



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΔΥΤΙΚΗΣ ΑΤΤΙΚΗΣ
Σχολή Επιστημών Τροφίμων
Τμήμα Επιστήμης και Τεχνολογίας Τροφίμων

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

Προσδιορισμός IgA αντισωμάτων στο μητρικό γάλα

Γεωργία Δημητροπούλου - Κατερίνα Γεωργαράκη

Επιβλέπων καθηγητής: Παναγιώτης Ζουμπουλάκης

Αθήνα
Φεβρουάριος 2022

ΔΗΛΩΣΗ ΣΥΓΓΡΑΦΕΩΝ ΠΤΥΧΙΑΚΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

Οι κάτωθι υπογεγραμμένες Δημητροπούλου Γεωργία του Μάριου με αριθμό μητρώου 17019 και Γεωργαράκη Αικατερίνη του Ιωάννη με αριθμό μητρώου 17013 φοιτήτριες του Πανεπιστημίου Δυτικής Αττικής της Σχολής Επιστημών Τροφίμων του Τμήματος Επιστήμης και Τεχνολογίας Τροφίμων, δηλώνουμε υπεύθυνα ότι:

«Είμαστε συγγραφείς αυτής της διπλωματικής εργασίας και ότι κάθε βοήθεια την οποία είχαμε για την προετοιμασία της είναι πλήρως αναγνωρισμένη και αναφέρεται στην εργασία. Επίσης, οι όποιες πηγές από τις οποίες κάναμε χρήση δεδομένων, ιδεών ή λέξεων, είτε ακριβώς είτε παραφρασμένες, αναφέρονται στο σύνολό τους, με πλήρη αναφορά στους συγγραφείς, τον εκδοτικό οίκο ή το περιοδικό, συμπεριλαμβανομένων και των πηγών που ενδεχομένως χρησιμοποιήθηκαν από το διαδίκτυο. Επίσης, βεβαιώνουμε ότι αυτή η εργασία έχει συγγραφεί από εμάς αποκλειστικά και αποτελεί προϊόν πνευματικής ιδιοκτησίας τόσο δικής μας, όσο και του Ιδρύματος.

Παράβαση της ανωτέρω ακαδημαϊκής μας ευθύνης αποτελεί ουσιώδη λόγο για την ανάκληση των πτυχίων μας».

Η Δηλούσα

Γεωργία Δημητροπούλου




Η Δηλούσα

Αικατερίνη Γεωργαράκη



ΕΠΙΤΡΟΠΗ ΕΞΕΤΑΣΗΣ ΠΤΥΧΙΑΚΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

Η πτυχιακή εργασία αξιολογήθηκε από την κάτωθι εξεταστική επιτροπή:

| A/A | ΟΝΟΜΑΤΕΠΩΝΥΜΟ | ΒΑΘΜΙΔΑ | ΥΠΟΓΡΑΦΗ |
|-----|----------------------------|----------------------------|---|
| 1 | Ζουμπουλάκης Παναγιώτης | Πρόεδρος Τμήματος |  |
| 2 | Χούχουλα Δήμητρα | Αναπληρώτρια Καθηγήτρια | |
| 3 | Μπατρίνου Ανθιμία | Επίκουρη Καθηγήτρια | |

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Με την ολοκλήρωση της πτυχιακής μας εργασίας θα θέλαμε να εκφράσουμε τις θερμές μας ευχαριστίες στον επιβλέπων καθηγητή κ. Ζουμπουλάκη για την εμπιστοσύνη, τη συνεργασία του και την καθοδήγηση που μας παρείχε με τις εύστοχες συμβουλές και παρατηρήσεις του, καθώς και την προσφορά των δειγμάτων, απαραίτητων για το πειραματικό μέρος. Ακόμη, είναι σημαντικό να αναφερθεί η συμβολή του Αρεταίειου νοσοκομείου στην παρούσα πτυχιακή, παρέχοντας μας ένα αναλυτικό ερωτηματολόγιο με όλες τις απαραίτητες πληροφορίες, στα πλαίσια συνεργασίας για την μελέτη του μεταβολικού - λιπιδικού προφίλ μητρικού γάλακτος. Τέλος, η ολοκλήρωση της παρούσας εργασίας δεν θα ήταν δυνατή χωρίς τη συνεισφορά της κ. Χούχουλας, η οποία συντόνισε και επίβλεψε όλο το πειραματικό μέρος, παίζοντας καταλυτικό ρόλο στην κατανόηση της διαδικασίας αυτής, καθώς και την αδιάκοπη συμπαράσταση και υποστήριξη που μας παρείχε σε όλο αυτό το χρονικό διάστημα.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η σύνθεση του ανθρώπινου γάλακτος και συγκεκριμένα των IgA αντισωμάτων είναι δυναμική και μπορεί να ποικίλλει μεταξύ πολλών μητρικών παραγόντων και χαρακτηριστικών του νεογνού που επηρεάζουν το ανοσοποιητικό τους σύστημα. Στην παρούσα μελέτη, μελετήθηκαν δείγματα από 54 θηλάζουσες μητέρες και συλλέχθηκε τόσο πρωτόγαλα όσο και μεταβατικό γάλα. Διερευνήθηκε η συσχέτιση μεταξύ των συγκεντρώσεων των IgA αντισωμάτων του μητρικού γάλακτος και ορισμένων παραγόντων, όπως τα ανθρωπομετρικά χαρακτηριστικά (BMI, ηλικία), ο αριθμός τοκετών, τα νοσήματα (υποθυρεοειδισμός), οι επιπλοκές κύησης (θυρεοειδοπάθεια, σακχαρώδης διαβήτης κύησης), η νόσος COVID-19 και το εμβόλιο κατά αυτής. Για τον προσδιορισμό της συγκέντρωσης των IgA αντισωμάτων, χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος ELISA τύπου sandwich. Μέσω του στατιστικού test χ^2 για τους ποιοτικούς παράγοντες και της ανάλυσης διακύμανσης δύο παραγόντων χωρίς αλληλεπίδραση (ANOVA) για τους ποσοτικούς, προέκυψε ότι δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των IgA αντισωμάτων και των προαναφερθέντων παραγόντων ($p > 0,05$), με εξαίρεση τον παράγοντα COVID-19, στον οποίο και βρέθηκε σημαντική θετική συσχέτιση ($p = 6,2E-14 < 0,05$). Τα ευρήματα υποδηλώνουν ότι η συγκέντρωση των IgA αντισωμάτων του μητρικού γάλακτος επηρεάζεται κυρίως από την κατάσταση της μητρικής ανοσίας, όπως αυτή που αποκτά λόγω του SARS-CoV-2, αλλά αρκετές άλλες μεταβλητές ενδέχεται να την επηρεάσουν.

Λέξεις κλειδιά : IgA αντισώματα, μητρικό γάλα, πρωτόγαλα, ανοσοποιητικό σύστημα, νεογνό, ELISA

ABSTRACT

The composition of human milk and in particular the one of IgA antibodies is dynamic and can vary between many maternal factors and characteristics of the infant that affect their immune system. In the present study, samples from 54 breastfeeding mothers were studied and both colostrum and transitional milk were collected. The correlation between the concentrations of IgA antibodies in breast milk and certain factors such as anthropometric characteristics (BMI, age), number of births, diseases (hypothyroidism), childbirth complications (thyroid disease, diabetes mellitus), COVID-19 and the vaccine against it. The sandwich ELISA method was used to determine the concentration of IgA antibodies. Through the statistical test χ^2 for qualitative variables and the two-variable non-interaction analysis of variance (ANOVA) for the quantitative ones, it was found that there is no statistically significant difference between the IgA antibodies and the already mentioned variables ($p > 0.05$), with the exception of the factor COVID-19, in which was found a significant positive correlation ($p = 6,2E-14 < 0,05$). The results suggest that the concentration of IgA antibodies in breast milk is mainly affected by the state of maternal immunity, such as that acquired due to SARS-CoV-2, but many other variables can affect it as well.

Keywords: IgA antibodies, human milk, colostrum, immune system, infant, ELISA

Περιεχόμενα

| | |
|--|----|
| ΠΕΡΙΛΗΨΗ | 5 |
| ABSTRACT | 6 |
| ΕΥΡΕΤΗΡΙΟ ΠΙΝΑΚΩΝ | 9 |
| 1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ | 10 |
| 2. ΑΝΟΣΟΠΟΙΗΤΙΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ | 12 |
| 2.1 Μεταφορά ανοσίας στο νεογνό..... | 14 |
| 3. ΜΗΤΡΙΚΟ ΓΑΛΑ | 16 |
| 3.1 Χημική σύσταση του μητρικού γάλακτος..... | 18 |
| 3.2 Βασικά συστατικά του μητρικού γάλακτος | 19 |
| 3.2.1 Υδατάνθρακες | 19 |
| 3.2.2 Λίπη..... | 20 |
| 3.2.3 Πρωτεΐνες..... | 21 |
| 3.2.4 Βιταμίνες..... | 23 |
| 3.2.5 Μέταλλα και Ιχνοστοιχεία | 24 |
| 3.2.6 Αντισώματα..... | 25 |
| 4. ΑΝΟΣΟΣΦΑΙΡΙΝΗ IgA | 27 |
| 4.1 Ρόλος της IgA..... | 28 |
| 4.2 Μηχανισμοί μεταφοράς IgA αντισωμάτων στο νεογνό μέσω του μητρικού γάλακτος | 31 |
| 4.3 Παράγοντες που επηρεάζουν τη συγκέντρωση IgA..... | 33 |
| 4.3.1 Στάδιο γαλουχίας - αριθμός τοκετών | 33 |
| 4.3.2 Διάρκεια θηλασμού..... | 34 |
| 4.3.3 Ηλικία μητέρας - BMI..... | 35 |
| 4.3.4 Ψυχολογικός παράγοντας..... | 35 |
| 4.3.4 Κάπνισμα - Αλκοόλ | 36 |
| 4.3.5 Παθήσεις του θυρεοειδούς (θυρεοειδοπάθειες) | 37 |
| 4.3.6 Σακχαρώδης διαβήτης κύησης | 38 |
| 4.3.7 Λοιμώξεις | 38 |
| 4.3.8 Νόσος COVID-19..... | 39 |
| 4.3.9 Εμβόλιο κατά του κορωνοϊού (SARS-CoV-2)..... | 41 |
| 5. ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ IgA ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΩΝ ΣΤΟ ΜΗΤΡΙΚΟ ΓΑΛΑ..... | 43 |
| 5.1 Μέθοδοι ανίχνευσης IgA αντισωμάτων στο μητρικό γάλα..... | 44 |

| | |
|--|----|
| 5.1.1 ELISA..... | 44 |
| 5.1.2 Ανοσοηλεκτροφόρηση Rocket (Rocket immunoelectrophoresis)..... | 45 |
| 5.1.3 Νεφελομετρία (nephelometry)..... | 46 |
| 6. ΣΚΟΠΟΣ | 47 |
| 7. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ..... | 48 |
| 7.1 Αντιδραστήρια, Υλικά & Όργανα | 49 |
| 7.2 Πειραματική πορεία..... | 50 |
| 8. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ - ΣΥΖΗΤΗΣΗ | 54 |
| 8.1 Υπολογισμός IgA αντισωμάτων..... | 54 |
| 8.2 Ανάλυση δεδομένων | 57 |
| 8.2.1 Επεξεργασία αποτελεσμάτων..... | 59 |
| 8.2.2 Αναλύσεις διακύμανσης..... | 68 |
| 9. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ..... | 70 |
| ΠΑΡΑΡΤΗΜΑΤΑ..... | 74 |
| ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ | 75 |

ΕΥΡΕΤΗΡΙΟ ΠΙΝΑΚΩΝ

| | |
|--|----|
| Πίνακας 2.1: Ποσότητα συστατικών ανά 100mL ώριμου μητρικού γάλακτος | 18 |
| Πίνακας 2.2: Συγκεντρώσεις (g/L) πρωτεϊνών στο μητρικό γάλα κατά τη διάρκεια ενός χρόνου θηλασμού..... | 21 |
| Πίνακας 7.1: Αντιδραστήρια και υλικά στο kit | 49 |
| Πίνακας 7.2: Προετοιμασία προτύπων με διαδοχικές αραιώσεις..... | 52 |
| Πίνακας 8.1: Δεδομένα πρότυπης καμπύλης (1)..... | 55 |
| Πίνακας 8.2: Συγκεντρώσεις IgA αντισωμάτων στο μητρικό γάλα..... | 57 |
| Πίνακας 8.3: Πληροφορίες Ερωτηματολογίου..... | 59 |
| Πίνακας 8.4: Κατηγοριοποίηση ποιοτικών παραγόντων..... | 61 |
| Πίνακας 8.5: Πληροφορίες Ερωτηματολογίου έπειτα από κατηγοριοποίηση..... | 62 |
| Πίνακας 8.6: Ανάλυση ποιοτικών παραγόντων..... | 63 |
| Πίνακας 8.7: Ποιοτικοί παράγοντες με βάση την κατηγοριοποίηση των IgA αντισωμάτων..... | 65 |
| Πίνακας 8.8: Στατιστικό test χ^2 για τα νοσήματα..... | 65 |
| Πίνακας 8.9: Εφαρμογή ANOVA για το BMI..... | 69 |
| Πίνακας 8.10: Εφαρμογή ANOVA για την ηλικία..... | 69 |
| Πίνακας 8.11: Εφαρμογή ANOVA για τον αριθμό τοκετών..... | 70 |
| Πίνακας 8.12: Εφαρμογή ANOVA για την 2 ^η δόση εμβολίου..... | 70 |

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Το μητρικό γάλα αποτελεί ένα πολύτιμο βιολογικό υγρό, με υψηλή θρεπτική αξία και περιέχει όλα τα απαραίτητα συστατικά για την ανάπτυξη του βρέφους (πρωτεΐνες, υδατάνθρακες, λίπος, βιταμίνες, ιχνοστοιχεία κ.ά.), καθώς και ζωντανά κύτταρα και αντιμικροβιακούς παράγοντες (λευκά αιμοσφαίρια, αντισώματα, ιντερλευκίνες κ.ά.), που συμμετέχουν στην άμυνα του οργανισμού ενάντια στις λοιμώξεις. Επιπλέον, τα ανοσοτροποποιητικά συστατικά του μητρικού γάλακτος βοηθούν τον αναπτυσσόμενο οργανισμό του μωρού να αναπτύξει ένα ισχυρό ανοσοποιητικό σύστημα.

Η μεταφορά ανοσίας από τη μητέρα στο νεογνό μέσω του μητρικού γάλακτος αποτελεί ένα κάρριο, ωστόσο αμφιλεγόμενο ζήτημα που απασχολεί ιδιαίτερα τον σύγχρονο επιστημονικό κόσμο.

Αδιαμφισβήτητα, το ανοσοποιητικό σύστημα ενός νεογνού είναι ανώριμο κατά τη γέννηση, καθιστώντας το ευάλωτο σε οποιαδήποτε επαφή με μικρόβια, αυξάνοντας τους κινδύνους μόλυνσής του. Προκειμένου, λοιπόν, να αντισταθμιστεί αυτή η ανοσολογική ανωριμότητα, η μητέρα παρέχει τόσο παθητική όσο και ενεργητική προστασία στο θηλάζον νεογνό μέσω αντισωμάτων που λαμβάνονται από το μητρικό γάλα. Το κύριο αμυντικό σύστημα του ξενιστή παρέχεται μέσω των εκκριτικών IgA αντισωμάτων στους μαστικούς αδένες από λεμφοκύτταρα, τα οποία έχουν μεταναστεύσει εκεί από το βλεννογόνο του εντέρου της μητέρας. Με αυτόν τον τρόπο, τα αντισώματα αυτά κατευθύνονται εναντίον μικροβίων στο έντερο της μητέρας και των πρωτεϊνών της τροφής της.

Τα IgA αντισώματα είναι μείζονος σημασίας, καθώς είναι αυτά που καλύπτουν και σφραγίζουν την αναπνευστική και εντερική οδό του νεογνού, αποτρέποντας την είσοδο μικροβίων στο σώμα και στην κυκλοφορία του αίματος. Τα αντισώματα IgA μπορούν να το προστατέψουν από ποικίλες ασθένειες, συμπεριλαμβανομένων εκείνων που προκαλούνται από βακτήρια, ιούς, μύκητες και παράσιτα. Έτσι, η μεταφορά μητρικών αντισωμάτων στο θηλάζον νεογνό παρέχει παροδική ανοσολογική προστασία σε παθογόνα που είχε προηγουμένως συναντήσει η μητέρα

και συμβάλλει στα σημαντικά μειωμένα επίπεδα βρεφικής θνησιμότητας σε παιδιά που θηλάζουν σε σύγκριση με εκείνα που τρέφονται με γάλα.

