo obstoječe antropometrične metode za vrednotenje sestave telesa, pri nosečnicah. 147 nosečnic starih od (povprečje (SD)) 31 let (± 4), v 32. tednu (± 3) gestacije je podalo podatke o starosti in telesni masi pred nosečnostjo. Izmerili smo njihovo višino, trenutno maso, kožne gube in obseg zapestja. Gostoto telesa in odstotek telesne maščobe smo izračunali s pomočjo 17 antropometričnih enačb. Odstotki telesne maščobe, ki smo jih pridobili z uporabo obstoječih antropometričnih metod so se precej razlikovali ($p < 0,0001$), 16% (± 5) do 38% (± 4); metode, razvite posebej za nosečnice, so prinesle zaskrbljujoče velike razlike, saj so vrednosti za delež telesne maščobe variirali od 16 % (± 5) do 36 % (± 6). Študija je dokazala razhajanja med antropometričnimi metodami za oceno sestave telesa pri nosečnicah.
		ANG	We compared the existing anthropometric methods for the evaluation of body composition, in pregnant women. 147 volunteers aged [average (SD)] 31 years (± 4) in gestational week 32 (± 3) provided information on age and pre-pregnancy body mass. Their height, current mass, skinfold thicknesses, and limb circumferences were measured. The body density and fat percentage were calculated according to 17 anthropometric equations. The body fat percentages obtained using the existing anthropometric methods varied greatly ($p < 0.0001$), from 16% (± 5) to 38% (± 4); methods developed specifically for pregnant women yielded disturbingly large differences, with body fat values ranging from 16% (± 5) to 36% (± 6). This study revealed discrepancies among anthropometric methods for body composition assessment in pregnant women.
	Objavljeno v	S. Karger; Annals of nutrition and metabolism; 2013; Vol. 63, no. 4; str. 341-349; Impact Factor: 1.661; Srednja vrednost revije / Medium Category Impact Factor: 2.432; WoS: IA, SA; Avtorji / Authors: Robič Tatjana, Benedik Evgen, Fidler Mis Nataša, Bratanič Borut, Rogelj Irena, Golja Petra	
	Tipologija	1.01 Izvirni znanstveni članek	
3.	COBISS ID	3222664	Vir: COBISS.SI
	Naslov	SLO	Odkrivanje in kvantifikacija probiotičnega seva <i>Lactobacillus gasseri</i> K7 v vzorcih blata preko tarčnih bakteriocinskih genov
		ANG	Detection and quantification of probiotic strain <i>Lactobacillus gasseri</i> K7 in faecal samples by targeting bacteriocin genes
	Opis	SLO	Ker so probiotične lastnosti specifične za sev, so orodja, ki omogočajo razlikovanje posameznih probiotičnih sevov od ostalih sevov, ključnega pomena pri funkcionalnih raziskavah probiotikov. V članku smo predstavili specifično detekcijo in kvantifikacijo probiotičnega seva <i>Lactobacillus gasseri</i> K7, ki temelji na verižni reakciji s polimerazo (PCR), s tarčnimi zaporedji bakteriocinskih genov (gasericini K7 A in B), kar predstavlja izviren pristop v probiotičnih raziskavah. Metodo smo uporabili v raziskavi za študijo endogenega prehoda seva K7 iz črevesa do mlečne žleze na mišjem modelu in v klinični študiji.
		ANG	Since probiotic characteristics are strain-specific, the tools which enables to distinguish a particular probiotic strain from the other strains are crucial in functional studies. In the article, we presented a specific detection and quantification of a probiotic strain <i>Lactobacillus gasseri</i> K7 based on PCR targeting bacteriocin genes clusters (gassericins K7 A and B), which

		presents an original approach in the probiotic studies. The method was used in the project for studying the mechanisms of endogenous transfer of strain K7 from intestine to the mammary gland on a mouse model and in clinical study.
	Objavljeno v	Springer; Folia microbiologica; 2013; Vol. 58, no. 6; str. 623-630; Impact Factor: 0.791; Srednja vrednost revije / Medium Category Impact Factor: 2.864; WoS: DB, QU; Avtorji / Authors: Treven Primož, Turková Kristýna, Trmčič Aljoša, Obermajer Tanja, Rogelj Irena, Bogovič Matijašič Bojana
	Tipologija	1.01 Izvirni znanstveni članek
4.	COBISS ID	26568231 Vir: COBISS.SI
	Naslov	SLO Baze podatkov o sestavi živil za učinkovito in kakovostno prehransko oskrbo
		ANG Food composition databases for effective quality nutritional care
	Opis	SLO Ovrednotili smo program za izračun hranilnih vrednosti z uporabo OPEN, slovenske odprte platforme za klinično prehrano. Opravili smo kemično analizo in izračun za reprezentativen niz dnevni obrokov (n = 20) in primerjal podatke s Student-t testom (0,01 raven statistične značilnosti). V povprečnih vsebnosti: energije, celokupne prehranske vlaknine, vode, makro hranil in mineralov: Ca, Fe, Mg, Zn, Na, P, Cu in J ni bilo statistično značilnih razlik. Signifikantna razlika je bila v povprečni izračunani in analitični vrednosti selena. Opazili smo precejšnjo, a statistično ne signifikantno razliko srednje vrednosti joda (11%). OPEN je koristno in stroškovno učinkovito orodje tako za dietetika kot za bolnika.
		ANG We validated a nutrient-estimation method using OPEN, a Slovenian platform for clinical nutrition. We performed a chemical analysis and a calculation for a representative set of daily meals (n = 20) and compared the data with a Student's t test (0.01 significance level). No differences were observed in the mean contents of energy, total dietary fibre, water, macro-nutrients, and minerals: Ca, Fe, Mg, Zn, Na, P, Cu and I. There was significant difference in the mean calculated and analytical values of selenium. We noticed remarkable, but not significant, difference in the mean values of iodine (11%). OPEN is a useful and cost-effective tool for both dieticians and patients.
	Objavljeno v	Elsevier; Food composition and sustainable diets; Food chemistry; 2013; Vol. 130, no. 3; str. 495-499; Impact Factor: 3.334; Srednja vrednost revije / Medium Category Impact Factor: 1.66; A': 1; WoS: DW, JY, SA; Avtorji / Authors: Koroušič-Seljak Barbara, Stibilj Vekoslava, Pograjc Larisa, Fidler Mis Nataša, Benedik Evgen
	Tipologija	1.01 Izvirni znanstveni članek
5.	COBISS ID	3325064 Vir: COBISS.SI
	Naslov	SLO Vitaminski in mineralni prehranski status zdravih nosečnic izboljšani s prehranskimi dopolnili
		ANG Vitamin and mineral nutritional status of healthy pregnant women improved by nutrient supplements
	Opis	SLO Namen naše raziskave je bila ocena zauživanja vitaminov in mineralov nosečnic (n = 69) s programom Prodi 5.7 Expert Plus in IBM SPSS Statistics 20.0. Prehranski vnos vitaminov C, D, E, folne kisline in mineralov železo, jod, kalcij in natrij smo primerjali z Referenčnimi vrednostmi za vnos hranil (2004). Najbolj problematičen je vnos folne kisline, železa in vitamina D. 46.4 % preiskovank smo uvrstili v skupino z revnim prehranskim statusom, nobena od preiskovank ni dosegla priporočenega vnosa šestih ali več preiskovanih hranil. Prehranski status se je pri večini posameznic, ki so uživale prehranska dopolnila izboljšala, nekaterim statistično značilno.

	ANG	We aimed to evaluate vitamin and mineral status of pregnant women (n = 69) by programme Prodi 5.7 Expert Plus and IBM SPSS Statistics 20.0. Nutrient intake of vitamins C, D, E, folic acid and minerals iron, iodine, calcium and sodium were compared with Reference values for nutrient intake (2004). The most problematic nutrients are folate, iron and vitamin D. 46.4 % of all participants are indicated as women with poor nutritional status, none of them met the demand for six out of seven studied nutrients. Among participants who decided to take supplements, the vast majority of them improved their vitamin-mineral status moreover few of them improved their status significantly.
Objavljeno v		Biotehniška fakulteta; Acta agriculturae Slovenica; 2013; Letn. 102, št. 1; str. 47-54; Avtorji / Authors: Puš Tamara, Podgrajšek Ksenija, Fidler Mis Nataša, Benedik Evgen, Rogelj Irena, Simčič Marjan
Tipologija		1.01 Izvirni znanstveni članek

7. Najpomembnejši družbeno-ekonomski rezultati projektne skupine⁶

Družbeno-ekonomski dosežek			
1.	COBISS ID	3247240	Vir: COBISS.SI
	Naslov	SLO	Dejavniki kolonizacije otrokovih prebavil v prvem letu življenja
		ANG	Factors of infant's gut colonization during the first year of life
	Opis	SLO	Publikacija spada med dopolnilna učna gradiva s področja pediatrije, za študente medicine. S prispevkom smo zapolnili vrzel v literaturi v slovenskem jeziku, ki obravnava kolonizacijo prebavil v zgodnjem življenjskem obdobju, ki pomembno zaznamuje zdravstveno stanje človeka za celo življenje. Ker so raziskave na tem področju zelo intenzivne, sploh odkar so na voljo visokozmogljive molekularne metode za proučevanje mikrobiote, je posebna vrednost publikacije v tem, da študente seznanja z zadnjimi dognanji. V prispevku so prikazane posamezne faze mikrobnege poseljevanja otrokovih prebavil in dejavniki, ki nanj vplivajo. Znanja in izkušnje, ki smo jih pridobili med projektom Moje-mleko, so prispevali h kvaliteti prispevka.
		ANG	This publication is a supplementary teaching material in the field of paediatrics, for medical students. With this contribution, we filled the gap in the literature in Slovenian language, which deals with the colonization of the gastrointestinal tract early in the life that significantly affect the health during the entire life. Because research in this field is very intense, especially since high-throughput molecular methods are available for the studies of microbiota, special value of this publication is that the students learn about the latest findings. The chapter presents different phases of microbial colonization of infant's gut and factors affecting it. Knowledge and experience we have gained during the project My-milk, have contributed to the quality of the contribution.
	Šifra	F.18	Posredovanje novih znanj neposrednim uporabnikom (seminarji, forumi, konference)
	Objavljeno v		Medicinska fakulteta, Katedra za pediatrijo; Novosti v intenzivnem zdravljenju otrok; 2013; Str. 140-153; Avtorji / Authors: Rogelj Irena, Treven Primož, Bogovič Matijašič Bojana
	Tipologija	1.17	Samostojni strokovni sestavek ali poglavje v monografski publikaciji
2.	COBISS ID	258247168	Vir: COBISS.SI
	Naslov	SLO	Moje-mleko

	ANG	My-milk
Opis	SLO	V oktobru 2011 smo organizirali mednarodni simpozij »Moje-mleko«. Na simpoziju so najnovejša odkritja na področju zgodnje prehrane in dolgoročnega vpliva na zdravje, mikrobiote mlečne žleze ter vpliva prehrane zarodka na razvoj debelosti novorojenca predstavili zunanji raziskovalci na projektu prof. Koletzko, prof. Rodriguez in dr. Ding. Slovenski raziskovalci smo predstavili metodološke pristope raziskave. Simpozija se je udeležilo 120 zdravnikov in nutricionistov. Zdravniška zbornica SLO je udeležencem priznala dodelitev kreditnih točk za stalno podiplomsko izobraževanje.
	ANG	In October 2011 the symposium »My-milk« was organized. The latest discoveries in the field of early nutrition, the microbiota of the mammary gland and effects of foetal nutrition on the development of offspring obesity were presented by foreign researchers on the project prof. Koletzko, prof. Rodriguez and dr. Ding. Slovenian researchers presented the methodological approaches to the research. The symposium was attended by 120 physicians and nutritionists. Medical Chamber of SLO acknowledged the granting of credit points to the participants for continuing postgraduate education.
Šifra	B.01 Organizator znanstvenega srečanja	
Objavljeno v	Biotehniška fakulteta, Oddelek za zootehniko, Inštitut za mlekarstvo in probiotike; 2011; 57 str.; Avtorji / Authors: Rogelj Irena, Fidler Mis Nataša, Bogovič Matijašič Bojana	
Tipologija	2.30 Zbornik strokovnih ali nerecenziranih znanstvenih prispevkov na konferenci	
3.	COBISS ID	29282265 Vir: COBISS.SI
Naslov	SLO	Praktična navodila za prehrano nosečnic, doječih mater in otrok, če starši kljub odsvetovanju vztrajajo pri vegetarijanski prehrani
	ANG	A practical guide to nutrition for pregnant women, lactating mothers and children if their parents despite advice insist on vegetarian diet
Opis	SLO	Pri izogibanju vseh živil živalskega izvora (mesa, rib, rakov, školjk, slanine in drugih maščob živalskega porekla) obstaja visoko tveganje za pomanjkanje hranil (železo, cink, kalcij, vitamini B12, B2, D; n-3 maščobne kisline, zlasti dokozaheksaenojska kislina, beljakovine) in energije. Pomanjkanju so še posebej izpostavljeni dojenčki, malčki in otroci, kar lahko vodi do podhranjenosti ali zastoja rasti in počasnejšega psihomotoričnega razvoja. Kadar se doječa mati prehranjuje vegansko in ne uživa prehranskih dopolnil, obstaja veliko tveganje, da bo dojenček utrpel hude kognitivne poškodbe. Tveganje se poveča, če otrok uživa vegansko prehrano. ESPGHAN in slovenske smernice odsvetujejo veganski način prehranjevanja za dojenčke in malčke.
	ANG	Avoidance of all foods of animal origin (meat, fish, crustaceans, shells, bacon and other fats of animal origin) increases the high risk for lack of nutrients (iron, zinc, calcium, vitamins B12, B2, D, n-3 fatty acids, especially docosahexaenoic acid, proteins) and energy. Particularly vulnerable are infants, toddlers and children, which can lead to malnutrition, growth retardation and slower psychomotor development. When a breastfeeding mother is on vegan diet without taking supplements, there is a high risk that the infant will suffered severe cognitive damage. The risk increases when also a child is on vegan diet. ESPGHAN and the Slovenian guidelines advise against vegan diets for infants and toddlers.
Šifra	F.18 Posredovanje novih znanj neposrednim uporabnikom (seminarji, forumi, konference)	
	Klinični oddelek za otroško kirurgijo in intenzivno terapijo, Kirurška klinika, Univerzitetni klinični center; Medicinska fakulteta, Katedra za pediatrijo;	