Ωστόσο, αξίζει να σημειωθεί ότι η συγκέντρωση των IgA αντισωμάτων ποικίλλει μεταξύ των μητέρων και εξαρτάται από ορισμένους παράγοντες, οι σημαντικότεροι από τους οποίους είναι ο χρόνος λήψης του μητρικού γάλακτος, τα ανθρωπομετρικά χαρακτηριστικά της εκάστοτε μητέρας, τυχόν υποκείμενα νοσήματα, λοιμώξεις και επιπλοκές που φέρει καθώς και χαρακτηριστικά που αφορούν το νεογνό.

Σχετικά με τον προσδιορισμό IgA αντισωμάτων στο μητρικό γάλα έχουν καταγραφεί πολλά επιστημονικά δεδομένα, με την διεθνή βιβλιογραφία να είναι αέναη. Ωστόσο, πολλά από αυτά είναι είτε αμφιλεγόμενα είτε ανεπαρκή, ώστε να προκύψει κάποιο εύλογο συμπέρασμα, που να σχετίζει τη συγκέντρωση των αντισωμάτων αυτών με τους παράγοντες που προαναφέρθηκαν. Αυτός αποτελεί έναν από τους λόγους που κρίθηκε απαραίτητη η περαιτέρω έρευνα, τόσο βιβλιογραφικά όσο και πειραματικά, με απώτερο σκοπό την παραγωγή πρόσθετης γνώσης στην κατανόηση των μηχανισμών μεταφοράς ανοσοποίησης στο νεογνό και κατ' επέκταση την πρόληψη ασθενειών που τυχόν αυτό εμφανίσει.

2. ΑΝΟΣΟΠΟΙΗΤΙΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ

Το ανοσοποιητικό σύστημα είναι μια οργάνωση κυττάρων και μορίων με εξειδικευμένους ρόλους στην άμυνα έναντι των λοιμώξεων. Υπάρχουν δύο διαφορετικοί τύποι αντιδράσεων στα εισβάλλοντα μικρόβια. Οι έμφυτες (φυσικές) αποκρίσεις, στις οποίες πολλές φορές συναντάται ο μολυσματικός παράγοντας και μεσολαβούν στην αρχική φάση της προστασίας έναντι των λοιμώξεων και οι επίκτητες (προσαρμοστικές) αποκρίσεις, που αναπτύσσονται πιο αργά και μεσολαβούν στο όψιμο, αλλά και πιο αποτελεσματικό, στάδιο της άμυνας απέναντι στα μικρόβια (*PJ. Delves, IM. Roitt, 2000*).

Συγκεκριμένα, το ενδογενές ή έμφυτο ανοσοποιητικό σύστημα είναι η πρώτη γραμμή άμυνας κατά της μόλυνσης και ενεργοποιείται μέσα σε λίγα λεπτά, αντιδρώντας με μη ειδικό, προ-προγραμματισμένο και διαμορφωμένο τρόπο σε διάφορα μολυσματικά ή ξένα ερεθίσματα (*Newburg DS, Walker WA. ,2007*). Ο όρος έμφυτη ανοσία περιλαμβάνει φυσικούς, χημικούς και μικροβιολογικούς φραγμούς, αλλά συνήθως περιλαμβάνει τα στοιχεία του ανοσοποιητικού συστήματος (ουδετερόφιλα, μονοκύτταρα, μακροφάγα, συμπλήρωμα, κυτοκίνες και πρωτεΐνες οξείας φάσης), παρέχοντας άμεση άμυνα. Από την άλλη, οι επίκτητες αποκρίσεις αποτελούνται από αντιδράσεις που σχετίζονται με ειδικά αντιγόνα μέσω των T λεμφοκυττάρων, τα οποία παράγουν κυτοκίνες και των B λεμφοκυττάρων, που παράγουν αντισώματα (*Jacqueline Parkin, Bryony Cohen, 2001*).

Όσον αφορά στο ανοσοποιητικό σύστημα του βρέφους, αυτό είναι ανώριμο κατά τη γέννηση, θέτοντας το βρέφος σε αυξημένο κίνδυνο μόλυνσης. Πιο συγκεκριμένα, η νεογνική ζωή χαρακτηρίζεται από αυξημένη ευαισθησία σε μολυσματικούς παράγοντες, καθώς ο αριθμός κυττάρων του ανοσοποιητικού που υπάρχουν σε περιφερικούς λεμφικούς ιστούς στην πρώιμη ζωή, είναι μικρός (*Becky Adkins, et al., 2004*).

Όλα τα συστήματα οργάνων του νεογνού υφίστανται μια δραματική μετάβαση κατά τη γέννηση, από μια προστατευμένη ενδομήτρια κατάσταση, στο εξωμήτριο περιβάλλον. Σημαντικές αναπτυξιακές ανεπάρκειες του ανοσοποιητικού κατά τη γέννηση περιλαμβάνουν ατελείς φυσικούς και χημικούς φραγμούς, κακή έμφυτη λειτουργία των τελεστικών κυττάρων, περιορισμένη και καθυστερημένη παραγωγή εκκριτικής ανοσοσφαιρίνης Α (IgA) και ανεπαρκείς αντιφλεγμονώδεις μηχανισμούς του αναπνευστικού και του γαστρεντερικού συστήματος (*Andreas NJ, et al., 2015*).

Επιπλέον, αξίζει να αναφερθεί ότι η νεογνική περίοδος είναι ιδιαίτερα κρίσιμη γιατί μετά τη γέννηση τα νεογνά εκτίθενται αμέσως σε μεγάλο αριθμό μικροοργανισμών. Τα υψηλά ποσοστά νοσηρότητας και θνησιμότητας που παρατηρούνται κατά τους πρώτους μήνες της ζωής λόγω μολυσματικών ασθενειών όπως η μέση ωτίτιδα, οι λοιμώξεις του ανώτερου και κατώτερου αναπνευστικού συστήματος, η γαστρεντερίτιδα, η σήψη και η μηνιγγίτιδα οφείλονται, μεταξύ άλλων παραγόντων, σε σημαντικές ελλείψεις διαφόρων συστατικών, που σχετίζονται με την καλή υγεία και λειτουργία του ανοσοποιητικού συστήματος (*Patricia Palmeira, Magda C.S., 2016*).

Για αυτό τον λόγο, χρειάζεται χρόνος για το νεογνό να δημιουργήσει και να αναπτύξει το ανοσοποιητικό του σύστημα και να επεκτείνει το φάσμα των ιδιαιτεροτήτων του. Αυτό επιτυγχάνεται μέσω της μητέρας, η οποία συμβάλλει στην άμεση προστασία του νεογνού, στον αποικισμό με τη χλωρίδα του εντέρου της και στη συμβολή μακροπρόθεσμης δημιουργίας του δικού του ανοσοποιητικού συστήματος.

2.1 Μεταφορά ανοσίας στο νεογνό

Προκειμένου να αντισταθμιστεί αυτή η ανοσολογική ανωριμότητα, που είναι εγγενής στην εμβρυϊκή, νεογνική περίοδο και στους πρώτους μήνες της ζωής, η φύση έχει αναπτύξει μηχανισμούς προστασίας που παρέχονται από τη μητέρα, με κύριους: i) τη διαπλακουντιακή μεταφορά αντισωμάτων, ii) τους παράγοντες αντίστασης κατά των λοιμώξεων στο αμνιακό υγρό, και iii) το πρωτόγαλα και το ώριμο γάλα, όσον αφορά στην εξωμήτρια ζωή (*Patricia Palmeira, Magda C.S, 2016*).

Συνεπώς, η μεταφορά ανοσίας από τη μητέρα στο νεογνό πραγματοποιείται με δύο τρόπους. Τα αντισώματα μεταφέρονται στο νεογνό από την μητέρα μέσω του πλακούντα και μέσω του γάλακτος, προσφέροντας προστασία κατά την μεταγεννητική περίοδο ωρίμανσης του ανοσοποιητικού συστήματος. Αναλυτικότερα, η μεταφορά ανοσολογικών παραγόντων από τη μητέρα στο βρέφος ξεκινά στη μήτρα και συνεχίζεται μεταγεννητικά μέσω του θηλασμού. Είναι γνωστό ότι το βρέφος αποκτά ανοσία μέσω των λευκοκυττάρων, τα οποία καταπολεμούν παθογόνα άμεσα μέσω φαγοκυττάρωσης, παράγοντας βιοενεργά συστατικά, βοηθώντας στην ανάπτυξη του ανοσοποιητικού συστήματος του νεογνού ή στην τροποποίηση του μικροπεριβάλλοντος του πεπτικού συστήματος του βρέφους (*Hanson LA, 2000*).

Πρόσφατες μελέτες υποστηρίζουν ότι το μητρικό γάλα δεν παρέχει μόνο παθητική προστασία, αλλά επιπλέον διαμορφώνει κατευθείαν την ανοσολογική ανάπτυξη του βρέφους μέσω εξατομικευμένων μικροβιακών και ανοσολογικών παραγόντων, μεταδιδόμενων από την μητέρα στο παιδί. Πιο συγκεκριμένα, το ανθρώπινο γάλα μεταφέρει την ανοσία από την μητέρα στο παιδί, προσφέροντας ένα θρεπτικό περιβάλλον, το οποίο προστατεύει ενάντια στις λοιμώξεις και αναπτύσσει τον βρεφικό εντερικό βλεννογόνο, την μικροχλωρίδα και τις δικές τους ανοσολογικές άμυνες (*Kirsty Le Doare et al.,2018*).

Πράγματι, ο θηλασμός συνεισφέρει στην προστασία έναντι αναπνευστικών και γαστρεντερικών λοιμώξεων και σχετίζεται με την μείωση φλεγμονωδών ασθενειών όπως το άσθμα, ο διαβήτης, η παχυσαρκία καθώς και η φλεγμονώδη νόσος του εντέρου και σε περιπτώσεις κακής υγιεινής και υψηλού κινδύνου μόλυνσης, είναι πιθανό να έχει σημαντική σημασία για το βρέφος που θηλάζει. Επιπρόσθετα, έχει αποδειχθεί ότι μειώνει τη νοσηρότητα στη σηψαιμία, τη μέση ωτίτιδα και τη λοίμωξη του ουροποιητικού συστήματος. Βρέφη που θηλάζουν παρατεταμένα και αποκλειστικά με μητρικό γάλα έχουν βελτιωμένη εγκεφαλική λειτουργία (*Dogaru CM, et al., 2014*).

Ακριβώς όπως η διατροφή και η προστασία του εμβρύου πραγματοποιείται μέσω της μήτρας, του πλακούντα και του αμνιακού υγρού, αντίστοιχα η εξέλιξη του ανθρώπινου γάλακτος από το πρωτόγαλα στο ώριμο, παρέχει διατροφή και προστασία κατάλληλη για την ανάπτυξη του βρέφους και την ομαλή λειτουργία του δικού του ανοσοποιητικού συστήματος. Με άλλα λόγια, το μητρικό γάλα προσδίδει ενεργητική και παθητική ανοσία στο βρέφος, προσφέροντας μια μεγάλη ποικιλία αμυντικών παραγόντων, καθιστώντας το ως μια πλούσια πηγή ανοσοσφαιρινών, λακτοφερρίνης, λυσοζύμων, κυτοκινών και πολλών άλλων ανοσολογικών παραγόντων (*Hassiotou F. et al, 2013*).

Η περαιτέρω αποσαφήνιση της σχέσης μεταξύ του έμφυτου ανοσοποιητικού συστήματος και του μητρικού γάλακτος, καθώς και της αλληλεπίδρασης τους με την πάροδο του χρόνου, παραμένει πρόκληση για τον σύγχρονο ερευνητικό κόσμο. Για αυτό το λόγο, κρίνεται απαραίτητο να αναλυθεί το μητρικό γάλα τόσο ως προς τα στάδια του, όσο και ως προς τη σύστασή του.

3. ΜΗΤΡΙΚΟ ΓΑΛΑ

Το ανθρώπινο μητρικό γάλα είναι το χρυσό πρότυπο για τη διατροφή των βρεφών. Είναι αναγνωρισμένο από τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας (ΠΟΥ) και το Ταμείο των Ηνωμένων Εθνών για τα Παιδιά (UNICEF) ως η ιδανική διατροφή για ένα νεογέννητο μωρό. Ο ΠΟΥ και η UNICEF συνέστησαν τον αποκλειστικό θηλασμό έως την ηλικία των 6 μηνών, μαζί με κατάλληλες συμπληρωματικές τροφές έως την ηλικία των δύο ετών και άνω. Αυτοί οι δύο οργανισμοί έχουν δηλώσει από κοινού ότι η μοναδική σύνθεση του μητρικού γάλακτος καλύπτει όλες τις διατροφικές και φυσιολογικές απαιτήσεις των βρεφών κατά τους πρώτους 6 μήνες της ζωής του (*Dorota Garwolińska et al.,2018*).

Υπάρχουν τρία διαφορετικά στάδια του μητρικού γάλακτος: το πρωτόγαλα (πύαρ), το μεταβατικό γάλα και το ώριμο γάλα.

- Το πρωτόγαλα είναι το πρώτο υγρό που παράγεται από την 1η έως και την 4η μέρα μετά την γέννα. Είναι ένα δυναμικό υγρό, πλούσια πηγή σε θρεπτικά συστατικά, που περιέχει υψηλές συγκεντρώσεις από ποικίλους προστατευτικούς παράγοντες με αντι-μολυσματική δράση, όπως τα ένζυμα (λυσοζύμες, λακτοφερίνες κ.α.) , πληθώρα πρωτεϊνών, λιποδιαλυτών βιταμινών, μετάλλων, ανοσοσφαιρινών, κυτοκινών, ολιγοσακχαρίτες, νουκλεοτίδια, λιπίδια και ορμόνες οι οποίες αλληλεπιδρούν μεταξύ τους και με τους βλεννογόνους των πεπτικών και ανώτερων αναπνευστικών οδών των βρεφών, παρέχοντας παθητική ανοσία, καθώς και διέγερση για την ανάπτυξη και ωρίμανση του ανοσοποιητικού συστήματος του βρέφους. Ωστόσο, το πρωτόγαλα είναι σχετικά φτωχό σε λακτόζη, γεγονός που δείχνει ότι η κύρια λειτουργία του σχετίζεται περισσότερο με την άμυνα του οργανισμού του νεογνού, παρά με την ανάπτυξή του (*Pankaj Kaingade, et al.,2017*).

- Το μεταβατικό γάλα είναι αυτό που παράγεται την 2η και 3η εβδομάδα μετά τον τοκετό. Όσον αφορά στα συστατικά του, παρουσιάζει σημαντικές διαφορές από το πρωτόγαλα, όπως για παράδειγμα η μείωση στην περιεκτικότητα των πρωτεϊνών και ανοσοσφαιρινών, αλλά και η αύξηση του λίπους της λακτόζης και των υδατοδιαλυτών βιταμινών, με αποτέλεσμα υψηλότερη θερμιδική πυκνότητα του γάλακτος για να καλύψει τις αναπτυξιακές απαιτήσεις του βρέφους, ενώ οι ποσότητες των βιοενεργών παραγόντων μειώνονται με την πάροδο του χρόνου. *(Nicole Theresa Cacho, Robert M. Lawrence, 2017).*
- Το ώριμο γάλα παράγεται την 21η μέρα και η σύνθεση του μεταβάλλεται με αργούς ρυθμούς έως τον πρώτο μήνα που σταθεροποιείται. Η περιεκτικότητά του, σε σύγκριση με το πρωτόγαλα, είναι σημαντικά χαμηλότερη σε πρωτεΐνες και η περιεκτικότητα σε υδατάνθρακες υψηλότερη. Η περιεκτικότητα σε λιπαρά δεν ποικίλλει κατά τη διάρκεια της γαλουχίας, αλλά παρουσιάζει μεγάλες ημερήσιες διακυμάνσεις και αυξάνεται κατά τη διάρκεια του κάθε θηλασμού *(Ζάχου, 1996).*

Έτσι, όλα τα στάδια του γάλακτος παρέχουν θρεπτική αξία στα βρέφη. Εκτός από αυτά τα θρεπτικά συστατικά, το μητρικό γάλα περιλαμβάνει επίσης διάφορα κυτταρικά συστατικά. Αυτά τα πολύπλοκα μείγματα αλληλεπιδρώντων συστατικών του μητρικού γάλακτος συμβάλλουν στα ευεργετικά αποτελέσματα του θηλασμού. Αυτό σημαίνει ότι πέρα από τον απογαλακτισμό, προλαμβάνει ή μετριάσει αρκετές ασθένειες αργότερα στη ζωή. Είναι γεγονός ότι τα κυτταρικά συστατικά και οι αυξητικοί παράγοντες του μητρικού γάλακτος, συμπεριλαμβανομένων των βλαστοκυττάρων, συμβάλλουν στην ανάπτυξη, την ανοσία και την αναγεννητική ισχύ του νεογνού *(Pankaj Kaingade, et al., 2017).*

Ως εκ τούτου, δεν προκαλεί καθόλου έκπληξη το γεγονός ότι οι επιστήμονες ενδιαφέρονται εδώ και καιρό για την ποιοτική και ποσοτική σύνθεση του μητρικού γάλακτος.