	Objavljeno v	Učbenik; 2011; Str. 118-128; Avtorji / Authors: Fidler Mis Nataša, Benedik Evgen	
	Tipologija	1.17 Samostojni strokovni sestavek ali poglavje v monografski publikaciji	
4.	COBISS ID	268944896	Vir: COBISS.SI
	Naslov	SLO	Dojenje - izziv sodobne ženske
		ANG	Breastfeeding - a challenge for modern women
	Opis	SLO	Organizacija UNICEF na globalni ravni med drugim spodbuja dojenje. Med aktivnostmi Nacionalnega odbora za UNICEF-a za spodbujanje dojenja v Sloveniji, je bila tudi organizacija strokovnega srečanja Dojenje - izziv sodobne žensk. Član projektne skupine Borut Bratanič je bil organizator in urednik zbornika prispevkov tega srečanja, Evgen Benedik pa je na srečanju v referatu predstavil študijo Moje mleko ter izbrane rezultate, s poudarkom na podatkih o dojenju (dolžina dojenja, izključno ali delno dojenje) prostovoljk, vključenih v raziskavo (Bedenik E, Robič T, Bratanič B, Fidler Mis N in sod. Dojenje pri materah, vključenih v študijo "Moje mleko", str. 75-83; COBISS.SI-ID 1176236). Po zaslugi tega prispevka je bila o poteku in pomenu raziskave Moje mleko seznanjena slovenska strokovna javnost (zdravniki, medicinske sestre..).
		ANG	UNICEF promotes breast-feeding on a global level. Among the activities of the National Committee of UNICEF for the promotion of breastfeeding in Slovenia, was the organization of expert meeting Breastfeeding - the challenge of modern woman. Member of our project group Borut Bratanič was the organizer and editor of the proceedings of this meeting, and Evgen Benedik presented (oral presentation) a study My milk and selected results, with emphasis on breastfeeding (length of breastfeeding, exclusively or partially breast-feeding) of volunteers included in the study (Bedenik E, Robič T, Bratanič B, Fidler Mis N et al. Breastfeeding in mothers enrolled into study "My milk", p. 75-83; COBISS.SI-ID 1176236). Thanks to this contribution the Slovenian experts in the field (doctors, nurses, ..) were informed about the course and the importance of research My milk.
	Šifra	C.01	Uredništvo tujega/mednarodnega zbornika/knjige
	Objavljeno v	Nacionalni odbor UNICEF-a Slovenija za spodbujanje dojenja, Slovenska fundacija za UNICEF; 2013; 109 str.; Avtorji / Authors: Bratanič Borut, Domjan-Arnšek Andreja, Žefran Drole Marjetka, Greif Polona, Hoyer Silvestra, Njenjić Gordana, Skale Cvetka, Tekauc-Golob Andreja, Vettorazzi Renata	
	Tipologija	2.30	Zbornik strokovnih ali nerecenziranih znanstvenih prispevkov na konferenci

8. Drugi pomembni rezultati projektne skupine^Z

Posredovanje novih znanj – vabljeni predavanja na mednarodnih konferencah:
 Benedik E, Robič T, Jarc K, Carli T, Godnov U, Tušar T, Brumen M, Bogovič Matijašič B, Bratanič B, Rogelj I, Fidler Mis N. Intake of fish and supplements in pre-pregnant and pregnant Slovenian women : invited lecture at the 46th Annual Meeting of The European Society for Paediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition, London, 2013. [COBISS.SI-ID 810924]
 Benedik E, Robič T, Murko S, Repič-Lampret B, Fidler Mis N, Solitrovska Šalomon A, Bratanič B, Rogelj I. Vitamin D status during pregnancy and adiposity in women and their neonates : invited lecture at the 46th Annual Meeting of The European Society for Paediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition, London, 2013. [COBISS.SI-ID 810668]
 Ker so bili zadnji pregledi in analize vzorcev opravljeni še jeseni 2013, je večina člankov še v pripravi ali oddanih v objavo:
 Tušar T, Žerdoner K, Bogovič Matijašič B, Paveljšek D, Bedenik E, Bratanič B, Fidler Mis N, Rogelj I. Cultivable Bacteria of Milk from Slovenian Breast-feeding Mothers. Food Technology

and Biotechnology (članek sprejet, v tisku, 2014)

Benedik E, Koroušič Seljak B, Hribar M, Rogelj I, Bratanič B, Orel R, Fidler Mis N. Primerjava spletne aplikacije in računalniškega programa za ovrednotenje prehranskih dnevnikov (Comparison of a web-based dietary assessment tool with software for the evaluation of dietary records), Zdravniški vestnik, (poslano, v recenziji)

Evgen Benedik, Barbara Koroušič Seljak, Marjan Simčič, Irena Rogelj, Borut Bratanič, Eric L. Ding, Rok Orel, Nataša Fidler Mis, Comparison of paper- and web-based dietary records: a pilot study, Annals of Nutrition and Metabolism, (poslano, v recenziji)

Obermajer T, Lipoglavšek L, Tompa G, Treven P, Mohar Lorbeg P, Bogovič Matijašič B, Rogelj I. Colostrum of healthy Slovenian mothers: Microbiota composition and Bacteriocin Genes prevalence. PLoS One (poslano)

9. Pomen raziskovalnih rezultatov projektne skupine⁸

9.1. Pomen za razvoj znanosti⁹

SLO

Raziskave humanega mleka, kolostruma, mekonija in blata dojenčkov z najsodobnejšimi metodami so prinesle pomembna nova spoznanja o pestrosti mikrobnih združb, ki naseljujejo ta okolja, in bodo koristna pri bodočih raziskavah, katerih cilj je pojasniti potek naseljevanja mikrobiote v zgodnjem življenjskem obdobju ter dolgoročno vlogo mikrobiote pri vzdrževanju zdravja. Pomembna znanstvena vrednost rezultatov te raziskave v mednarodnem merilu je tudi zaradi relativno velikega števila vključenih prostovoljk in njihovih otrok, v primerjavi z večino drugih sorodnih raziskav. V literaturi tudi ni zaslediti tako kompleksne raziskave, ki bi pri istih osebkih spremljali toliko parametrov; od dolgoročnih prehranskih navadah in prehrane v času nosečnosti in dojenja (vprašalniki, 4-dnevni tehtani prehranski dnevnik), prehranskem statusu mater (maščobnokislinska sestava krvnega seruma in mleka mater, vitamin D v krvnem serumu, in v mleku...), mikrobiote bioloških vzorcev – kolostruma, mleka, mekonija, blata (količina in razmerja izbranih skupin bakterij), do zdravstvenega stanja mater in otrok ter podatkov številnih morfoloških meritev (indeks telesne mase, telesna maščoba, telesna dolžina, kožne gube, gostota kosti). Od kompleksne obdelave vseh podatkov, ki zaradi obilice podatkov še poteka pričakujemo, da bomo lahko pojasnili pomembne povezave med prehrano, maščobnokislinsko in mikrobnostjo sestavo mleka, mikrobioto otrok in zdravstvenim stanjem otrok, ki so ga prav tako temeljito spremljali pediatri.