3.1 Χημική σύσταση του μητρικού γάλακτος

Η γενική σύνθεση του ώριμου μητρικού γάλακτος είναι: 87% νερό, 7% λακτόζη, 3,8% λιπαρά και 1,0% πρωτεΐνη. Το λίπος και η λακτόζη, αντίστοιχα, παρέχουν το 50% και το 40% της συνολικής ενέργειας του γάλακτος **(Πίνακας 1)** (Camilia R.Martin et al, 2016).

Πίνακας 2.1. Σύσταση ανά 100mL ώριμου μητρικού γάλακτος

| Συστατικά | Ανά 100mL μητρικού γάλακτος |
|--|-----------------------------------|
| Πρωτεΐνες (g) | 1,3 |
| Καζεΐνη (% της ολικής πρωτεΐνης) | 40 |
| Πρωτεΐνη ορού (% της ολικής πρωτεΐνης) | 60 |
| Υδατάνθρακες (g) | 6,89 |
| Λιπίδια (g) | 4,38 |
| Κορεσμένα (g) | 2,01 |
| Πολυακόρεστα (g) | 0,5 |
| Ενέργεια (kcal) | 70 |

Lonnerdal B.,2004

Camilia R.et al,2016

Ωστόσο, η σύνθεση του αλλάζει ανάλογα με το στάδιο της γαλουχίας μέσα σε μια δεδομένη ημέρα, με την ώρα της ημέρας, με βάση το χρόνο από την τελευταία σίτιση (όσο μεγαλύτερος είναι ο χρόνος από την τελευταία σίτιση, τόσο χαμηλότερη είναι η συγκέντρωση λίπους στο βρέφος), με την ηλικία της μητέρας (η ηλικία της μητέρας επηρεάζει τη συγκέντρωση πρωτεΐνης), με τη μητρική διατροφή, με την εθνικότητα της μητέρας, με αύξηση βάρους της μητέρας κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης (υπάρχει συσχέτιση μεταξύ της αύξησης βάρους της μητέρας κατά τη διάρκεια της κύησης και της συγκέντρωσης του λίπους στο νεογνό) και με το βάρος γέννησης του βρέφους (το βάρος του νεογνού προκαλεί αλλαγές στην περιεκτικότητα σε συγκεκριμένα λιπαρά οξέα) (Dorota Garwolińska et al,2018).

3.2 Βασικά συστατικά του μητρικού γάλακτος

3.2.1 Υδατάνθρακες

Οι υδατάνθρακες περιλαμβάνουν μικρές ποσότητες μονοσακχαριτών, όπως γλυκόζη και γαλακτόζη, καθώς και ολιγοσακχαρίτες. Το κυρίαρχο σάκχαρο στο μητρικό γάλα είναι ο δισακχαρίτης λακτόζη. Η υψηλή συγκέντρωση του στο μητρικό γάλα, η οποία υπερέρχει από αυτή των άλλων ειδών, αντικατοπτρίζει τις υψηλές διατροφικές απαιτήσεις του ανθρώπινου μυαλού (*Andreas NJ et al., 2015*). Επιπρόσθετα, η λακτόζη αποτελεί μία σημαντική πηγή γαλακτόζης η οποία, στην συνέχεια, είναι σημαντική στην προώθηση της ανάπτυξης του κεντρικού νευρικού συστήματος.

Άλλοι σημαντικοί υδατάνθρακες στο μητρικό γάλα είναι οι ολιγοσακχαρίτες. Η απουσία αυτών των συστατικών ίσως έχει λειτουργικές επιπτώσεις. Για παράδειγμα, βρέφη που καταναλώνουν γάλα παραγόμενο από μητέρες που δεν εκκρίνουν ολιγοσακχαρίτες, εμφανίζουν καθυστερημένο αποικισμό *Bifidobacteria*, υψηλότερη αφθονία *Streptococcus* και έχουν λειτουργικές διαφορές στην μεταβολική δραστηριότητα της μικροχλωρίδας τους (*Lewis ZT, et al., 2015*). Οι ολιγοσακχαρίτες χρησιμεύουν και ως πρεβιοτικά, ενεργώντας σαν μεταβολικά υποστρώματα για τα βακτήρια, ενισχύοντας την ανάπτυξη των ευεργετικών βακτηρίων, συμπεριλαμβανομένων των *Bifidobacteria* και *Bacteroides species*. Ακόμη, ελέγχουν την επιρροή διάφορων βρεφικών βλεννογόνων και συστηματικών ανοσολογικών λειτουργιών (*Donovan SM, Comstock SS., 2016*).

Η αναλογία των ολιγοσακχαριτών ποικίλλει μεταξύ των μητέρων κατά τη διάρκεια της γαλουχίας και επηρεάζεται από την εθνικότητα και τον τόπο διαμονής, όπως επίσης και την αποκλειστικότητα του θηλασμού και μπορεί να έχει διαφορετικές επιδράσεις στην εντερική μικροχλωρίδα του βρέφους. Αυτό υποδηλώνει ότι οι υδατάνθρακες μπορεί να έχουν μια δοσοεξαρτώμενη επίδραση στην ανάπτυξη των βρεφών (*Gridneva Z., et al., 2019*).

3.2.2 Λίπη

Το 3-5% του ώριμου μητρικού γάλακτος αποτελείται από λιπίδια, παρέχοντας το 40-55% της συνολικής ενέργειας του. Ωστόσο, ο ρόλος των λιπιδίων δεν περιορίζεται μόνο για παροχή λίπους και κατ'έκταση για την κάλυψη των ενεργειακών απαιτήσεων του βρέφους. Τα λιπίδια συμβάλλουν στη σωστή ανάπτυξη και υγεία του νεογνού μέσω φυσιολογικών και μεταβολικών λειτουργιών. Επιπλέον, ορισμένα από αυτά, παρέχουν βασικά θρεπτικά και βιοδραστικά συστατικά σε βρέφη που θηλάζουν. Το λιπιδικό κλάσμα είναι επίσης πηγή λιποδιαλυτών βιταμινών (όπως οι βιταμίνες A, D, E και K) (*Dorota Garwolińska et al, 2018*).

Επιπλέον, αξίζει να αναφερθεί η συνεισφορά ορισμένων λιπαρών οξέων στην ανάπτυξη του εντέρου του νεογνού. Κορεσμένα και μονοακόρεστα λιπαρά οξέα επηρεάζουν την ποικιλία μικροβίων του ανθρώπινου μητρικού γάλακτος και του νεογνικού εντέρου. Πιο συγκεκριμένα, τα υψηλότερα επίπεδα μονοακόρεστων λιπαρών οξέων στο μητρικό γάλα έχουν ως αποτέλεσμα τη μείωση του σταφυλόκοκκου, *Pseudomonas*, *Lactobacillus* και *Bifidobacterium*, ενώ το επίπεδο των κορεσμένων λιπαρών οξέων στο μητρικό γάλα συσχετίστηκε αρνητικά με τον στρεπτόκοκκο (*Ramiro Cortijo, D. et al, 2020*).

Καθώς η περιεκτικότητα σε λιπίδια του ώριμου ανθρώπινου γάλακτος δεν φαίνεται να αλλάζει πολύ με το στάδιο της γαλουχίας, υπάρχει μια τεράστια διαφοροποίηση μεταξύ των μητέρων. Ενώ οι συγκεντρώσεις πρωτεΐνης και λακτόζης είναι σχετικά σταθερές κατά τη διάρκεια της ημέρας, το ποσοστό λίπους τείνει να είναι υψηλότερο κατά τη διάρκεια της ημέρας και χαμηλότερο κατά τη διάρκεια της νύχτας (*Demmelmair H., Koletzko B, 2018*).

3.2.3 Πρωτεΐνες

Οι πρωτεΐνες του ανθρώπινου γάλακτος μπορούν να ταξινομηθούν ευρέως σε 3 κατηγορίες: καζεΐνες, πρωτεΐνες ορού γάλακτος και βλεννίνες, που υπάρχουν στη μεμβράνη του λίπους του γάλακτος. Οι πρωτεΐνες ορού γάλακτος που υπάρχουν στην υψηλότερη συγκέντρωση είναι η α-λακταλβουμίνη, λακτοφερρίνη, εκκριτική IgA, οστεοποντίνη και λυσοζύμη (**Πίνακας 2.2**) (*Donovan S. M.,2019*).

Πίνακας 2.2. Συγκεντρώσεις (g/L) πρωτεϊνών στο μητρικό γάλα κατά τη διάρκεια ενός χρόνου θηλασμού

| Πρωτεΐνη | Πρωτόγαλα (0-5) | Πρώιμο (6-15) | Μεταβατικό (16-30) | Όριμο (31-360) |
|-----------------|--------------------|------------------|-----------------------|-------------------|
| Ολική πρωτεΐνη | 20,6 | 15,7 | 14,8 | 11,1 |
| α-λακταλβουμίνη | 4,56±0,41 | 4,3±0,41 | 3,52±0,27 | 2,85±0,24 |
| Λακτοφερρίνη | 6,15±0,89 | 3,65±1,19 | 2,46±0,27 | 1,76±0,28 |
| Λυσοζύμη | 0,32±0,01 | 0,30±0,01 | 0,28±0,11 | 0,38±0,15 |
| Εκκριτική IgA | 5,45±1,7 | 1,5±0,22 | 1,10±0,32 | 1,14±0,21 |
| Οστεοποντίνη | 0,180±0,10 | | | 0,138±0,09 |

Τα δεδομένα εκφράζονται ως μέσος όρος ± τυπική απόκλιση.
(*Lönnerdal et al.,2003*)

Οι πρωτεΐνες αντιπροσωπεύουν το τρίτο σε αφθονία στερεό στο ανθρώπινο γάλα, παρέχοντας όχι μόνο θρέψη αλλά και εκτελώντας πολλές βιοδραστικές λειτουργίες. Πράγματι, το μητρικό γάλα περιέχει εκατοντάδες πρωτεΐνες με ποικίλες λειτουργίες που πιθανώς συμβάλλουν στα βραχυπρόθεσμα και μακροπρόθεσμα ευεργετικά αποτελέσματα του θηλασμού. Αυτές οι λειτουργίες περιλαμβάνουν τη χρήση ως πηγή αμινοξέων, βελτιώνοντας τη βιοδιαθεσιμότητα των μικροθρεπτικών συστατικών, συμπεριλαμβανομένων βιταμινών, μετάλλων και ιχνοστοιχείων, παρέχοντας ανοσολογική άμυνα, διεγείροντας την ανάπτυξη και ωρίμανση του εντέρου, διαμορφώνοντας το μικροβίωμα και ενισχύοντας τη μάθηση και μνήμη (*Donovan S. M.,2019*).

Επιπλέον δραστηριότητες αποτελούν αυτές των ενζύμων με την ενίσχυση της απορρόφησης θρεπτικών συστατικών, τη ρύθμιση του ανοσοποιητικού συστήματος και την άμυνα έναντι παθογόνων να είναι οι πιο σημαντικές. Τα αμινοξέα απορροφώνται και χρησιμοποιούνται ως δομικό στοιχείο για τη σύνθεση νέων πρωτεϊνών στο σώμα. Ωστόσο, πρέπει να ληφθεί υπόψη ότι ορισμένες θρεπτικές πρωτεΐνες, που απορροφώνται εν μέρει ή πολύ, μπορεί να ασκούν βιολογικές λειτουργίες. Επιπλέον, είναι πλέον καλά αναγνωρισμένο ότι ορισμένες λειτουργικές πρωτεΐνες ανιχνεύονται ανέπαφες στα κόπρανα των βρεφών. Συνολικά, αυτά τα δεδομένα υποδηλώνουν ότι οι πρωτεΐνες εμπλέκονται στους μηχανισμούς που ευθύνονται για τις ευεργετικές επιδράσεις στην υγεία που σχετίζονται με το θηλασμό, όπως ο μειωμένος κίνδυνος εμφάνισης νοσημάτων, ιδιαίτερα λοιμώξεων (*Haschke F., et al, 2016*).

Όλο και περισσότερα στοιχεία δείχνουν ότι η ποσότητα και η ποιότητα της πρωτεΐνης στον ανθρώπινο γάλα διαδραματίζει κρίσιμο ρόλο στη ρύθμιση της βρεφικής ανάπτυξης και σύστασης του σώματος. Η υψηλή πρόσληψη πρωτεϊνών στη βρεφική ηλικία έχει πράγματι συσχετιστεί με αυξημένο κέρδος βάρους και κίνδυνο ανάπτυξης παχυσαρκίας αργότερα στη ζωή μέσω της ενεργοποίησης του άξονα -1 που μοιάζει με την ινσουλίνη (*Luque V, et al, 2016*).

Οι λειτουργικές πρωτεΐνες, έτσι, παρέχουν άμυνα έναντι λοιμώξεων μέσω: ανοσολογικών παραγόντων (αντισώματα όπως εκκριτική ανοσοσφαιρίνη Α, ζωντανά κύτταρα, κυτοκίνες ή μόρια σηματοδότησης), ενεργών πρωτεϊνών και ενζύμων (λακτοφερρίνη, λυσοζύμη, ολιγοσακχαρίτες/γλυκοπρωτεΐνες), μικροχλωρίδας του εντέρου (μέσω του πρεβιοτικού αποτελέσματος) και θρεπτικών συστατικών για τη βελτιστοποίηση του ανοσοποιητικού συστήματος του βρέφους (*B. Lönnerdal, 2013*).

3.2.4 Βιταμίνες

Μαζί με τα μακροθρεπτικά συστατικά, το ανθρώπινο γάλα παρέχει τα απαραίτητα μικροθρεπτικά συστατικά, όπως οι λιποδιαλυτές και υδατοδιαλυτές βιταμίνες.

Λιποδιαλυτές βιταμίνες:

Οι λιποδιαλυτές βιταμίνες A , D , E και K περιέχονται όλες στο μητρικό γάλα , σε διάφορους βαθμούς συγκέντρωσης. Οι βιταμίνες A και E υπάρχουν σε υψηλές συγκεντρώσεις στο πρωτόγαλα σε σύγκριση με το ώριμο γάλα, ενώ οι βιταμίνες D και K παραμένουν σε χαμηλή περιεκτικότητα στο ανθρώπινο γάλα (*D. Hampel, et al., 2018*). Πρόσφατα δεδομένα υποδηλώνουν ότι, σε αντίθεση με τις βιταμίνες A και E, επίπεδα βιταμινών D και K στο μητρικό γάλα είναι χαμηλότερα από αυτά που απαιτούνται για την κάλυψη των απαιτήσεων για πολλά βρέφη. Έτσι, ο θηλασμός είναι παράγοντας κινδύνου για ραχίτιδα και αιμορραγική νόσο και για τον λόγο αυτό, οι βιταμίνες D θα πρέπει να προστίθενται στη διατροφή των βρεφών σε πρώιμο στάδιο (*M.Romeu-Nadal et al., 2006*).

Υδατοδιαλυτές βιταμίνες:

Τις υδατοδιαλυτές βιταμίνες αποτελούν η βιταμίνη C, η θειαμίνη, η ριβοφλαμίνη, η νιασίνη, η βιταμίνη B6, η βιταμίνη B12, η βιοτίνη, το παντοθενικό οξύ και το φυλλικό οξύ. Τα επίπεδα των υδατοδιαλυτών βιταμινών μειώνονται πάρα πολύ στο πρώιμο στάδιο του θηλασμού με εξαίρεση το φυλλικό οξύ, αλλά η ένταση της ροής του γάλακτος αυξάνεται και η συνολική τροφή παραμένει σε επαρκή επίπεδα. Επιπλέον, οι βιταμίνες, και ειδικά αυτές από την ομάδα B, παίζουν θεμελιώδη ρόλο στην υποστήριξη της πλαστικότητας του εγκεφάλου (*DO Kennedy, 2016*).

3.2.5 Μέταλλα και Ιχνοστοιχεία

Επιπλέον βασικά θρεπτικά συστατικά του ανθρώπινου γάλακτος αποτελούν τα μέταλλα και τα ιχνοστοιχεία. Το ανθρώπινο γάλα περιέχει μικρές ποσότητες μετάλλων και είναι αυτά που ρυθμίζουν τη λειτουργία του σώματος. Τα κύρια μεταλλικά συστατικά του ανθρώπινου γάλακτος είναι τα νάτριο (Na), το κάλιο (K), το ασβέστιο (Ca), το μαγνήσιο (Mg), ο φωσφόρος (P) και το χλώριο (Cl). Ο φωσφόρος είναι πολύ πιο σταθερός από το ασβέστιο, αλλά είναι χαμηλότερος σε αναλογία με την καζεΐνη και το ασβέστιο από ότι στα γάλατα των περισσότερων άλλων ειδών. Σε μεγαλύτερες περιεκτικότητες, καθώς και μεγαλύτερης σημασίας φαίνεται να είναι το ασβέστιο, το κάλιο και ο χαλκός (*Jenness R.,1979*).

Το μητρικό γάλα αποτελείται από τα εξής ιχνοστοιχεία: ιώδιο, σίδηρος, ψευδάργυρος, μαγνήσιο, σελήνιο, χρώμιο, κοβάλτιο και χαλκός. Τα επίπεδα σιδήρου, χαλκού και ψευδαργύρου παρουσιάζονται υψηλότερα ακριβώς μετά την γέννηση. Κατά το διάστημα της γέννησης έως τους πέντε μήνες ζωής του βρέφους, η συγκέντρωση του χαλκού μειώνεται και έπειτα σταθεροποιείται. Αντίθετα, ο ψευδάργυρος και ο σίδηρος απαντώνται σε χαμηλά επίπεδα (*Καλλιόπη Γ., Δριτσάκου,2017*).

3.2.6 Αντισώματα

Το ανθρώπινο γάλα έχει αντισώματα που κατευθύνονται σε πολυάριθμα παθογόνα με τα οποία η μητέρα είχε επαφή καθ' όλη τη διάρκεια της ζωής της, αντιπροσωπεύοντας κατά κάποιο τρόπο μια ανοσολογική μνήμη. Αυτά τα αντισώματα αποτελούν την πλειονότητα της περιεκτικότητας σε πρωτεΐνη αυτής της έκκρισης πρωτογάλακτος στις πρώτες ημέρες της γαλουχίας. Ωστόσο, οι συγκεντρώσεις αντισωμάτων πέφτουν κατά τη διάρκεια της γαλουχίας, αλλά η ποσότητα των ανοσοσφαιρινών που λαμβάνει το νεογνό παραμένει αμετάβλητη, λόγω της αυξημένης πρόσληψης γάλακτος (*Hanson LA, Korotkova M. ,2002*).

Σημαντικό, επίσης, είναι να γίνει πλήρης κατανόηση της προέλευσης των αντισωμάτων και των ενεργοποιητών τους. Συγκεκριμένα, η παραγωγή αντισωμάτων ξεκινά από τα Β κύτταρα. Αυτό βοηθά στην εξουδετέρωση των τοξινών, καθώς αποτρέπεται η προσκόλληση των μικροοργανισμών στις επιφάνειες του βλεννογόνου, ευαισθητοποιώντας τα βακτήρια για φαγοκυττάρωση. Έτσι το αντίσωμα δρα για να ενισχύσει στοιχεία του εγγενούς συστήματος. Αν και τελικά το αντίσωμα είναι το εκκρινόμενο προϊόν των ενεργοποιημένων Β κυττάρων, νωρίτερα στην ανάπτυξη των Β-κυττάρων, ένα μόριο δεσμευμένο στη μεμβράνη δρα ως υποδοχέας Β-κυττάρων. Διαφορετικές κατηγορίες αντισωμάτων κυριαρχούν σε διαφορετικά μέρη του σώματος, όπως για παράδειγμα το IgM είναι ενδοαγγειακό, το IgG το κύριο αντίσωμα του αίματος και των ιστών και το IgA στις εκκρίσεις (*Jacqueline Parkin, Bryony Cohen, 2001*).

Αν και όλοι οι ισότυποι ανοσοσφαιρίνης βρίσκονται στο πρωτόγαλα και στο γάλα, η εκκριτική IgA (SIgA) θεωρείται η πιο σημαντική, τόσο σε σχέση με τη συγκέντρωση όσο και με τις βιολογικές ιδιότητες που παρουσιάζει. Τα αντισώματα SIgA στο μητρικό γάλα είναι απαραίτητα για την άμυνα των βλεννογόνων. Αυτά τα αντισώματα εμποδίζουν αποτελεσματικά την είσοδο μικροοργανισμών στους ιστούς, είναι

αντιφλεγμονώδη και δεν καταναλώνουν ενέργεια κατά τη διάρκεια της αντίδρασης (*Brandtzaeg P.,2010*) .

Τα αντισώματα IgM είναι η δεύτερη πιο άφθονη ανοσοσφαιρίνη στο ανθρώπινο πρωτόγαλα, σε συγκεντρώσεις έως και 2,5 mg/mL. Τα αντισώματα IgM που αντιδρούν με ιούς και βακτήρια, μπορεί να διαδραματίσουν σημαντικό ρόλο στην προστασία των βλεννογόνων επιφανειών των βρεφών. Σε άτομα με εκλεκτική ανεπάρκεια IgA, τα αντισώματα SIgM έχουν μεγάλη σημασία, καθώς αποτελούν μηχανισμό αντιστάθμισης για την έλλειψη SIgA στους βλεννογόνους και υπάρχουν σε υψηλά επίπεδα σε αυτές τις εκκρίσεις (*Palmeira P.et al, 2009*).

Τέλος, η IgG βρίσκεται σε χαμηλές συγκεντρώσεις στο ανθρώπινο γάλα, περίπου 0,1 mg/mL και, εκτός από την εξουδετερωτική δράση, έχει και οψωνοποιητική δράση που μπορεί να ενεργοποιήσει το σύστημα του συμπληρώματος και κυτταροτοξικότητα που εξαρτάται από τα αντισώματα, η οποία δεν θεωρείται ότι παρουσιάζεται εμφανώς στις επιφάνειες του βλεννογόνου των βρεφών. Αντίθετα, περίπου το 70-80% των ανοσοσφαιρινών στο αίμα είναι IgG, ενώ είναι η μόνη ανοσοσφαιρίνη που μπορεί να περάσει από τον πλακούντα (*Hanson LA. et al, 2003*).

Παρακάτω αναλύεται η ανοσοσφαιρίνη IgA, ο ρόλος της και οι παράγοντες από τους οποίους εξαρτάται, ώστε να συμβάλει στην περαιτέρω εμβάθυνση του ζητήματος και την εξαγωγή ορισμένων συμπερασμάτων, απαραίτητων για το πειραματικό μέρος.

4. ΑΝΟΣΟΣΦΑΙΡΙΝΗ IgA

Η ανθρώπινη ανοσοσφαιρίνη Α (IgA) ανήκει στην οικογένεια των ανοσοσφαιρινών πρωτεϊνών που περιλαμβάνουν ανθρώπινη IgG, IgE και IgM και είναι γνωστές ως αντισώματα. Αποτελείται από δύο είδη, την εκκριτική-secretory (SIgA) και την εκκρινόμενη - secreted (sIgA). Όσον αφορά στη δομή τους, η εκκρινόμενη IgA μπορεί να είναι μονομερής, διμερής και σπανιότερα τριμερής και παράγεται από ενεργοποιημένα Β κύτταρα ή πλασματοκύτταρα, ενώ η εκκριτική IgA είναι διμερής και εκκρίνεται σε επιφάνειες του βλεννογόνου. Η διμερής μορφή IgA περιέχει δύο επιπλέον πρωτεΐνες, το εκκριτικό κομμάτι και μια αλυσίδα J. Το πρώτο συντίθεται στα επιθηλιακά κύτταρα και προστίθεται στο IgA καθώς περνά στις εκκρίσεις, προστατεύοντάς το από την υποβάθμιση. Επιπλέον, υπάρχουν δύο υποκατηγορίες IgA στον άνθρωπο, IgA1 και IgA2, οι οποίες κατανέμονται διαφορετικά κατά μήκος των βλεννογόνων μεμβρανών, με το IgA1 να υπάρχει κυρίως στην αναπνευστική οδό, στο σάλιο, στον ορό και στο δέρμα και το IgA2 να είναι το κύριο εκκριτικό αντίσωμα του εντέρου.

Η IgA έχει ουσιαστικό ρόλο στην ανοσία του βλεννογόνου και είναι η δεύτερη πιο κοινή Ig ορού στο ένα πέμπτο περίπου της συγκέντρωσης της IgG. Ωστόσο, είναι η πιο άφθονη ανοσοσφαιρίνη στις εκκρίσεις, όπως το σάλιο, η βλέννα, ο ιδρώτας, το πρωτόγαλα και τα δάκρυα και αποτελεί, εν γένει, το πιο άφθονο σε ποσότητα αντίσωμα στο ανθρώπινο σώμα. Στη βασική τους ανασκόπηση, οι *Hanson και Winberg* κατέληξαν ήδη στο συμπέρασμα ότι η IgA του μητρικού γάλακτος δεν απορροφάται από το έντερο του βρέφους, αλλά επικαλύπτει την επιφάνεια του βλεννογόνου του εντέρου για να το προστατεύει από παθογόνα. Έτσι, οι ανοσοσφαιρίνες IgA δημιουργούν ένα προστατευτικό στρώμα στις εσωτερικές επιφάνειες στο στόμα, τη μύτη, το στομάχι, τα πνευμόνια και το έντερο, εμποδίζοντας την είσοδο παθογόνων (*Marie Albrecht, Petra Clara Arck, 2020*).

Στο πρωτόγαλα οι συγκεντρώσεις SIgA είναι περίπου 12 mg/mL, ενώ το ώριμο γάλα περιέχει μόνο ~1 mg/mL, υπογραμμίζοντας τον προστατευτικό ρόλο του πρωτογάλακτος. Τα βρέφη που θηλάζουν προσλαμβάνουν περίπου 0,5-1,0 g SIgA την ημέρα (Lawrence RM, Lawrence RA, 2004). Η SIgA ευθύνεται για το 80 έως 90% των συνολικών ανοσοσφαιρινών στο ανθρώπινο γάλα και τα βρέφη που τρέφονται αποκλειστικά με θηλασμό λαμβάνουν περίπου το 0,3 g/L/ημέρα αυτής της πρωτεΐνης, όπου μόνο περίπου το 10% απορροφάται από τα έντερα και μεταφέρεται στην κυκλοφορία του αίματος. Έτσι, η δράση του μπορεί να χαρακτηριστεί ως τοπική (Brandtzaeg P. et al, 2008).

4.1 Ρόλος της IgA

Όσον αφορά στον ρόλο της IgA και συγκεκριμένα της εκκριτικής IgA (SIgA), αυτός σχετίζεται άμεσα με την δράση στην επιφάνεια του βλεννογόνου της γαστρεντερικής οδού, προστατεύοντας το νεογνό από δυνητικά επιβλαβή μικροβιακά αντιγόνα και αντιγόνα τροφίμων. Η προστασία αυτή πραγματοποιείται μέσω ενός αριθμού μηχανισμών, που ακινητοποιούν παθογόνα και εμποδίζουν έτσι την προσκόλληση στις επιθηλιακές επιφάνειες των κυττάρων, καθώς και εξουδετερώνοντας τις τοξίνες και τους παράγοντες λοιμογόνου δράσης. Με αυτόν τον τρόπο, αποφεύγεται η εμπλοκή των ιστών, η φλεγμονή και μια ενεργειακά δαπανηρή αμυντική αντίδραση. Η προστασία αυτή παρέχεται εναντίον πολλών διαφορετικών εντερικών και αναπνευστικών παθογόνων, όπως για παράδειγμα των *Vibrio cholerae*, *Campylobacter*, *Shigella* και *Giardia lamblia* (Andreas N. J, et al., 2015).

Το IgA επιβιώνει κατά τη διέλευση από τον γαστρεντερικό σωλήνα και η ανίχνευσή του στα κόπρανα βρεφών που θηλάζουν καθ' όλη τη διάρκεια του πρώτου έτους, υποδηλώνει ότι οι ποσότητες που λαμβάνονται παραμένουν επαρκείς για την παροχή προστασίας του βλεννογόνου, παρά την αυξανόμενη επιφάνεια του γαστρεντερικού σωλήνα. Έτσι, δρα τοπικά στο έντερο του νεογνού ως πρώτη γραμμή άμυνας που

κατευθύνεται σε ξένα αντιγόνα. Ως αποτέλεσμα, τα μόρια SIgA παραμένουν ενεργά σε όλη τη γαστρεντερική οδό του νεογέννητου και επηρεάζουν τη δέσμευση κοινών ή παθογόνων μικροοργανισμών, τοξινών, ιών και άλλων αντιγονικών υλικών, όπως ο λιποπολυσακχαρίτης (LPS), εμποδίζοντας την προσκόλληση και διείσδυσή τους στο επιθήλιο χωρίς να προκαλείται φλεγμονή (*Veronique Demers-Mathieu, et al.,2018*).

Η πολύ υψηλή συγκέντρωση της εκκριτικής IgA στο ανθρώπινο πρωτόγαλα και στο γάλα, υποδηλώνει έντονα ότι πρέπει να παίζει σημαντικό ρόλο στην παθητική (και πιθανώς ενεργή) ανοσολογική προστασία του νεογνού . Ο θηλασμός μειώνει τον βρεφικό θάνατο από λοιμώξεις του γαστρεντερικού και του αναπνευστικού συστήματος. Αναλυτικότερα, η εκκριτική IgA μπορεί να αποτρέψει την προφλεγμονώδη απόκριση που προκαλείται από την ενεργοποίηση άλλων μηχανισμών άμυνας του ανοσοποιητικού συστήματος. Πολλές μελέτες έχουν βρει αυξημένες συγκεντρώσεις ειδικών για παθογόνα sIgA και εξουδετερωτικών αντισωμάτων στο μητρικό γάλα μετά από μητρική ανοσοποίηση. Τα δεδομένα υποδηλώνουν, επίσης, ότι ο αποκλειστικός θηλασμός μετά τον εμβολιασμό κατά της γρίπης της μητέρας, σχετίζεται με μειωμένες λοιμώξεις του αναπνευστικού συστήματος κατά τους πρώτους 6 μήνες της ζωής. Το εάν αυτό το αποτέλεσμα προκύπτει από την αυξημένη ποσότητα της ειδικής IgA του μητρικού γάλακτος ή από τη διαπλακουντιακή μεταφορά της ειδικής για τη γρίπη της μητέρας IgG παραμένει αδιευκρίνιστο (*Lisa Burry et al.,2021*).

Ομοίως, όπως φαίνεται στα βασικά επιστημονικά μοντέλα, τα μητρικά αντισώματα μπορούν δυνητικά να διατηρήσουν μικροβιακά μόρια και να τα μεταδώσουν στους απογόνους μέσω του πλακούντα και του θηλασμού. Στη συνέχεια, οι απόγονοι είναι σε θέση να αποτρέψουν μια φλεγμονώδη απόκριση σε μικροβιακά μόρια και να επιτρέψουν τον αποικισμό των εντερικών μικροβίων (*Marie Albrecht, Petra Clara Arck, 2020*).

Η πιο κοινή ασθένεια που σχετίζεται με υψηλά επίπεδα IgA στο νεφρό είναι η IgA νεφροπάθεια, επίσης γνωστή ως νόσος του Berger. Δεν υπάρχει σαφής διευκρίνιση ως προς το γιατί εμφανίζονται εναποθέσεις IgA στους νεφρούς. Ωστόσο, η ανωμαλία στο ανοσοποιητικό σύστημα είναι μια πιθανότητα. Άλλες ασθένειες με τις οποίες σχετίζεται η IgA είναι η Ρευματοειδής Αρθρίτιδα, η Crohn Νόσος, η κοιλιοκάκη και η πορφύρα Henoch-Schoenlein (HSP). Αντίθετα, η ανεπάρκεια ανοσοσφαιρίνης A (IgA) είναι η πιο κοινή πρωτοπαθής ανοσοανεπάρκεια που ορίζεται ως μειωμένο επίπεδο IgA ορού παρουσία φυσιολογικών επιπέδων άλλων ισοτύπων ανοσοσφαιρίνης. Τα περισσότερα άτομα με ανεπάρκεια IgA είναι ασυμπτωματικά και αναγνωρίζονται συμπτωματικά. Ωστόσο, ορισμένοι ασθενείς μπορεί να εμφανίσουν υποτροπιάζουσες λοιμώξεις του αναπνευστικού και του γαστρεντερικού συστήματος, αλλεργικές διαταραχές και εκδηλώσεις αυτοάνοσων νοσημάτων (*Leman Yel, 2010*).