Študij mikrobiote ter mehanizmov morebitnega prenosa bakterij iz črevesja v mlečne žleze (in vitro in na modelu bregjih miši) so zahtevali vpeljavo ali modificiranje številnih molekularno bioloških, genetskih, genomskih in imunoloških metod, med katerimi so PCR v realnem času za različne skupine bakterij; trodimenzionalni model črevesnega epitelija, ki vsebuje dendritične celice, pridobljene iz monocitov humane periferne krvi, humane črevesne epitelne celice in probiotične bakterije. To predstavlja dobro izhodišče za nadaljnje delo naše skupine na podobni tematiki, kakor tudi raziskovalcem na globalni ravni. Pozornost na mednarodni ravni pa si zaslužijo tudi rezultati proučevanja mehanizmov prenosa laktobacilov (*Lb. gasseri* K7, *Lb. rhamnosus* GG) iz črevesa v mlečno žlezo.

ANG

Research on human milk, colostrum, meconium and feces of infants with the state of the art methods have led to important new insights about the diversity of microbial communities that inhabit this environment. Results will be useful in future studies aimed to explain the colonization of the gut early in life and long-term role of microbiota in the maintaining of health. Important scientific value of the results of this research at the international level is also due to the relatively high number of volunteers and their children involved in the study, compared to most of other related studies. In the literature, there is almost no reports where so many parameters were followed in the same subjects; from the data on long-term dietary habits and nutrition during pregnancy and lactation (questionnaires, 4-day weighted dietary protocol), nutritional status (fatty acid composition of blood serum and milk of mothers, vitamin D in blood serum and milk), the microbiota of biological samples - colostrum, milk, meconium, stool (quantity and ratio of selected groups of bacteria), to the health status of mothers and children and many morphometric measurements (body mass index, body fat, body length, skin folds, bone density) . From the complex processing of data, which, because of the abundance of data is ongoing, we expect that we can explain the important links between diet, fatty acids and

microbial composition of milk, children's microbiota and health status of children, which was also closely monitored by pediatricians.

Studies of microbiota and the mechanisms of possible transfer of bacteria from the gut to the mammary gland (in vitro model of pregnant mice) have required the introduction or modification of a number of molecular, genetic, genomic and immunological methods. These methods include real-time PCR for different groups of bacteria; three-dimensional model of the intestinal epithelium, which comprises dendritic cells derived from human peripheral blood monocytes, human intestinal epithelial cells and probiotic bacteria. This represents a good starting point for further work of our group on a similar topic, as well as researchers at the global level. Also the results of studying the mechanisms of transmission of lactobacilli (*Lb. gasseri* K7, *Lb. rhamnosus* GG) from the intestine into the mammary gland deserve attention at the international level.

9.2. Pomen za razvoj Slovenije¹⁰

SLO

Projekt predstavlja eno večjih interdisciplinarnih kliničnih študij, ki obravnava začetni razvoj otroka z vidika prehrane in oblikovanja črevesne mikrobiote. V raziskavi so poleg raziskovalcev Biotehniške fakultete in Pediatrične klinike, ki so bili člani projektne skupine, sodelovali številni strokovnjaki in raziskovalci različnih področij od ginekologov in osebja, ki vodi šole za starše (vključevanje nosečnic), medicinskega osebja v 10-ih porodnišnicah (zbiranje prvih vzorcev - mekonij, kolostrum, prvo blato), pediatrov in antropologov (pomoč pri pregledih otrok, merjenje kostne gostote, antropometrične meritve), analitikov (določanje vitamina D, maščobnokislinska sestava), statistikov in bioinformatikov, do mladih raziskovalcev in študentov prostovoljcev, ki so sodelovali pri raziskavah in promociji študije. Vsi so pridobili nova znanja in izkušnje v raziskovalnem delu. Udeleženci simpozija Moje-mleko, ki ga je organizirala projektna skupina, so nadgradili znanje z najnovejšimi odkritji na področju zgodnjega razvoja. Na simpoziju so predavali tudi tuji eminentni profesorji, vključeni v projektno skupino kot konzultanti. Simpozij je zdravniška zbornica priznala kot izobraževanje s priznanjem kreditnih točk za zdravnike in medicinske sestre. V okviru izvajanja projekta smo zbrali veliko dragocenih bioloških vzorcev, ki so zahtevali posebne protokole priprave in analize, tako so vključeni raziskovalci pridobili nove raziskovalne veščine in izkušnje. Posebej del raziskave, pri katerem smo vzorce 13 mater in njihovih otrok namenili za analize mikrobioma s sekvenciranjem nove generacije, je zahteval oz. ponudil priložnost za pridobivanje novega znanja s strani vključenih raziskovalcev (zasnova protokolov, bioinformacijske in statistične analize), ki bo koristno v prihodnjih raziskavah. Vpeljani in evalvirani so bili novi pristopi za ovrednotenje prehrane in prehranskih dnevnikov, ki jih bodo lahko koristno uporabljali nutricionisti. Pridobljena znanja in rezultati analiz so bila posredovana strokovnjakom in širši javnosti preko različnih seminarjev in prispevkov (npr: Bedenik E, Fidler Mis N. Nova priporočila za vnos vitamina D. Zdravniški vestnik, 2013; Fidler Mis N, Benedik E. Prehrana vegetarijanskih nosečnic in doječih mater. Celiakija, 2012; Carli T, Jarc K, Benedik E. Kmalu razkrit delček skrivnosti čudežnega napoja : raziskava materinega mleka. Medicina danes, 2011; Gregorič M, Benedik E. Vloga materinega mleka v razvoju črevesne mikrobiote dojenčka. Bambino.si, 2012). V okviru projekta so bile izdelane delno ali v celoti 2 doktorski disertaciji in 3 diplome, nekaj jih je še v izdelavi. Pridobljeni rezultati predstavljajo prvo, tako kompleksno obravnavano študijo na področju začetnega razvoja otroka v Sloveniji in menimo, da so odlična osnova za nadaljnje delo. Nova znanja, novi pristopi in metode (npr. ovrednotenje prehranskega statusa, antropometrično merjenje pri nosečnicah in določanje telesne maščobe), lahko prispevajo k boljši zdravstveni obravnavi najobčutljivejših skupin prebivalstva in s tem izboljšanju zdravstvenega stanja. Ker smo s prostovoljkami ohranili stike bi bilo vredno študijo nadaljevati in spremljati nadaljnji razvoj teh otrok. Slovensko raziskovalno delo na področju zgodnjega razvoja pa je postalo razpoznavno tudi v tujini.