Προκειμένου, όμως, να γίνει κατανοητός πρακτικά ο ρόλος των αντισωμάτων IgA, χρήζει περισσότερη ανάλυση στη διαδικασία και τους μηχανισμούς με τους οποίους αυτά μεταφέρονται στον "ανώριμο" οργανισμό του νεογνού μέσω του μητρικού γάλακτος.

4.2 Μηχανισμοί μεταφοράς IgA αντισωμάτων στο νεογνό μέσω του μητρικού γάλακτος

Το νεογνό αποκτά αντισώματα (Igs) με δύο τρόπους: μεταφορά IgG μέσω του πλακούντα πριν από τη γέννηση και μεταφορά IgA, IgM και IgG μέσω του μητρικού γάλακτος. Όπως ήδη προαναφέρθηκε, καίριο στοιχείο της νεογνικής ανοσίας αποτελεί η πρόσληψη μητρικού γάλακτος, το οποίο περιέχει σημαντική ποσότητα εκκριτικών IgA αντισωμάτων (*Hanson, L.A., et al. 2005*).

Αναλυτικότερα, μέσω της εντερομαστικής κυκλοφορίας, μια θηλάζουσα μητέρα μπορεί να εκκρίνει στο γάλα την ειδική IgA που προστατεύει το βρέφος της από μικροβιακά αντιγόνα, στα οποία έχουν εκτεθεί τόσο η ίδια όσο και το βρέφος της. Τα αντιγόνα που προσλαμβάνονται από τις μητέρες «αναγνωρίζονται» από τα Μ κύτταρα -γνωστά ως εξειδικευμένα επιθηλιακά κύτταρα-στην επιφάνεια του βλεννογόνου του λεπτού εντέρου, όπου εκκινούνται τα τοπικά λεμφοκύτταρα. Τα λεμφοειδή αυτά κύτταρα μεταναστεύουν στους μαστικούς αδένες, όταν αυτοί έχουν επηρεαστεί από τις γαλακτογενείς ορμόνες, προς το τέλος της εγκυμοσύνης (*Wold AE, Hanson L.A., 1994*).

Στους μαστικούς αδένες καθώς και σε άλλους ιστούς που σχετίζονται με τις επιφάνειες του βλεννογόνου, τα πλασματοκύτταρα παράγουν τα ειδικά διμερή αντισώματα IgA. Τα επιθηλιακά κύτταρα των μαστικών κυψελίδων μεταφέρουν τα μόρια IgA από τον συνδετικό ιστό στο μητρικό γάλα μέσω διακυττάρωσης προσθέτοντας το εξωτοιχωματικό τμήμα του υποδοχέα μεταφοράς, το polyIgR (*V. Snoeck, et al., 2006*). Αυτά τα αντισώματα, τα οποία κατευθύνονται κυρίως έναντι των μικροβιακών αντιγόνων, λειτουργούν κυρίως με την επικάλυψη των μικροβίων στο έντερο του βρέφους που θηλάζει, εμποδίζοντάς τα να προσκολληθούν και να εισέλθουν στον βλεννογόνο του εντέρου (*Marina Korotkova, et al., 2003*).

Όταν το βρέφος καταναλώνει αυτό το γάλα, η sIgA είναι ανθεκτική στην πέψη, συσσωρεύεται στο έντερο και συνδέεται με αντιγόνα του παθογόνου για να το καταστήσει λιγότερο μολυσματικό, προστατεύοντας έτσι το βρέφος από το παθογόνο. Έτσι, παρέχει παροδική ανοσολογική προστασία έναντι σε παθογόνα που είχε προηγουμένως συναντήσει η μητέρα και συνεισφέρει στην δραματική μείωση των επιπέδων θνησιμότητας σε παιδιά που θηλάζουν (*D.S Newburg, W.A Walker, 2007*).

Ωστόσο, οι πολλές ημέρες που μεσολαβούν μεταξύ της έκθεσης της μητέρας (και του βρέφους) σε ένα νέο αντιγόνο και της προστασίας του βρέφους από sIgA στο γάλα, καθιστούν αυτόν τον μηχανισμό προστασίας στην καλύτερη περίπτωση ατελή. Επιπλέον, μια έρευνα που διεξήχθη σε γενετικά τροποποιημένα ποντίκια, έδειξε ότι ενώ η παραγωγή sIgA έχει μειωθεί, εξακολουθούν να προστατεύονται από επαναμόλυνση με *Salmonella typhimurium* ή *Citrobacter rodentium*, υποδεικνύοντας ότι μηχανισμοί ανεξάρτητοι από sIgA προστατεύουν τον βλεννογόνο (*Uren TK, et al.,2005*). Σαφώς, άλλοι μηχανισμοί προστασίας συμβάλλουν στην εξαιρετικά αποτελεσματική προστασία του θηλασμού, όπως αυτοί που παρέχονται από τα συστατικά του γάλακτος που ταξινομούνται ως έμφυτοι προστατευτικοί παράγοντες του ανθρώπινου γάλακτος, συμπεριλαμβανομένων πολυλειτουργικών παραγόντων, ανοσοτροποποιητών και γλυκανών.

Εξάλλου, το μεγαλύτερο μέρος της λαμβανόμενης IgA αποβάλλεται με τα κόπρανα, αν και έως και 10% μπορεί να απορροφηθεί από το έντερο στην κυκλοφορία εντός των πρώτων 18 έως 24 ωρών μετά τη γέννηση. Περίπου από το 70% έως 75% του γάλακτος που καταπίνεται, η IgA επιβιώνει από τη διέλευση μέσω του εντέρου και απεκκρίνεται με τα κόπρανα. Τα κόπρανα των βρεφών που θηλάζουν περιέχουν λειτουργικά αντισώματα που υπάρχουν στο προσλαμβανόμενο γάλα. Άλλες μελέτες υποστηρίζουν επίσης την παρατεταμένη επιβίωση του IgA στο γαστρεντερικό σωλήνα των βρεφών (*Haneberg B., Scand J Immunol. 1974*).

Η πολυπλοκότητα των παραπάνω μηχανισμών μεταφοράς IgA αντισωμάτων στο νεογνό και η αποτελεσματική μεταφορά ανοσίας σε αυτό, εξαρτάται από ποικίλους παράγοντες που αναλύονται στη συνέχεια.

4.3 Παράγοντες που επηρεάζουν τη συγκέντρωση IgA

Τα επίπεδα IgA μπορεί να διαφέρουν σε σχέση με ορισμένους παράγοντες που αφορούν τη μητέρα, το νεογνό αλλά και εξωτερικές παραμέτρους. Αναλυτικότερα, τέτοιοι είναι η ηλικία της μητέρας, ο δείκτης μάζας σώματος (BMI), η εθνικότητα, ο αριθμός τόκου, η αύξηση βάρους κατά την κύηση, η κατάσταση της υγείας και το γενετικό υπόβαθρο της μητέρας, τυχόν νοσήματα, η νόσηση από τον κορωνοϊό SARS-CoV-2, ή/και το εμβόλιο κατά αυτού, η διατροφή, η σωματική άσκηση, επιπλοκές κύησης, καθημερινές συνήθειες όπως το κάπνισμα και η κατανάλωση αλκοόλ και η ψυχολογία της. Άλλοι εξωτερικοί παράγοντες μπορεί να είναι η ώρα της ημέρας, το στάδιο γαλουχίας, η εποχή, το είδος τοκετού, η ηλικία κύησης, η εκατοστιαία θέση νεογνού, το φύλο του βρέφους, αλλά και περιβαλλοντικοί παράγοντες. Παρακάτω θα γίνει εκτενέστερη αναφορά στους σημαντικότερους παράγοντες και στην επίδρασή τους στη συγκέντρωση των IgA αντισωμάτων.

4.3.1 Στάδιο γαλουχίας - αριθμός τοκετών

Η διαδοχική ποσοτικοποίηση της ειδικής για την κατηγορία ανοσοσφαιρίνης στο ανθρώπινο πρωτόγαλα και το γάλα έδειξε ότι τα υψηλότερα επίπεδα sIgA υπάρχουν κατά τις πρώτες ημέρες της γαλουχίας. Καθώς η γαλουχία προχωρά, η IgA μειώνεται. Επιπλέον, μέσα από ευρήματα διαπιστώθηκε ότι ο αριθμός των κυττάρων που παράγουν IgA αυξάνεται με την συχνότητα των τοκετών, συσχετίζοντας έτσι την ορμονική κατάσταση της μητέρας με το ανοσολογικό προφίλ του μαστού θηλάζοντος ή μη (Pearay L. Ogra, et al.,2006).

Ωστόσο, σύμφωνα με μελέτη του Πανεπιστημίου Tsukuba στην Ιαπωνία σημαντική διαφορά σε συγκέντρωση SIgA μεταξύ πρωτότοκων και πολύτεκνων μητέρων, σημειώθηκε κατά τις τρεις πρώτες μέρες μετά τον τοκετό, με τις πρώτες να υπερσχύουν σε SIgA. Έπειτα από το διάστημα αυτό δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφοροποιήσεις μεταξύ πρωτότοκων και πολύτεκνων μητέρων. Επιπλέον, υπολόγισαν ότι η συγκέντρωση SIgA μειώθηκε σταδιακά κατά την περίοδο των 12 εβδομάδων, με το υψηλότερο επίπεδο να καταγράφεται την ημέρα 3. Την εβδομάδα 4, τα επίπεδα SIgA μειώθηκαν στο μισό των αρχικών επιπέδων. Αν και η διαφορά στη συγκέντρωση από τη μία εβδομάδα στην άλλη ήταν αξιοσημείωτη, η μείωση της συγκέντρωσης ήταν ταχεία τις πρώτες 4 εβδομάδες, αλλά σταδιακά από την εβδομάδα 4 έως την εβδομάδα 12 (*Atsuko Kawano, Yoko Emori, 2013*).

Ακόμη, μέσω της ερευνητικής μελέτης των *Weaver L., T., et al., 1998* αποδείχθηκε ότι οι μητέρες διατηρούν μια σταθερή παραγωγή IgA καθ' όλη τη διάρκεια του πρώτου έτους της γαλουχίας, ότι υπάρχει διαφορά στη συγκέντρωση της IgA που εκκρίνεται από κάθε μαστό και ότι υπάρχει διακύμανση καθ' όλη τη διάρκεια του έτους ανάλογα με την εποχή. Κατά την ξηρή περίοδο, όταν το φαγητό είναι περισσότερο άφθονο, οι συγκεντρώσεις IgA του γάλακτος είναι υψηλότερες από ό,τι κατά την περίοδο των βροχών, όταν το φαγητό είναι πιο σπάνιο. Επιπλέον, απέδειξαν ότι υπήρξε μια σημαντική ($p < 0,01$) αρνητική συσχέτιση μεταξύ της ηλικίας της μητέρας και της τεκνοποίησης και του βάρους του γάλακτος που προσλαμβάνεται από βρέφη. Τέλος, δεν βρήκαν καμία σημαντική συσχέτιση μεταξύ των όγκων γάλακτος και των IgA συγκεντρώσεων.

4.3.2 Διάρκεια θηλασμού

Η μεγαλύτερη διάρκεια του θηλασμού υποστηρίζεται από τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας, ο οποίος συνιστά αποκλειστικό θηλασμό για τους πρώτους έξι μήνες, μαζί με συνέχιση του θηλασμού για τουλάχιστον δύο χρόνια. Η Αμερικανική Ακαδημία Παιδιατρικής επιβεβαίωσε τη σύσταση αποκλειστικού θηλασμού για περίπου τους

πρώτους έξι μήνες ζωής που ακολουθείται από συνεχή θηλασμό, καθώς εισάγονται συμπληρωματικές τροφές και έπειτα με τη συνέχιση του θηλασμού για τουλάχιστον ένα χρόνο ζωής. Στην προσπάθεια αιτιολόγησης του φαινομένου αυτού, οι συμμετέχοντες χωρίστηκαν επίσης σε τέσσερις ομάδες με βάση τη διάρκεια του θηλασμού : 1–6 μήνες (n = 43), 6–12 μήνες (n = 47), 12–18 μήνες (n = 50) και 18–24 μήνες (n = 44). Δεν βρέθηκαν σημαντικές διαφορές μεταξύ των ομάδων όσον αφορά στα δημογραφικά χαρακτηριστικά ή τα χαρακτηριστικά του δείγματος. Η συγκέντρωση της IgA στο μητρικό γάλα έδειξε θετική συσχέτιση με τη διάρκεια της γαλουχίας ($r = 0,30$, $p < 0,001$). Από τις τέσσερις ομάδες, η μέση συγκέντρωση IgA ήταν χαμηλότερη στους 1-6 μήνες ($110,82 \pm 14,06$ g/dL) σε σύγκριση με τις ομάδες μεγαλύτερης διάρκειας (6-12, 12-18 και 18-24 μήνες γαλουχίας: $129,59 \pm 16,67$, $124,29 \pm 10,80$ και $127,16 \pm 14,59$ g/dL, αντίστοιχα, $p < 0,001$ (*Weker H., et al., 2018*).

4.3.3 Ηλικία μητέρας - BMI

Έπειτα από βαθιά ανασκόπηση των *Davut Sinan Kaplan et al*, και *P. Bachour, et al* προέκυψε ότι τόσο η ηλικία όσο και ο δείκτης μάζας σώματος (BMI) δεν έχουν κάποια συσχέτιση με τη συγκέντρωση των IgA αντισωμάτων στο μητρικό γάλα.

4.3.4 Ψυχολογικός παράγοντας

Πέρα από τα παραπάνω χαρακτηριστικά της μητέρας, ο ψυχολογικός παράγοντας επηρεάζει εξίσου τη συγκέντρωση των IgA αντισωμάτων. Μία κοινή κατάσταση, η κατάθλιψη επηρεάζει περίπου το 7-12% των γυναικών κατά την διάρκεια της εγκυμοσύνης και 7-19% των γυναικών μετά την εγκυμοσύνη. Συσσωρευμένα επιδημιολογικά στοιχεία υποστηρίζουν την σύνδεση μεταξύ στρες πριν και μετά την εγκυμοσύνη και την ανάπτυξη άσθματος και αλλεργιών, τα οποία αποδίδονται στις μητρικές συμπεριφορές, όπως το κάπνισμα ή ο μειωμένος θηλασμός, ή άλλοι παράγοντες που επηρεάζουν το ανοσοποιητικό σύστημα του νεογνού. Συγκεντρωτικά, η έρευνα των *Liane J. Kang, et al.*, έδειξε ότι όταν οι μητέρες

εμφανίζουν καταθλιπτικά συμπτώματα κατά την διάρκεια της εγκυμοσύνης καθώς και μετά την εγκυμοσύνη, τα βρέφη είναι πιο πιθανό να έχουν μειωμένες sIgA συγκεντρώσεις στο έντερο τους, ακόμη και μετά από τον έλεγχο ποικίλων μεταβλητών.

4.3.4 Κάπνισμα - Αλκοόλ

Το κάπνισμα μειώνει τα επίπεδα IgA του μητρικού γάλακτος, γεγονός που αποδεικνύεται μέσω έρευνας των *P. Bachour, et al* , η οποία φανέρωσε μείωση στην περιεκτικότητα σε SIgA στο γάλα καπνιστριών, χωρίς όμως να είναι στατιστικά σημαντική, πιθανώς λόγω του εκτενούς εύρους μεταβλητότητας του SIgA μεταξύ των δειγμάτων σε κάθε ομάδα (0,1–7,5 mg/mL).