ANG

The project represents one of the largest interdisciplinary clinical studies, dealing with the initial development of the child in terms of diet and establishment gut microbiota. In addition to the researchers of Biotechnical Faculty and University Medical Centre, Division of Pediatrics, who were members of the project team, many experts and researchers from various fields, from gynecologists and personnel who carry out schools for parents (recruitment of pregnant women), medical staff in 10 maternity hospital (collection of the first samples - meconium,

colostrum, the first faeces), pediatricians and anthropologists (help with examination of children, bone density measurement, anthropometric measurements), analysts (determination of D vitamins, fatty acid composition), statisticians and bioinformatics, young researchers and students volunteers were involved in the research and promotion of the study. All have gained new knowledge and experience in research work. The participants of My-milk symposium, which was organized by project team upgraded their knowledge with the latest discoveries in the field of early development. Lectures by eminent foreign professors involved in the project team as consultants were presented at the symposium as well. The symposium was recognized by Medical Chamber as important for education and therefore credits were conferred to participating physicians and nurses. In the frame of the project we gained a lot of valuable biological samples that demanded specific protocols of preparation and analysis, so researchers gained new research skills and experiences. Especially the part of the research in which microbiomes of the samples of 13 mothers and their children were analysed by new generation sequencing required new knowledge by the involved researchers (development of protocols, bioinformatic and statistical analysis), which will be useful in future research. New approaches for the evaluation of nutrition and dietary diaries were introduced and evaluated, which will be useful for nutritionists. Acquired knowledge and analytical results have been shared with professionals and the general public through various seminars and presentations (i.e. Bedenk E, Fidler Mis N. New recommendations for the intake of vitamin D. Zdravniški vestnik, 2013; Fidler Mis N, Benedik E. Diet of vegetarian pregnant women and lactating mothers. Celiakija, 2012; Carli T, Jarc K, Benedik E. Recently revealed secrets of a fraction of a magic potion: a study of breast milk. Medicina danes, 2011; Gregoric M, Benedik E. The role of breast milk in the development of infant gut microbiota. Bambino.si, 2012). In the frame of the project, 2 doctoral thesis and 3 diploma thesis were elaborated, while some of them are still in progress. The results obtained represent the first so complex study in the field of initial child development in Slovenia and we believe they are an excellent basis for further work. New knowledge, new approaches and methods (eg. evaluation of nutritional status, anthropometric measurement in pregnant women and the determination of body fat), may contribute to better medical treatment of the most sensitive groups of the population and thus improved health status. Since we maintain contacts with the study participants, we consider that the study should be continued on the same children, in order to further follow their development. Slovenian research work in the field of early development has become recognizable also abroad.

10. Samo za aplikativne projekte in podoktorske projekte iz gospodarstva!
Označite, katerega od navedenih ciljev ste si zastavili pri projektu, katere konkretne rezultate ste dosegli in v kakšni meri so doseženi rezultati uporabljeni

Cilj		
F.01	Pridobitev novih praktičnih znanj, informacij in veščin	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.02	Pridobitev novih znanstvenih spoznanj	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.03	Večja usposobljenost raziskovalno-razvojnega osebja	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.04	Dvig tehnološke ravni	

	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.05	Sposobnost za začetek novega tehnološkega razvoja	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.06	Razvoj novega izdelka	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.07	Izboljšanje obstoječega izdelka	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.08	Razvoj in izdelava prototipa	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.09	Razvoj novega tehnološkega procesa oz. tehnologije	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.10	Izboljšanje obstoječega tehnološkega procesa oz. tehnologije	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.11	Razvoj nove storitve	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.12	Izboljšanje obstoječe storitve	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>

F.13	Razvoj novih proizvodnih metod in instrumentov oz. proizvodnih procesov	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.14	Izboljšanje obstoječih proizvodnih metod in instrumentov oz. proizvodnih procesov	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.15	Razvoj novega informacijskega sistema/podatkovnih baz	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.16	Izboljšanje obstoječega informacijskega sistema/podatkovnih baz	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.17	Prenos obstoječih tehnologij, znanj, metod in postopkov v prakso	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.18	Posredovanje novih znanj neposrednim uporabnikom (seminarji, forumi, konference)	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.19	Znanje, ki vodi k ustanovitvi novega podjetja ("spin off")	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.20	Ustanovitev novega podjetja ("spin off")	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.21	Razvoj novih zdravstvenih/diagnostičnih metod/postopkov	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE

	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.22	Izboljšanje obstoječih zdravstvenih/diagnostičnih metod/postopkov	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.23	Razvoj novih sistemskih, normativnih, programskih in metodoloških rešitev	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.24	Izboljšanje obstoječih sistemskih, normativnih, programskih in metodoloških rešitev	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.25	Razvoj novih organizacijskih in upravljavskih rešitev	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.26	Izboljšanje obstoječih organizacijskih in upravljavskih rešitev	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.27	Prispevek k ohranjanju/varovanje naravne in kulturne dediščine	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.28	Priprava/organizacija razstave	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.29	Prispevek k razvoju nacionalne kulturne identitete	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>

F.30	Strokovna ocena stanja	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.31	Razvoj standardov	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.32	Mednarodni patent	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.33	Patent v Sloveniji	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.34	Svetovalna dejavnost	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.35	Drugo	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>

Komentar

--

11.Samo za aplikativne projekte in podoktorske projekte iz gospodarstva!
Označite potencialne vplive oziroma učinke vaših rezultatov na navedena področja

	Vpliv	Ni vpliva	Majhen vpliv	Srednji vpliv	Velik vpliv	
G.01	Razvoj visokošolskega izobraževanja					
G.01.01.	Razvoj dodiplomskega izobraževanja	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.01.02.	Razvoj podiplomskega izobraževanja	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.01.03.	Drugo: <input type="text"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02	Gospodarski razvoj					
G.02.01	Razširitev ponudbe novih	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	

	izdelkov/storitev na trgu					
G.02.02.	Širitev obstoječih trgov	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.03.	Znižanje stroškov proizvodnje	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.04.	Zmanjšanje porabe materialov in energije	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.05.	Razširitev področja dejavnosti	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.06.	Večja konkurenčna sposobnost	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.07.	Večji delež izvoza	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.08.	Povečanje dobička	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.09.	Nova delovna mesta	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.10.	Dvig izobrazbene strukture zaposlenih	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.11.	Nov investicijski zagon	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.12.	Drugo:	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.03	Tehnološki razvoj					
G.03.01.	Tehnološka razširitev/posodobitev dejavnosti	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.03.02.	Tehnološko prestrukturiranje dejavnosti	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.03.03.	Uvajanje novih tehnologij	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.03.04.	Drugo:	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.04	Družbeni razvoj					
G.04.01	Dvig kvalitete življenja	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.04.02.	Izboljšanje vodenja in upravljanja	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.04.03.	Izboljšanje delovanja administracije in javne uprave	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.04.04.	Razvoj socialnih dejavnosti	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.04.05.	Razvoj civilne družbe	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.04.06.	Drugo:	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.05.	Ohranjanje in razvoj nacionalne naravne in kulturne dediščine in identitete					
G.06.	Varovanje okolja in trajnostni razvoj					
G.07	Razvoj družbene infrastrukture					
G.07.01.	Informacijsko-komunikacijska infrastruktura	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.07.02.	Prometna infrastruktura	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.07.03.	Energetska infrastruktura	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.07.04.	Drugo:	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.08.	Varovanje zdravja in razvoj zdravstvenega varstva					
G.09.	Drugo:					

Komentar

--

12. Pomen raziskovanja za sofinancerje¹¹

Sofinancer			
1.	Naziv		
	Naslov		
	Vrednost sofinanciranja za celotno obdobje trajanja projekta je znašala:		EUR
	Odstotek od utemeljenih stroškov projekta:		%
	Najpomembnejši rezultati raziskovanja za sofinancerja		Šifra
		1.	
		2.	
		3.	
		4.	
		5.	
Komentar			
Ocena			

13. Izjemni dosežek v letu 2013¹²**13.1. Izjemni znanstveni dosežek**

Doktorska disertacija (mentor I. Rogelj, somentor S. Horvat)
 Doktorand je proučeval mehanizem endogenega prenosa probiotikov iz črevesa do mlečne žleze (MŽ) in vitro, vpliv probiotikov na mikrobioto MŽ pa na mišjem modelu z aplikacijo sevov *Lb. gasseri* K7 (LK7) in *Lb. rhamnosus* GG (LGG). Ugotovil je, da se signalne poti stimulacije dendritičnih celic (DC) s probiotiki razlikujejo. LGG in LK7 sta stimulirala DC v smeri ERK1/2 signalne poti, *E. coli* Nissle (EcN) pa v smeri p38. Aktivin A je povečal premestitev aktiviranih ERK1/2 v jedro pri stimulaciji DC z LGG in LK7 in zmanjšal pri stimulaciji z EcN. Aplikacija LGG in LK7 brejim mišim je povečala delež bakterijsko pozitivnih vzorcev in število kopij bakterijske 16S rDNA v mezenteričnih limfnih vozlih (MLV), mlečni žlezi (MŽ) in mleku ter povečala delež firmikut in mlečnokislinskih bakterij v MŽ. V MLV in MŽ posameznih živali je dokazal prisotnost živih probiotičnih bakterij in s tem možen endogeni prenos probiotikov.

13.2. Izjemni družbeno-ekonomski dosežek

--

C. IZJAVE

Podpisani izjavljam/o, da:

- so vsi podatki, ki jih navajamo v poročilu, resnični in točni
- se strinjamo z obdelavo podatkov v skladu z zakonodajo o varstvu osebnih podatkov za potrebe ocenjevanja ter obdelavo teh podatkov za evidence ARRS
- so vsi podatki v obrazcu v elektronski obliki identični podatkom v obrazcu v pisni obliki
- so z vsebino zaključnega poročila seznanjeni in se strinjajo vsi soizvajalci projekta

Podpisi:

*zastopnik oz. pooblaščen oseba
raziskovalne organizacije:*

in

vodja raziskovalnega projekta:

Univerza v Ljubljani, Biotehniška
fakulteta

Irena Rogelj

ŽIG

Kraj in datum:

Ljubljana	14.4.2014
-----------	-----------

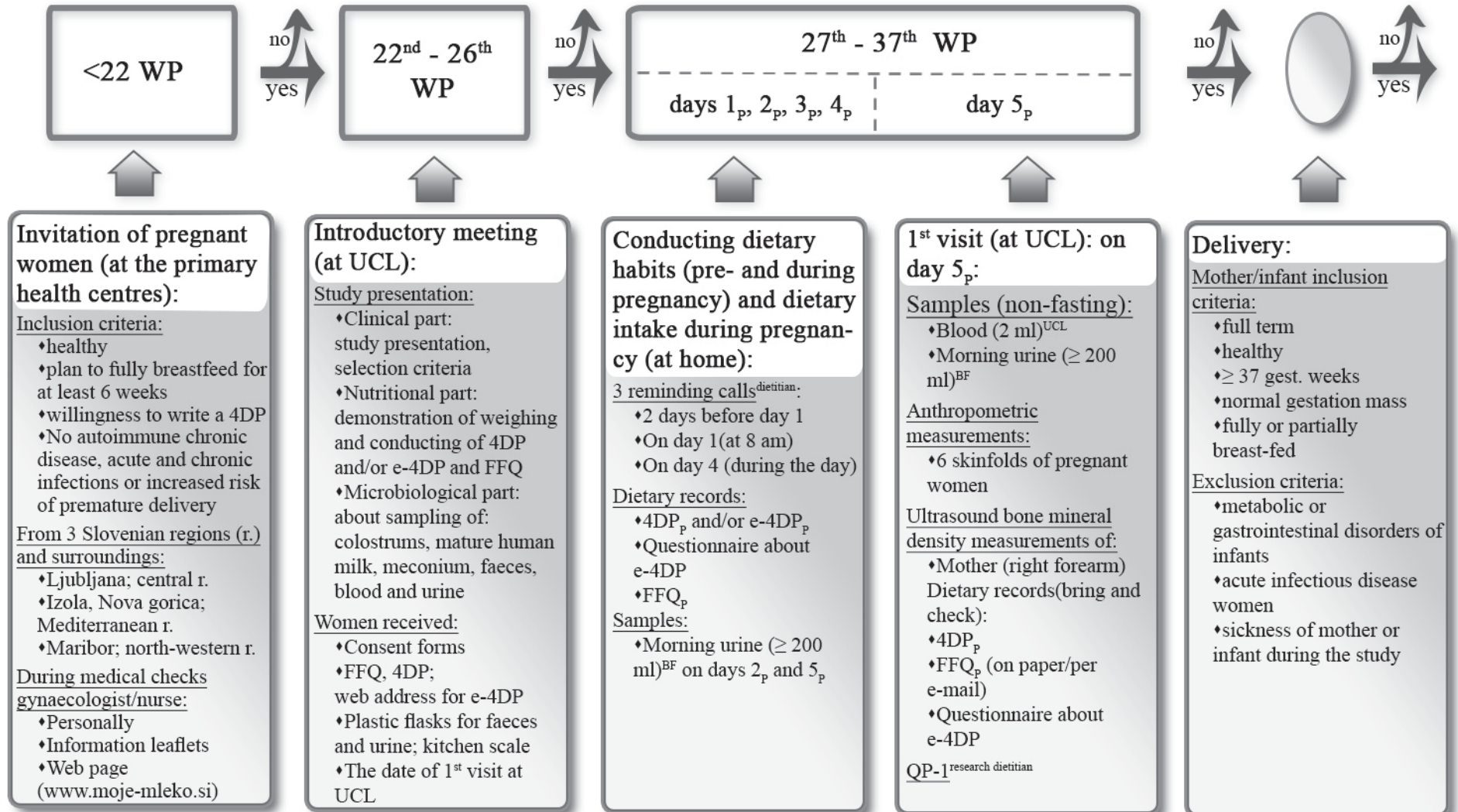
Oznaka prijave: ARRS-RPROJ-ZP-2014/5

- ¹ Napišite povzetek raziskovalnega projekta (največ 3.000 znakov v slovenskem in angleškem jeziku) [Nazaj](#)
- ² Napišite kratko vsebinsko poročilo, kjer boste predstavili raziskovalno hipotezo in opis raziskovanja. Navedite ključne ugotovitve, znanstvena spoznanja, rezultate in učinke raziskovalnega projekta in njihovo uporabo ter sodelovanje s tujimi partnerji. Največ 12.000 znakov vključno s presledki (približno dve strani, velikost pisave 11). [Nazaj](#)
- ³ Realizacija raziskovalne hipoteze. Največ 3.000 znakov vključno s presledki (približno pol strani, velikost pisave 11) [Nazaj](#)
- ⁴ V primeru bistvenih odstopanj in sprememb od predvidenega programa raziskovalnega projekta, kot je bil zapisan v predlogu raziskovalnega projekta oziroma v primeru sprememb, povečanja ali zmanjšanja sestave projektne skupine v zadnjem letu izvajanja projekta, napišite obrazložitev. V primeru, da sprememb ni bilo, to navedite. Največ 6.000 znakov vključno s presledki (približno ena stran, velikost pisave 11). [Nazaj](#)
- ⁵ Navedite znanstvene dosežke, ki so nastali v okviru tega projekta. Raziskovalni dosežek iz obdobja izvajanja projekta (do oddaje zaključnega poročila) vpišete tako, da izpolnite COBISS kodo dosežka – sistem nato sam izpolni naslov objave, naziv, IF in srednjo vrednost revije, naziv FOS področja ter podatek, ali je dosežek uvrščen v A'' ali A'. [Nazaj](#)
- ⁶ Navedite družbeno-ekonomske dosežke, ki so nastali v okviru tega projekta. Družbeno-ekonomski rezultat iz obdobja izvajanja projekta (do oddaje zaključnega poročila) vpišete tako, da izpolnite COBISS kodo dosežka – sistem nato sam izpolni naslov objave, naziv, IF in srednjo vrednost revije, naziv FOS področja ter podatek, ali je dosežek uvrščen v A'' ali A'.
- Družbeno-ekonomski dosežek je po svoji strukturi drugačen kot znanstveni dosežek. Povzetek znanstvenega dosežka je praviloma povzetek bibliografske enote (članka, knjige), v kateri je dosežek objavljen.
- Povzetek družbeno-ekonomskega dosežka praviloma ni povzetek bibliografske enote, ki ta dosežek dokumentira, ker je dosežek sklop več rezultatov raziskovanja, ki je lahko dokumentiran v različnih bibliografskih enotah. COBISS ID zato ni enoznačen, izjemoma pa ga lahko tudi ni (npr. prehod mlajših sodelavcev v gospodarstvo na pomembnih raziskovalnih nalogah, ali ustanovitev podjetja kot rezultat projekta ... - v obeh primerih ni COBISS ID). [Nazaj](#)
- ⁷ Navedite rezultate raziskovalnega projekta iz obdobja izvajanja projekta (do oddaje zaključnega poročila) v primeru, da katerega od rezultatov ni mogoče navesti v točkah 6 in 7 (npr. ni voden v sistemu COBISS). Največ 2.000 znakov, vključno s presledki. [Nazaj](#)
- ⁸ Pomen raziskovalnih rezultatov za razvoj znanosti in za razvoj Slovenije bo objavljen na spletni strani: <http://sicris.izum.si/> za posamezen projekt, ki je predmet poročanja [Nazaj](#)
- ⁹ Največ 4.000 znakov, vključno s presledki [Nazaj](#)
- ¹⁰ Največ 4.000 znakov, vključno s presledki [Nazaj](#)
- ¹¹ Rubrike izpolnite / prepisite skladno z obrazcem "izjava sofinancerja" <http://www.arrs.gov.si/sl/progproj/rproj/gradivo/>, ki ga mora izpolniti sofinancer. Podpisan obrazec "Izjava sofinancerja" pridobi in hrani nosilna raziskovalna organizacija – izvajalka projekta. [Nazaj](#)
- ¹² Navedite en izjemni znanstveni dosežek in/ali en izjemni družbeno-ekonomski dosežek raziskovalnega projekta v letu 2013 (največ 1000 znakov, vključno s presledki). Za dosežek pripravite diapozitiv, ki vsebuje sliko ali drugo slikovno gradivo v zvezi z izjemnim dosežkom (velikost pisave najmanj 16, približno pol strani) in opis izjemnega dosežka (velikost pisave 12, približno pol strani). Diapozitiv/-a priložite kot priponko/-i k temu poročilu. Vzorec diapozitiva je objavljen na spletni strani ARRS <http://www.arrs.gov.si/sl/gradivo/>, predstavitev dosežkov za pretekla leta pa so objavljena na spletni strani <http://www.arrs.gov.si/sl/analize/dosez/>. [Nazaj](#)

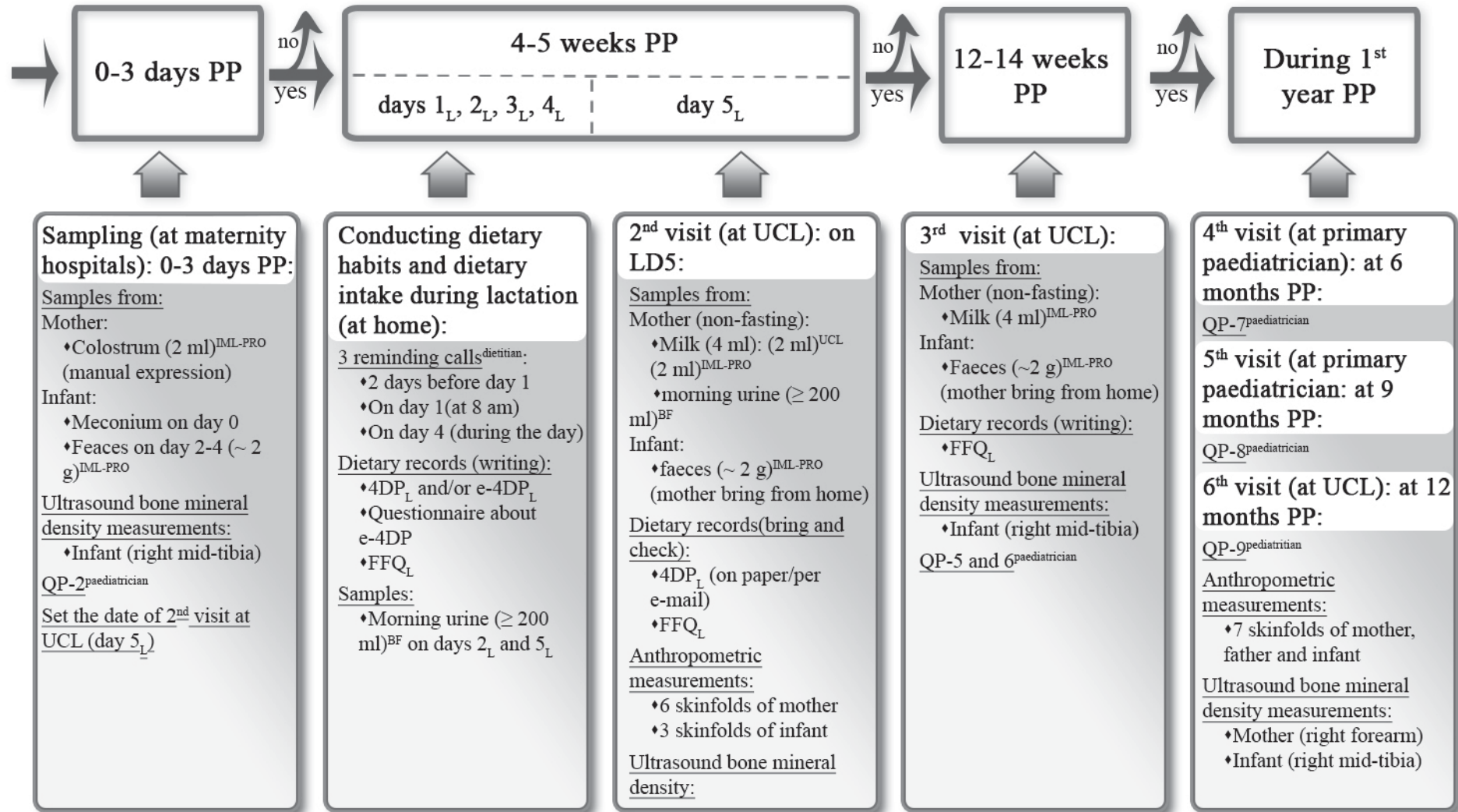
Obrazec: ARRS-RPROJ-ZP/2014 v1.03
CA-AC-31-00-EA-14-D4-97-45-6F-6A-FB-8B-1F-88-6E-3C-61-A1-D7