Επιπλέον, στην έρευνα που πραγματοποιήθηκε στο “Louisiana State University Medical Center” , εξετάστηκε η πιθανότητα κατανάλωσης αλκοόλ κατά την διάρκεια της εγκυμοσύνης και βρέθηκε ότι μεταβάλλει ορισμένα ανοσολογικά συστατικά την 3η μέρα μετά τον τοκετό, στο μητρικό γάλα. Οι ομάδες μελέτης αφορούσαν γυναίκες που ανήκουν σε 3 διαφορετικές ομάδες ως εξής: 10 γυναίκες που έπιναν από μέτρια έως πολύ και κάπνιζαν ½-1 πακέτο τσιγάρα την ημέρα, 15 μη- καταναλώτριες αλκοόλ και μη καπνίστριες και 10 μη- καταναλώτριες αλκοόλ αλλά καπνίστριες ½-1 πακέτου την ημέρα. Οι γυναίκες αυτές ήταν κατά τ’ άλλα υγιείς. Μεταξύ των άλλων ανοσοποιητικών παραμέτρων, μετρήθηκαν τα επίπεδα IgA στο μητρικό γάλα. Τα αποτελέσματα των ερευνών έδειξαν πως οι συγκεντρώσεις IgA καταναλωτών αλκοόλ και οι ομάδες ελέγχου καπνιστών ήταν παρόμοιες με εκείνες των μη καπνιστών. Δείγματα ελέγχου μη καπνιστών έδειξαν $5,3 \pm 1,6$ mg/mL, ενώ αλκοόλ $7,1 \pm 2,6$ mg/mL και καπνιστών $8,6 \pm 1,9$ mg/mL IgA στο γάλα. Συμπερασματικά, οι άνωθεν τιμές παρουσιάζουν αμελητέες διακυμάνσεις και δεν δείχνουν κάποια αλληλεπίδραση μεταξύ αλκοόλ-κάπνισμα και συγκέντρωσης αντισωμάτων στο μητρικό γάλα (*L.C Daniels, et al., 1997*).

4.3.5 Παθήσεις του θυρεοειδούς (θυρεοειδοπάθειες)

Οι παθήσεις του θυρεοειδούς (ATD) είναι αυτοάνοσες διαταραχές ειδικών οργάνων, συγκεκριμένα, η θυρεοειδίτιδα Hashimoto και η νόσος του Graves (ή υπερθυρεοειδισμός). Τέτοιες παθήσεις εμφανίζονται συχνά σε γυναίκες αναπαραγωγικής ηλικίας. Κατά συνέπεια, οι διαταραχές του θυρεοειδούς συναντώνται συχνά στο πλαίσιο της αναπαραγωγικής δυσλειτουργίας, της εγκυμοσύνης και της περιόδου μετά τον τοκετό.

Υποθυρεοειδισμός

Ο υποθυρεοειδισμός στην εγκυμοσύνη ορίζεται συνήθως ως η παρουσία αυξημένης ορμόνης διέγερσης του θυρεοειδούς (TSH) και μειωμένης συγκέντρωσης FT4 στον ορό κατά τη διάρκεια της κύησης, με αμφότερες τις συγκεντρώσεις εκτός των τριμηνιαίων ειδικών ορίων αναφοράς. Όταν η πρόσληψη ιωδίου είναι επαρκής, η πιο συχνή αιτία υποθυρεοειδισμού είναι η αυτοάνοση νόσος του θυρεοειδούς, που μερικές φορές αναφέρεται ως θυρεοειδίτιδα Hashimoto. Στη μελέτη των *L.Chen, et al.*, εντοπίστηκαν συνολικά 1055 πρωτεΐνες στο ανθρώπινο πρωτόγαλα και βρέθηκε ότι 44 πρωτεΐνες εκφράστηκαν διαφορετικά στο πρωτεϊνικό ορό του πρωτογάλακτος μεταξύ μητέρων με και χωρίς υποθυρεοειδισμό. Το G-HyporT πιθανόν επηρέασε την πρωτεΐνη του ανθρώπινου ορού του πρωτογάλακτος, μειώνοντας τις μεταβολικές πρωτεΐνες και τις πρωτεΐνες της κυτταρικής δομής και αυξάνοντας τις πρωτεΐνες που σχετίζονται με την ανοσία, συμπεριλαμβανομένων των IgA αντισωμάτων, που μπορεί να επηρεάσουν τη μεταφορά της διατροφής και των βιοδραστικών συστατικών για τα βρέφη. Επομένως, η επίδραση της μεταβολής που προκαλείται από το G-HyporT μπορεί να χρειαστεί μια περίοδο για να κάνει τη διαφορά στα κλινικά χαρακτηριστικά της υγείας του βρέφους. Ωστόσο, σημειώνεται ότι το μέγεθος του δείγματος της μελέτης ήταν μικρό.

4.3.6 Σακχαρώδης διαβήτης κύησης

Ο Σακχαρώδης Διαβήτης Κύησης είναι η υψηλή γλυκόζη αίματος, κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης και μπορεί να εντοπιστεί μέσω εξέτασης, όταν η γυναίκα βρίσκεται μεταξύ της 24ης και της 28ης εβδομάδας της κύησης. Ο Σακχαρώδης Διαβήτης Κύησης εκδηλώνεται σε περίπου 7% του συνόλου των κυήσεων, και είναι επικίνδυνος για τη μητέρα και για το έμβρυο.

Τα κύτταρα με φαγοκυτταρική και μικροβιοκτόνο δράση είναι μερικά από τα πολλαπλά ανοσολογικά συστατικά του πρωτογάλακτος και του ώριμου γάλακτος που παίζουν σημαντικό ρόλο στην προστασία των παιδιών. Ορισμένες μελέτες αναφέρουν ότι οι διαβητικοί ασθενείς έχουν μειωμένη φαγοκυτταρική δραστηριότητα, χαμηλή μικροβιοκτόνο δράση και παραγωγή αντιδραστικών ειδών οξυγόνου λόγω αλλαγών στα αντιοξειδωτικά συστήματα. Η μείωση της μικροβιοκτονικής δραστηριότητας των φαγοκυττάρων και λευκοκυττάρων, πιθανότατα σχετίζεται με αύξηση των επιπέδων γλυκόζης στο αίμα. Μελέτη διεξήχθη με υπεργλυκαιμικές έγκυες γυναίκες για τη διερεύνηση της μεταφοράς αντισωμάτων σε νεογνά μέσω του πλακούντα ή του πρωτογάλακτος και τη λειτουργική δραστηριότητα των φαγοκυττάρων στο πρωτόγαλα από μητέρες με διαβήτη. Δείγματα από πρωτόγαλα συλλέχθηκαν από 20 γυναίκες με φυσιολογικά επίπεδα γλυκόζης και 20 από υπεργλυκαιμικές έγκυες γυναίκες. Οι γυναίκες με φυσιολογικά επίπεδα γλυκόζης γέννησαν στις $38 \pm 0,8$ εβδομάδες κύησης και οι υπεργλυκαιμικές, στις $37 \pm 0,2$ εβδομάδες. Σε σύγκριση με τις φυσιολογικές μητέρες, οι υπεργλυκαιμικές είχαν χαμηλότερα επίπεδα IgA (417.8 ± 51.3 , 291.5 ± 90.3) στο πρωτόγαλα (*E.L.França, et al., 2012*).

4.3.7 Λοιμώξεις

Τα υψηλά επίπεδα μητρικών αντισωμάτων στον ορό και στο μητρικό γάλα συσχετίζονται με μειωμένη συχνότητα λοιμώξεων, υποδεικνύοντας ότι τα αντισώματα του μητρικού γάλακτος μεσολαβούν σε αυτό το αποτέλεσμα. Χαρακτηριστικό παράδειγμα εντερικής λοίμωξης, η φλεγμονώδης νόσος του εντέρου κατηγοριοποιείται σε νόσο του Crohn και ελκώδη κολίτιδα. Σε αντίθεση με τα

περισσότερα θηλαστικά, τα αντισώματα ανθρώπινου μητρικού γάλακτος που μεταφέρονται από τη μητέρα στο βρέφος δεν εισέρχονται στην κυκλοφορία του παιδιού σε μεγάλες ποσότητες. Η εκκριτική IgA θεωρείται ο πιο άφθονος υποτύπος αντισωμάτων που υπάρχει σε εκκρίσεις συμπεριλαμβανομένου του γάλακτος, παρέχοντας ανοσία του βλεννογόνου στο βρέφος. Στη μελέτη αυτή, το IgA αναγνωρίστηκε ως το πιο εμπλουτισμένο αντίσωμα γάλακτος σε υγιείς μητέρες, ακολουθούμενο από τα αντισώματα IgG και IgE. Σύμφωνα με αυτές τις αναφορές, οι μητέρες με τη φλεγμονώδη αυτή νόσο, είχαν χαμηλότερα επίπεδα IgA στο μητρικό γάλα τους από τις υγιείς μητέρες. Αυτό υποδηλώνει ότι το μητρικό γάλα των μητέρων με την εν λόγω νόσο περιέχει χαμηλότερα επίπεδα του προστατευτικού αυτού παράγοντα, που παίζει κρίσιμο ρόλο στη διατήρηση του μικροβιώματος και στην εξουδετέρωση των διεισδυτικών παθογόνων στο έντερο και την αναπνευστική οδό (Xuanyi Meng, et al.,2018).

4.3.8 Νόσος COVID-19

Επιπρόσθετος παράγοντας που αξίζει να αναφερθεί καθώς είναι αυτός που μαστίζει το παγκόσμιο πληθυσμό τα τελευταία τρία χρόνια και επηρεάζει άμεσα την συγκέντρωση των αντισωμάτων IgA στο μητρικό γάλα, αποτελεί η νόσος COVID-19, καθώς και το εμβόλιο κατά αυτής. Τον Δεκέμβριο του 2019 ο κορωνοϊός εμφανίστηκε ως η αιτία σοβαρής αναπνευστικής νόσου και εξαπλώθηκε γρήγορα προκαλώντας μια παγκόσμια πανδημία. Το σοβαρό οξύ αναπνευστικό σύνδρομο τύπου 2 (SARS-CoV-2) προσδιορίστηκε ότι είναι ο παράγοντας της νόσου του κορωνοϊού 2019 (COVID-19).

Ωστόσο, υπάρχει έλλειψη συστηματικής μελέτης για την παραγωγή IgA σε ασθενείς με COVID-19. Γενικά αξίζει να αναφερθεί ότι η IgA παίζει σημαντικό ρόλο στην ανοσία του βλεννογόνου και είναι στην πραγματικότητα η πιο σημαντική ανοσοσφαιρίνη για την καταπολέμηση μολυσματικών παθογόνων στο αναπνευστικό σύστημα και στο πεπτικό σύστημα στο σημείο εισόδου του παθογόνου. Ως ανοσοποιητικός φραγμός, τα εκκριτικά IgA μπορεί να εξουδετερώσουν τον SARS-CoV-2, προτού φτάσουν και

δεσμεύσουν τα επιθηλιακά κύτταρα. Τα αντισώματα IgA δείχνουν μια πρόσφατη λοίμωξη από τον ιό και παραμένουν σε σταθερά επίπεδα για μεγαλύτερο διάστημα από τα IgM. Επιπλέον, τα αντισώματα IgA μπορούν να παρουσιάσουν υψηλότερη ευαισθησία, ενώ τα αντισώματα IgG έχουν συνήθως μεγαλύτερη διάρκεια, καλύτερη ειδικότητα και είναι πιο κατάλληλα για μελέτες ορολογικής επιτήρησης (*Kathleen G.Beavis, et al., 2020*).

Μία νέα αμερικανική επιστημονική μελέτη βρήκε ότι οι γυναίκες που θηλάζουν, και οι οποίες είχαν μολυνθεί με κορωνοϊό, συνέχιζαν να εκκρίνουν εξουδετερωτικά αντισώματα κατά του ιού στο μητρικό γάλα τους για πολλούς μήνες μετά. Έχει βρεθεί ότι τα αντισώματα στο μητρικό γάλα παραμένουν έως δέκα μήνες μετά τη λοίμωξη μιας μητέρας με COVID-19. Σχετική έρευνα έδειξε πως, το 76% δειγμάτων γάλακτος περιείχε IgA ειδική για τον SARS-CoV-2 και το 80% περιείχε ειδική IgG για τον SARS-CoV-2. Οι συγκεντρώσεις του αντι-SARS-CoV-2 IgA ήταν σταθερά υψηλότερες από εκείνες του IgG. Το γάλα που παράγεται από γυναίκες με COVID-19 είχε υψηλότερες συγκεντρώσεις αντι-RBD IgA (anti-receptor binding domain) και IgG από το γάλα που συλλέγεται από γυναίκες πριν από την πανδημία.

Τέλος η έρευνα των *Hai-qiong Yu et al*, έδειξε πως υπάρχει μία σημαντική θετική συσχέτιση μεταξύ των επιπέδων των ειδικά για SARS-CoV-2 IgA και των αποτελεσμάτων σε βαρέως πάσχοντες ασθενείς με COVID-19. Ως ιός στοχευμένος στους βλεννογόνους, ο SARS-CoV-2 αναμένεται να δημιουργήσει εκκριτικό IgA (sIgA) και να προκαλέσει ισχυρή ανοσία του βλεννογόνου. Πράγματι, η αντι-ική ανοσία του βλεννογόνου έχει αποδειχθεί ότι προκύπτει εν μέρει από αλληλεπιδράσεις με τη μεσολάβηση IgA με παθογόνους μικροοργανισμούς για να προληφθεί η προσκόλληση των παθογόνων στην κυτταρική επιφάνεια .

4.3.9 Εμβόλιο κατά του κορωνοϊού (SARS-CoV-2)

Οι έγκυες γυναίκες με COVID-19 διατρέχουν υψηλότερο κίνδυνο θνησιγένειας ή πρόωρου τοκετού. Τα νεογνά τους είναι επίσης πιο πιθανό να εμφανίσουν δυσφορία κατά τον τοκετό ή να χρειαστούν θεραπεία σε χώρο εντατικής φροντίδας νεογέννητων στο νοσοκομείο. Ο εμβολιασμός είναι ο καλύτερος τρόπος για να μειωθούν αυτοί οι κίνδυνοι.

Τα δεδομένα που εξετάζονται από τους *Sarah Cj. Jorgensen et al.*, υποδεικνύουν ότι τα μητρικά αντισώματα δέσμευσης ειδικά για τον SARS-CoV-2 μεταφέρονται αποτελεσματικά μέσω του πλακούντα και του μητρικού γάλακτος μετά τον εμβολιασμό του mRNA. Επιπλέον, τα αντισώματα διατηρούν ισχυρή εξουδετερωτική ικανότητα. Οι συγκεντρώσεις αντισωμάτων φαίνεται να είναι υψηλότερες στο αίμα του ομφάλιου λώρου του βρέφους και στον μητρικό ορό, αλλά χαμηλότερες στο μητρικό γάλα.

Η IgA του μητρικού γάλακτος αυξάνεται γρήγορα μετά τον εμβολιασμό της μητέρας. Τουλάχιστον δύο δόσεις εμβολίου COVID-19 φαίνεται να απαιτούνται για να επιτευχθούν οι μέγιστες συγκεντρώσεις αντισωμάτων στο αίμα του ομφάλιου λώρου και στο μητρικό γάλα. Στις αναθεωρημένες μελέτες η συγκέντρωση IgA στο μητρικό γάλα αυξήθηκε γρήγορα, με σημαντικές αυξήσεις σε σύγκριση με την αρχική τιμή, από 1 έως 2 εβδομάδες μετά από μια εφάπαξ δόση του εμβολίου και παραμένει αυξημένη για πολλές εβδομάδες μετά τη δεύτερη δόση του εμβολίου. Συνοπτικά, τα δεδομένα που εξετάστηκαν δείχνουν ότι υπάρχουν αντισώματα ειδικής δέσμευσης και εξουδετέρωσης του SARS-CoV-2 στο μητρικό γάλα μετά τον μητρικό εμβολιασμό, ότι τα επίπεδα IgA αυξάνονται γρήγορα, καθώς και ότι οι συγκεντρώσεις αντισωμάτων του μητρικού γάλακτος ήταν σημαντικά χαμηλότερες από ό,τι στον μητρικό ορό (*Lisa Burry, et al., 2021*).

Επιπλέον μελέτη βρήκε ισχυρή έκκριση ειδικών αντισωμάτων IgA και IgG έναντι της SARS-CoV-2 στο μητρικό γάλα για 6 εβδομάδες μετά τον εμβολιασμό. Η έκκριση IgA ήταν εμφανής ήδη 2 εβδομάδες μετά τον εμβολιασμό. Τα αντισώματα που βρέθηκαν στο μητρικό γάλα αυτών των γυναικών έδειξαν ισχυρά εξουδετερωτικά αποτελέσματα, υποδηλώνοντας μια πιθανή προστατευτική δράση έναντι της μόλυνσης στο βρέφος. Ωστόσο, η μελέτη εμφανίζει περιορισμούς, τόσο διότι δεν πραγματοποιήθηκαν λειτουργικές δοκιμασίες, όσο και διότι δεν διεξήχθη δοκιμή αντισωμάτων ορού ή δοκιμή αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης ανάστροφης μεταγραφάσης SARS-CoV-2 σε πραγματικό χρόνο (*S.W. Perl, et al., 2021*).

Ακόμη μια μελέτη των *Sivan Haia Perl et al* υποστηρίζει την γρήγορη αύξηση των επιπέδων αντισωμάτων IgA, ειδικών για τον SARS-CoV-2 στο μητρικό γάλα. Σε αυτή, αποδείχθηκε ότι ο μέσος όρος των αντισωμάτων αυτών ήταν σημαντικά αυξημένος 2 εβδομάδες μετά το πρώτο εμβόλιο, καθώς το 61,8% των δειγμάτων βρέθηκαν θετικά, ενώ αυξήθηκε στο 86,1% την τέταρτη εβδομάδα (1 εβδομάδα μετά τη δεύτερη εμβολιαστική δόση). Τέλος, παρέμειναν αυξημένα κατά τη διάρκεια της παρακολούθησης και την έκτη εβδομάδα, όπου το 65,7% των δειγμάτων βγήκε θετικό. Επιπλέον, απέδειξαν ότι τα επίπεδα αντισωμάτων IgA των συμμετεχόντων μετά την πρώτη δόση του εμβολίου ήταν συγκρίσιμα με αυτά που παρατηρήθηκαν σε συμμετέχοντες με μόλυνση.

Η ετερογένεια σε σημαντικές μεθοδολογικές πτυχές των αναθεωρημένων μελετών υπογραμμίζει την ανάγκη καθιέρωσης βέλτιστων πρακτικών που σχετίζονται με την έρευνα σχετικά με τη μεταφορά της μητρικής ανοσίας που προκαλείται από τα εμβόλια για την COVID-19.

5. ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ IgA ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΩΝ ΣΤΟ ΜΗΤΡΙΚΟ ΓΑΛΑ

Στην κρίσιμη φάση της ανοσολογικής ανωριμότητας του νεογνού, ιδιαίτερα για το ανοσοποιητικό σύστημα των βλεννογόνων, τα βρέφη λαμβάνουν μεγάλες ποσότητες βιοδραστικών συστατικών μέσω του πρωτογάλακτος και του μητρικού γάλακτος. Με αυτόν τον τρόπο, ο θηλασμός προστατεύει τα βρέφη από λοιμώξεις κυρίως μέσω των εκκριτικών αντισωμάτων IgA (SIgA), αλλά και μέσω άλλων διαφόρων βιοενεργών παραγόντων. Είναι εντυπωσιακό το γεγονός ότι οι αμυντικοί παράγοντες του ανθρώπινου γάλακτος λειτουργούν χωρίς να προκαλούν φλεγμονή. Η προστασία από λοιμώξεις έχει αποδειχθεί επαρκώς κατά τη διάρκεια της γαλουχίας έναντι, π.χ., οξείας και παρατεταμένης διάρροιας, λοιμώξεων της αναπνευστικής οδού, συμπεριλαμβανομένης της μέσης ωτίτιδας, της ουρολοίμωξης, της νεογνικής σηψαιμίας και της νεκρωτικής εντεροκολίτιδας. Η ανάγκη υποστήριξης του θηλασμού είναι επομένως δικαιολογημένη, τουλάχιστον κατά τους πρώτους 6 μήνες της ζωής του, όταν η εκκριτική παραγωγή IgA του βρέφους είναι ασήμαντη (*Patricia Palmeira, Magda Carneiro-Sampaio, 2016*).

Συνεπώς, για να αποφευχθεί οποιοσδήποτε προαναφερθείς κίνδυνος, είναι απαραίτητη τόσο η ανίχνευση όσο και η ποσοτικοποίηση των μέσων ανοσοποίησης του νεογνού, IgA αντισωμάτων, μέσω ορισμένων μεθόδων που αναλύονται στη συνέχεια.

5.1 Μέθοδοι ανίχνευσης IgA αντισωμάτων στο μητρικό γάλα

5.1.1 ELISA

Σήμερα, η ELISA είναι ίσως η πιο συχνά χρησιμοποιούμενη μέθοδος για την εκτίμηση των αντισωμάτων IgA. Διακρίνεται σε τρία είδη: συναγωνιστική ELISA με ένα αντίσωμα, η ELISA τύπου sandwich και η έμμεση ELISA.

Στη Sandwich ELISA, που αποτελεί και τη μέθοδο της παρούσας έρευνας, αρχικά ακινητοποιείται το 1ο αντίσωμα στην πλάκα ή το σωλήνα. Στη συνέχεια προστίθεται το αντιγόνο και γίνεται δέσμευση στο αντίσωμα. Μετά από πλύσεις για απομάκρυνση των μη-δεσμευμένων αντιδραστηρίων προστίθεται 2ο ειδικό αντίσωμα, το οποίο αναγνωρίζει άλλο επιτοπικό κέντρο στην αναλυόμενη ένωση και δεσμεύεται πάνω από το ακινητοποιημένο σύμπλοκο. Το 2ο αντίσωμα είναι ενζυμικά επισημασμένο και με την προσθήκη υποστρώματος, παράγεται χρωματισμένο προϊόν. Στην ανάλυση πραγματικών δειγμάτων, το 2ο αντίσωμα θα δεσμευθεί μόνο εφόσον βρει στην πλάκα το αντιγόνο του, έτσι η ένταση του σήματος σχετίζεται με τη συγκέντρωση της αναλυόμενης ένωσης στο δείγμα. Μια επαρκής διαλυτότητα του αντιγόνου στο ρυθμιστικό διάλυμα που χρησιμοποιείται είναι επομένως απαραίτητη προϋπόθεση για την επιτυχία μιας ELISA.

Αυτή η τεχνική είναι κατάλληλη μόνο για μεγάλα μόρια π.χ. πρωτεΐνες, καθώς απαιτείται το αναλυόμενο μόριο να έχει μεγάλο όγκο. Επίσης, απαιτείται ικανή απόσταση μεταξύ των δύο επιτοπικών κέντρων, ώστε να μπορεί γίνει ταυτόχρονη δέσμευση σε δύο αντισώματα. Η μέτρηση ενός αντισώματος ή αντιγόνου με την μέθοδο ELISA, παρέχει έναν χρήσιμο δείκτη για την αξιολόγηση της ανοσολογικής κατάστασης, καθώς είναι πολύ ευαίσθητη τεχνική και έχει το επιπλέον πλεονέκτημα ότι είναι σε θέση να διακρίνει μεταξύ των διαφορετικών κατηγοριών ανοσοσφαιρινών αντισωμάτων.

5.1.2 Ανοσοηλεκτροφόρηση Rocket (Rocket immunoelectrophoresis)

Η ανοσοηλεκτροφόρηση Rocket (αναφέρεται επίσης ως ηλεκτροανοσοδοκιμασία) είναι μια απλή, γρήγορη και αναπαραγώγιμη μέθοδος για τον προσδιορισμό της συγκέντρωσης μιας συγκεκριμένης πρωτεΐνης σε ένα μείγμα πρωτεϊνών. Η μέθοδος περιλαμβάνει μια σύγκριση του δείγματος άγνωστης συγκέντρωσης με μια σειρά αραιώσεων γνωστής συγκέντρωσης της πρωτεΐνης και απαιτεί έναν μονοειδικό αντιγόνο έναντι της πρωτεΐνης που εξετάζεται. Τα προς σύγκριση δείγματα τοποθετούνται σε διπλανές θέσεις σε μικρά κυκλικά βοθρία κατά μήκος της άκρης του πυκτώματος (gel) αγαρόζης που περιέχει το μονοκλωνικό αντίσωμα. Αυτά τα δείγματα (αντιγόνα) στη συνέχεια ηλεκτροφορούνται στο πήκτωμα (gel) αγαρόζης όπου λαμβάνει χώρα η αλληλεπίδραση μεταξύ αντιγόνου και αντισώματος. Παρουσία περίσσειας αντιγόνου, το σύμπλεγμα αντιγόνου-αντισώματος είναι διαλυτό, αλλά καθώς το αντιγόνο κινείται περαιτέρω μέσα στο πήκτωμα, περισσότερο αντιγόνο συνδυάζεται με αντίσωμα μέχρι να επιτευχθεί ένα σημείο ισοδυναμίας. Σε αυτό το στάδιο το σύμπλεγμα αντιγόνου-αντισώματος είναι αδιάλυτο. Το τελικό αποτέλεσμα είναι ένας «πύραυλος» (rocket) που διασκορπίζεται από το βοθρίο (well).

Χαρακτηριστικό παράδειγμα της μεθόδου αυτής αποτέλεσε η μέτρηση της περιεκτικότητας του sIgA του πρωτογάλακτος και του ώριμου γάλακτος με ανοσοηλεκτροφόρηση Rocket, χρησιμοποιώντας αντι-ανοσοσφαιρίνη IgA χοίρου ειδική για α-αλυσίδα και καθαρισμένο IgA πρωτογάλακτος ως πρότυπο (*Kjell Skaug, et al, 1982*).

5.1.3 Νεφελομετρία (nephelometry)

Η νεφελομετρία αποτελεί μια ποσοτική χημική μέθοδο η οποία μπορεί να οριστεί ως η ανίχνευση της ακτινοβολίας, που ανακλάται ή σκεδάζεται προς τον ανιχνευτή, ο οποίος δεν είναι στην ίδια διεύθυνση με την προσπίπτουσα ακτινοβολία. Τα συνήθη νεφελόμετρα μετρούν τη σκεδαζόμενη ακτινοβολία σε δεξιές γωνίες της προσπίπτουσας ακτινοβολίας. Αντιθέτως, κάποια άλλα την μετρούν σε γωνία διαφορετική των 90 μοιρών, ώστε να εκμεταλλευτούν το πλεονέκτημα της αυξημένης έντασης της πρόσθιας σκέδασης, η οποία προκαλείται από μεγάλα σωματίδια.

Στην περίπτωση του προσδιορισμού IgA αντισωμάτων, ο προσδιορισμός της συγκέντρωσης διαλυτού αντιγόνου με νεφελομετρικές μεθόδους περιλαμβάνει αντίδραση με ειδικό αντιγόνο για να σχηματιστούν αδιάλυτα σύμπλοκα. Όταν το φως διέρχεται σχηματίζεται αιώρημα, που έχει ως αποτέλεσμα ένα μέρος του φωτός να διασκορπίζεται και να ανιχνεύεται από μια φωτοδίοδο. Η ποσότητα του σκεδαζόμενου φωτός είναι ανάλογη με την ειδική συγκέντρωση πρωτεΐνης στη δοκιμή δείγμα. Οι συγκεντρώσεις υπολογίζονται αυτόματα με αναφορά σε μια αποθηκευμένη καμπύλη βαθμονόμησης εντός του οργάνου (*L. Nikniaz., et al., 2013*).

6. ΣΚΟΠΟΣ

Από την παραπάνω βιβλιογραφική ανασκόπηση φαίνεται πως τα δεδομένα που υπάρχουν έως σήμερα σχετικά με τον προσδιορισμό IgA αντισωμάτων στο μητρικό γάλα και τη συσχέτιση αυτών με την ανοσοποίηση του νεογνού, έρχονται συχνά σε ασυμφωνία μεταξύ τους. Παράλληλα, τα κενά που παρουσιάζονται είναι αναρίθμητα και δυσχεραίνουν την πλήρη κατανόηση του φαινομένου αυτού. Τα παραπάνω ερευνητικά κενά μας έδωσαν την ώθηση να συμμετέχουμε στην ερευνητική προσπάθεια, μέσω της ανάλυσης δειγμάτων μητρικού γάλακτος, με σκοπό τον προσδιορισμό συγκέντρωσης IgA αντισωμάτων. Η μελέτη αυτή περιλαμβάνει ανίχνευση και ποσοτικοποίηση των αντισωμάτων αυτών και συσχέτισή τους με στατιστικά σημαντικές και μη μεταβλητές, όπως τα ανθρωπομετρικά χαρακτηριστικά των μητέρων, τυχόν επιπλοκές και νοσήματα που φέρουν, καθώς και ορισμένες καθημερινές συνήθειες που συνήθιζαν να έχουν, με τη βοήθεια ερωτηματολογίου. Η επιλογή της ανίχνευσης συγκεκριμένα των IgA αντισωμάτων έγκειται στην πλειονότητά τους στο μητρικό γάλα.

7. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

Προσδιορισμός IgA αντισωμάτων

Για την πραγματοποίηση του πειράματος, χρησιμοποιήθηκε το SimpleStep Human IgA ELISA kit (kit ab196263) της εταιρείας Abcam. Το συγκεκριμένο kit χρησιμοποιεί ως μέθοδο ανίχνευσης την χρωματομετρική και ως τύπο ανάλυσης την ποσοτική ανάλυση τύπου Sandwich. Ονομάζεται προσδιορισμός sandwich, επειδή η αναλυόμενη ουσία που μετράται δεσμεύεται μεταξύ δύο πρωταρχικών αντισωμάτων, καθένα από τα οποία ανιχνεύει διαφορετικό επίτοπο του αντιγόνου – το αντίσωμα πρόσδεσης (capture antibody) και το αντίσωμα ανίχνευσης (detection antibody).

Αναλυτικότερα, στη μέθοδο αυτή χρησιμοποιείται ένα αντίσωμα ειδικό για το αντιγόνο και ένας υποδοχέας, ο οποίος είναι σημασμένος με το αντίσωμα, το οποίο ανοσοσυλλαμβάνει την αναλυόμενη ουσία δείγματος σε διάλυμα. Όλο αυτό το σύμπλοκο (αντίσωμα πρόσδεσης /αναλυόμενη ουσία/αντίσωμα ανιχνευτή) με τη σειρά του ανοσοσυνδέεται στην αντί - ανοσοσφαιρίνη που είναι συνεδόμενη στο βοθρίο (well). Για την εκτέλεση της δοκιμασίας, δείγματα ή πρότυπα προστίθενται στα βοθρία, ακολουθούμενα από το μίγμα αντισωμάτων. Μετά την επώαση, τα βοθρία πλένονται για να αφαιρεθεί το αδέσμευτο υλικό. Προστίθεται χρωμογόνο υπόστρωμα TMB και κατά την επώαση καταλύεται από το ένζυμο υπεροξειδάσης, HRP, δημιουργώντας μπλε χρωματισμό. Αυτή η αντίδραση σταματά με την προσθήκη του διαλύματος τερματισμού αντίδρασης (Stop Solution), όπου πραγματοποιείται αλλαγή χρώματος από μπλε σε κίτρινο. Η ανάπτυξη χρώματος από αυτή την ενζυμική αντίδραση ποικίλλει ανάλογα με τη συγκέντρωση πρωτεΐνης στο εξεταζόμενο δείγμα και η ένταση μετράται στα 450 nm.

7.1 Αντιδραστήρια, Υλικά & Όργανα

Για την πραγματοποίηση του εργαστηριακού μέρους, χρησιμοποιήθηκαν αντιδραστήρια που περιείχονταν στο kit, καθώς και αυτά που παρασκευάστηκαν στο εργαστήριο.