Priloga 1

Timetable of the project (pregnancy period)



Timetable of the project (motherhood period)



Legend:

PP – *Post Partum*

WP – Week of Pregnancy

Study centers:

UCL – [University Children's Hospital](#) Ljubljana, University Medical Centre Ljubljana;

IML-PRO – Institute of Dairy Science and Probiotics, Biotechnical faculty, University of Ljubljana;

BF – Department of Food Science and Technology, Biotechnical faculty, University of Ljubljana.

Dietary records:

4DP – Four-Day weighted dietary Protocol;

e-4DP – electronic 4DP;

4DP_P – 4DP during Pregnancy (days 1-4);

4DP_L – 4DP during Lactation (days 1-4);

e-4DP_P – e-4DP during Pregnancy (days 1-4) (on the internet <http://opkp.si/cms/vstopna-stran>);

e-4DP_L – e-4DP during Lactation (days 1-4) (on the internet <http://opkp.si/cms/vstopna-stran>);

FFQ – Food Frequency Questionnaire;

FFQ_P – FFQ one year before Pregnancy and during Pregnancy (fish, fish products and probiotics consumption);

FFQ_L – FFQ during Lactation (fish, fish products and probiotics consumption).

Questionnaire protocols-QP:

QP-1 – For pregnant women at 3rd trimester of pregnancy (medicines intake, sport activity, smoking, alcohol consumption, socio-demographic data);

QP-2 – For lactating women infants on 2nd or 3rd day *post partum* and (anthropometrical measurements of infants and mother, birth data, etc.);

QP-3, 4 – For lactating women and infants at 4 weeks *post partum* (medicines intake, sport activity, smoking, alcohol consumption, etc.);

QP-5, 6 – For lactating women and infants at 12 weeks *post partum* (EPDS – Edinburgh Postnatal Depression Scale; infants' anthropometrical measures, dietary intake data, supplements intake, development and health status);

QP-7, 8, 9 – For follow up of infants during first year of life at 6, 9 and 12 months (infants' anthropometrical measures, dietary intake data, supplements intake, development and health status).

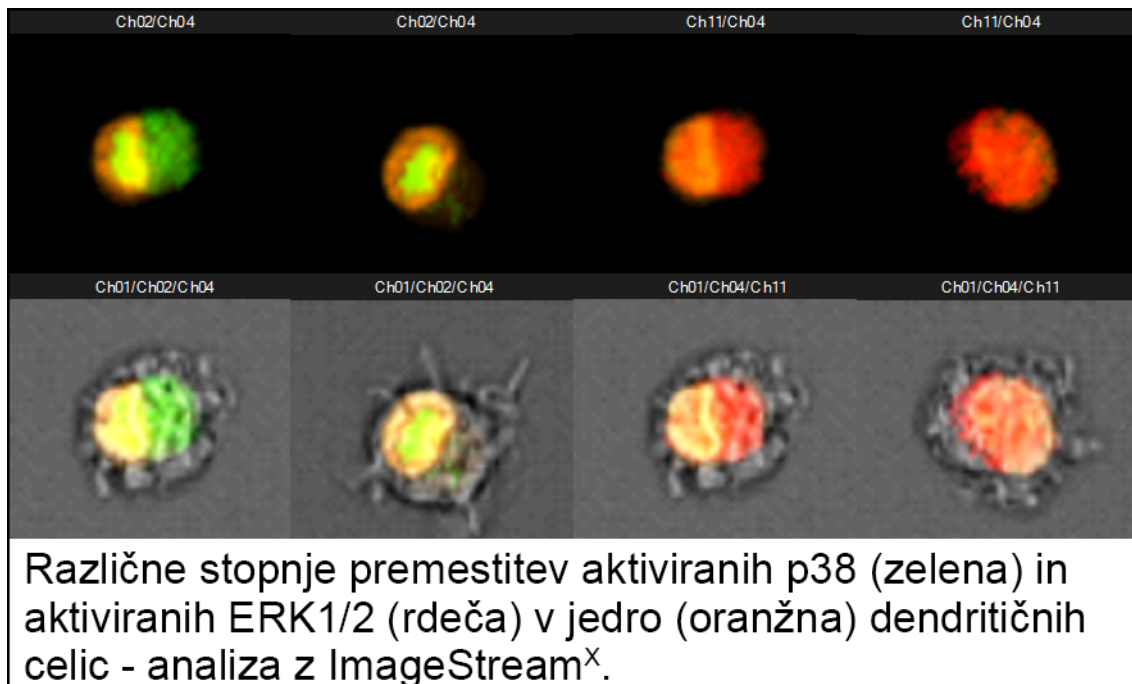
Priloga 2

4 BIOTEHNIKA

4.02 Živalska produkcija in predelava

Dosežek: Vpliv probiotikov na mikrobioto mlečne žleze in mleka,

Vir: Treven P. 2014, Vpliv probiotikov na mikrobioto mlečne žleze in mleka. Doktorska disertacija. Ljubljana, Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta.



Doktorand je proučeval mehanizem endogenega prenosa probiotikov iz črevesa do mlečne žleze (MŽ) *in vitro*, na celičnem modelu, vpliv probiotikov na mikrobioto MŽ pa na mišjem modelu z aplikacijo probiotičnih sevov *Lactobacillus gasseri* K7 (LK7) in *Lactobacillus rhamnosus* GG (LGG). Ugotovil je, da se signalne poti stimulacije dendritičnih celic (DC) s probiotiki razlikujejo. LGG in LK7 sta stimulirala DC v smeri ERK1/2 signalne poti, *Escherichia coli* Nissle (EcN) pa v smeri p38. Aktivin A je povečal premestitev aktiviranih ERK1/2 v jedro pri stimulaciji DC z LGG in LK7 in zmanjšal pri stimulaciji z EcN. Aplikacija LGG in LK7, mišim med brejostjo in laktacijo, je povečala delež bakterijsko pozitivnih vzorcev in število kopij bakterijske 16S rDNA v mezenteričnih limfnih vozlih (MLV), mlečni žlezi (MŽ) in mleku ter povečala delež firmikut in mlečnokislinskih bakterij v MŽ. V MLV in MŽ posameznih živali je dokazal prisotnost živih probiotičnih bakterij in s tem možen endogeni prenos probiotikov. Ocena pestrosti mikrobiote je pokazala, da oba probiotika ugodno vplivata na mikrobioto mezenteričnih limfnih vozlov, saj zmanjšata pestrost in povečata porazdeljenost vrst. Rezultati pojasnjujejo mehanizme delovanja probiotičnih bakterij in predstavljajo pomemben znanstveni prispevek.