Πίνακας 6.1. Αντιδραστήρια και υλικά στο kit

| Υλικά και αντιδραστήρια | Ποσότητα | Θερμοκρασία αποθήκευσης |
|---|----------|-------------------------|
| 10X Human IgA Capture αντισωμάτων | 600 μL | +2-8°C |
| 10X Human IgA ανιχνευτής αντισωμάτων | 600 μL | +2-8°C |
| IgA ανθρώπινη λυοφιλιωμένη καθαρισμένη πρωτεΐνη | 2 Vials | +2-8°C |
| Αραιωτικό αντισώματος CPI | 6 mL | +2-8°C |
| 10X Διάλυμα Έκπλυσης (PT) | 20 mL | +2-8°C |
| Διάλυμα χρωμογόνου υποστρώματος (TMB) | 12 mL | +2-8°C |
| Διάλυμα τερματισμού αντίδρασης (Stop Solution) | 12 mL | +2-8°C |
| Αραιωτικό δείγματος NS | 50 mL | +2-8°C |
| Pre-Coated 96 μικροπλάκα βοθρίων (12 x 8 well strips) | 96 Wells | +2-8°C |
| Μεμβράνη (Plate seal) | 1 | +2-8°C |

Υλικά και όργανα που δεν περιέχονται στο kit:

- Φασματοφωτόμετρο ανάγνωσης μικροπλάκας ELISA, ικανή να μετρήσει την απορρόφηση στα 450 nm.
- Συσκευή φυγοκέντρωσης
- Απιονισμένο νερό
- Πιπέτες αυτόματης πλήρωσεως
- Ρύγχη πιπετών (tips)
- Σωλήνες τύπου falcon
- Σωλήνες τύπου erpendorf
- Αναδευτήρας τύπου vortex
- Αναδευτήρας πλακών για όλα τα στάδια επώασης (plate shaker)

7.2 Πειραματική πορεία

Προετοιμασία αντιδραστηρίων

Όλα τα αντιδραστήρια αφέθηκαν σε θερμοκρασία δωματίου (18-25°C) πριν από τη χρήση τους. Το kit περιέχει αντιδραστήρια για 96 βοθρία. Οι παρακάτω όγκοι επαρκούν για 48 βοθρία (λωρίδες 6 x 8 βοθρία). Αντισώματα σύλληψης και ανιχνευτή έχουν μόνο δοκιμαστεί για σταθερότητα στις παρεχόμενες συνθέσεις 10X.

1. Ρυθμιστικό διάλυμα πλύσης 1X PT (Wash Buffer PT)

Προετοιμασία 1X Wash Buffer PT αραιώνοντας 10X Wash Buffer PT με απιονισμένο νερό. Για την παρασκευή 50 mL 1X Wash Buffer PT, πραγματοποιείται συνδυασμός 5 mL 10X Wash Buffer PT με 45 mL απιονισμένο νερό. Ακολουθεί καλή και απαλή ανάμιξη.

2. Κοκτέιλ αντισωμάτων (antibody cocktail)

Προετοιμασία του κοκτέιλ αντισωμάτων, αραιώνοντας το capture και τον ανιχνευτή αντισωμάτων στο αραιωτικό αντισωμάτων CPI. Για την παρασκευή 3 mL του Antibody Cocktail, πραγματοποιείται ανάμιξη 300 μL 10X Capture Αντισώματος και 300 μL 10X ανιχνευτή αντισώματος με 2,4 mL CPI αραιωτικού αντισώματος. Ακολουθεί καλή και απαλή ανάμιξη.

Προετοιμασία δειγμάτων

Δείγματα από 54 θηλάζουσες μητέρες που συμμετείχαν με τα βρέφη τους στην συγκεκριμένη ερευνητική μελέτη, επιλέχθηκαν με βάση τη διαθεσιμότητα κυρίως του πρωτογάλακτος (52 δείγματα) και λιγότερο του μεταβατικού γάλακτος (2 δείγματα). Το πρωτόγαλα συλλέχθηκε εντός 4 ημερών μετά τον τοκετό, ενώ το μεταβατικό γάλα από την 6η ημέρα και έπειτα με χρήση χειροκίνητου θήλαστρου, με άντληση σε αποστειρωμένα σωληνάρια και άμεση κατάψυξή τους στους -40°C μέχρι να υποστούν επεξεργασία.

Πριν από κάθε χρήση τους, αποψύχονταν σε θερμοκρασία δωματίου.

Ο διαχωρισμός του λίπους και η απομάκρυνση του γίνεται ως εξής:

1. Φυγοκέντρηση των δειγμάτων γάλακτος στο 500 x g για 15 λεπτά στους 4°C και συλλογή του υδατικού κλάσματος, χρησιμοποιώντας σύριγγα προσαρτημένη στη βελόνα.
2. Φυγοκέντρηση του υδατικού κλάσματος στα 3.000 x g για 15 λεπτά στους 4°C και συλλογή του τελικού υδατικού κλάσματος (απολιπασμένο γάλα) χρησιμοποιώντας σύριγγα προσαρτημένη στη βελόνα.

Τέλος, πραγματοποιείται αραιώση των δειγμάτων απολιπασμένου γάλακτος ως εξής: Λήψη 200μL από την μεσαία υδατική στοιβάδα κάθε δείγματος και 300μL αραιωτικού διαλύματος (τουλάχιστον 1,5 X σε αραιωτικό δείγματος NS) και τοποθέτηση τους σε eppendorf, αφού προηγουμένως έχουν αριθμηθεί με βάση τον αριθμό δειγμάτων. Ανάδευση με τη χρήση αναδευτήρα τύπου Vortex.

Προετοιμασία πρότυπων διαλυμάτων

Για κάθε χρήση πραγματοποιείται πάντα εκ νέου προετοιμασία θετικών μαρτύρων.

Παρασκευή αραιωμένων προτύπων αμέσως πριν από τη χρήση, ως εξής:

1. Ανασύσταση του προτύπου δείγματος ανθρώπινης IgA, προσθέτοντας 1 mL αραιωτικού δείγματος NS με πιπέτα.
2. Ανάμιξη σε έναν περιστροφέα σωλήνα καλά και απαλά για 5 λεπτά. Αυτό είναι το πρότυπο διάλυμα 100 ng/mL (Stock Standard Liophilized Solution).
3. Αρίθμηση οκτώ eppendorf: Πρότυπα 1–8.
4. Προσθήκη 150 μL αραιωτικού διαλύματος (Sample Diluent NS) στα eppendorf 1-8
5. Χρήση του προτύπου διαλύματος για την προετοιμασία των ακόλουθων διαδοχικών αραιώσεων:

Τοποθετήθηκαν σε erpendorf 150 μL του μητρικού, λυοφιλιωμένου προτύπου διαλύματος (stock standard lyophilized solution), με τη βοήθεια πιπέτας και αραιώθηκαν σε 150 μL αραιωτικού διαλύματος NS (Πρότυπο 1). Έτσι, το πρότυπο 1 που προέκυψε, αναδεύτηκε σε αναδευτήρα τύπου Vortex. 150 μL από το πρότυπο 1 μεταφέρθηκαν και αραιώθηκαν σε 150 μL του αραιωτικού διαλύματος (Πρότυπο 2). Ακολούθησε η ίδια διαδικασία για την παρασκευή των υπόλοιπων προτύπων 3-8, λαμβάνοντας κάθε φορά 150 mL από το προηγούμενο πρότυπο διάλυμα. Το πρότυπο 8 δεν περιέχει πρωτεΐνη και είναι το κενό έλεγχος, καθώς περιέχει μόνο αραιωτικό διάλυμα. Πιο συγκεκριμένα :

Πίνακας 6.2 Προετοιμασία πρότυπων διαλυμάτων

| Αριθμός προτύπου | Συγκέντρωση Προτύπου (ng/mL) | Όγκος Προτύπου που προστέθηκε στο αραιωτικό | Όγκος Αραιωτικού (μL) |
|------------------|------------------------------|---|------------------------------------|
| 1 | 50 | 150 μL πρότυπου, λυοφιλιωμένου | 150 |
| 2 | 25 | 150 μL προτύπου 1 | 150 |
| 3 | 12,5 | 150 μL προτύπου 2 | 150 |
| 4 | 6,25 | 150 μL προτύπου 3 | 150 |
| 5 | 3,13 | 150 μL προτύπου 4 | 150 |
| 6 | 1,56 | 150 μL προτύπου 5 | 150 |
| 7 | 0,78 | 150 μL προτύπου 6 | 150 |
| 8 | 0 | 0 | 150 |

Διαδικασία ανάλυσης - ELISA

Αφού έχει πραγματοποιηθεί η προετοιμασία αντιδραστηρίων, δειγμάτων και προτύπων, ακολουθείται η εξής διαδικασία:

1. Προσθήκη 50 μL από κάθε πρότυπο σε βοθρία (wells) της πλάκας ELISA, με τη βοήθεια πιπέτας αυτόματης πληρώσεως
2. Προσθήκη 50 μL από το κοκτέιλ αντισωμάτων (antibody cocktail) σε κάθε βοθρίο της πλάκας ELISA
3. Επώαση των βοθρίων σε ανακινητήρα ελλειψοειδούς κινήσεως ρυθμισμένο σε 400 rpm σε θερμοκρασία δωματίου, καλυμμένα προς αποφυγή εξάτμισης, στο σκοτάδι και σε επίπεδη θέση για 1h.
4. Μετά την επώαση, τα βοθρία αποχύνονται σχολαστικά.
5. Πραγματοποίηση συνολικά τριών εκπλύσεων ως εξής: μεταφορά 350μL ρυθμιστικού πλύσης 1X (Wash Buffer PT) σε κάθε βοθρίο και πλήρη αφαίρεση του υγρού για καλύτερα αποτελέσματα. Μετά την τελευταία πλύση, το plate seal αναποδογυρίζεται και ταμπονάρεται με χαρτί για την αποδοτικότερη απομάκρυνση του εναπομείναντος υγρού.
6. Προσθήκη 100 μL χρωμογόνου υποστρώματος TMB σε κάθε βοθρίο και επώαση των τελευταίων σε ανακινητήρα ελλειψοειδούς κινήσεως ρυθμισμένο σε 400 rpm σε θερμοκρασία δωματίου, στο σκοτάδι για 10 min.
7. Τέλος, πραγματοποιήθηκε προσθήκη 100 μL διαλύματος τερματισμού της αντίδρασης σε κάθε well προκειμένου να σταματήσει η αντίδραση, και προσδιορίστηκε η απορρόφηση στα 450 nm με τη χρήση Epoch φασματοφωτόμετρου για μικροπλάκες ELISA της εταιρείας Abcam.

8. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ - ΣΥΖΗΤΗΣΗ

8.1 Υπολογισμός IgA αντισωμάτων

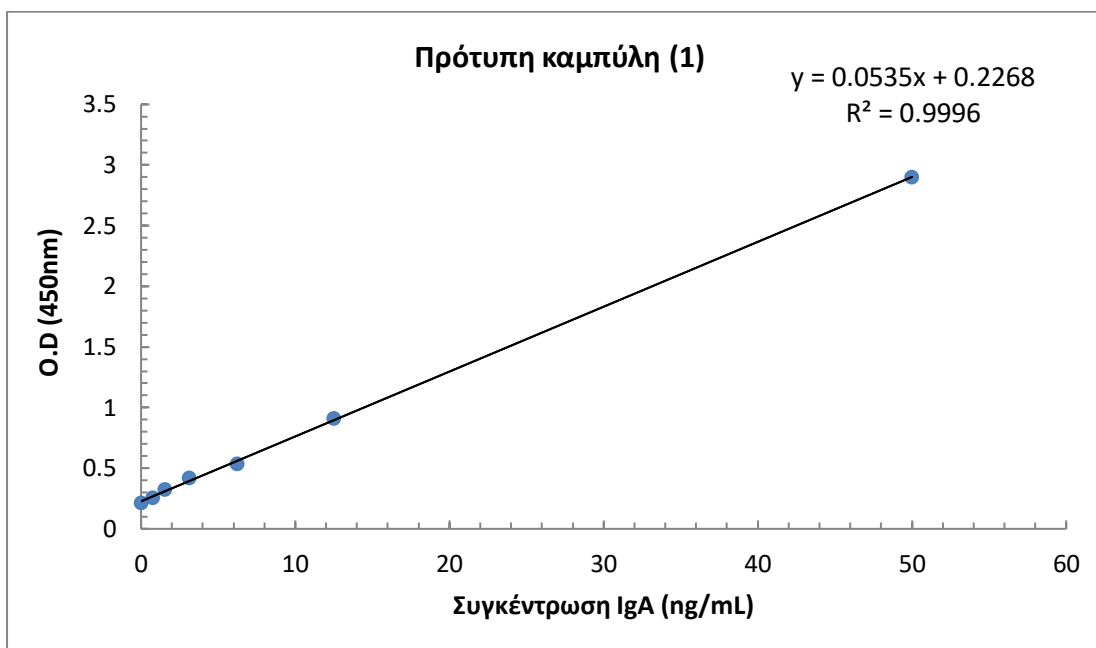
Πραγματοποιήθηκε εξαγωγή προτύπων καμπυλών από τις απορροφήσεις των προτύπων συναρτήσει των γνωστών τους συγκεντρώσεων. Οι καμπύλες αυτές είναι γραμμικές εξισώσεις δευτέρου βαθμού, καθώς παρέχουν τα καλύτερα δυνατά αποτελέσματα.

Μέσω της γραμμικής εξίσωσης 2ου βαθμού, υπολογίστηκαν οι συγκεντρώσεις των IgA αντισωμάτων στα δείγματα της αντίστοιχης κάθε φορά πρότυπης καμπύλης, αντικαθιστώντας το y με την αντίστοιχη απορρόφηση του εκάστοτε δείγματος και λύνοντας ως προς x , με τη χρήση του προγράμματος υπολογιστικών φύλλων Excel. Αυτές αποτελούν τις συγκεντρώσεις στο τελικό δείγμα.

Οι αρχικές συγκεντρώσεις, που ήταν και το ζητούμενο, αφορούν τις συγκεντρώσεις που προκύπτουν μετά τον υπολογισμό της αραιώσης που πραγματοποιήθηκε κατά το πείραμα. Συγκεκριμένα, η αραιώση αυτή έγινε όταν 200 μL από το δείγμα μητρικού γάλακτος, το οποίο προηγουμένως είχε επωασθεί και φυγοκεντρηθεί, αραιώθηκαν σε 300 μL διαλυτικού (Sample Diluent NS), με τελικό όγκο να ισούται στα 500 μL . Επομένως, η αραιώση ήταν 1/2,5 και προκειμένου να υπολογιστεί η συγκέντρωση των IgA αντισωμάτων στο αρχικό δείγμα, με βάση το νόμο της αραιώσης, πραγματοποιήθηκε πολλαπλασιασμός των συγκεντρώσεων, που προέκυψαν από την εκάστοτε εξίσωση της πρότυπης καμπύλης, επί 2,5.

Παρακάτω παρατίθενται οι μετρήσεις των απορροφήσεων των προτύπων και των δειγμάτων, οι πρότυπες καμπύλες που εξήχθησαν, καθώς και οι τελικές συγκεντρώσεις IgA αντισωμάτων στα δείγματα μητρικού γάλακτος που προέκυψαν έπειτα από κατάλληλους υπολογισμούς.

Για τη διεξαγωγή της πρώτης πρότυπης καμπύλης αναλύθηκαν, με τη μέθοδο ELISA, 7 πρότυπα με συγκεντρώσεις: 0, 0,78 , 1,56, 3,13 , 6,25 , 12,5 και 50 ng/mL (πίνακας 8.1). Παράλληλα, αναλύθηκαν 9 δείγματα, από την απορρόφηση των οποίων υπολογίστηκαν οι συγκεντρώσεις των IgA αντισωμάτων. Τα αποτελέσματα παρατίθενται παρακάτω, μέσω της πρότυπης καμπύλης (1):



ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ 1

Πίνακας 8.1 Δεδομένα πρότυπης καμπύλης (1)

| Συγκεντρώσεις (ng/mL) | Απορροφήσεις - O.D (450 nm) |
|--------------------------|--------------------------------|
| 0 | 0,213 |
| 0,78 | 0,257 |
| 1,56 | 0,323 |
| 3,13 | 0,421 |
| 6,25 | 0,534 |
| 12,5 | 0,911 |
| 50 | 2,899 |

Αντίστοιχα, πραγματοποιήθηκε η ίδια διαδικασία και για τις υπόλοιπες πρότυπες καμπύλες (**παράρτημα Α**) και με αυτόν τον τρόπο προέκυψαν οι συγκεντρώσεις των IgA αντισωμάτων (**πίνακας 8.2**).

Πίνακας 8.2 : Συγκεντρώσεις IgA αντισωμάτων στο μητρικό γάλα

| Δείγματα | Απορροφήσεις -O.D (450nm) | Στελ IgA (ng/mL) | Σαρχ IgA (ng/mL) | * |
|----------|---------------------------|------------------|------------------|---|
| 1 | 2,051 | 34,434 | 86,085 | 1 |
| 3 | 4,056 | 72,264 | 180,66 | |
| 6 | 3,758 | 66,642 | 166,604 | |
| 7 | 0,706 | 9,057 | 22,642 | |
| 8 | 1,126 | 16,981 | 42,453 | |
| 10 | 2,756 | 47,736 | 119,34 | |
| 12 | 3,838 | 68,151 | 170,377 | |
| 16 | 4,056 | 72,264 | 180,66 | |
| 19 | 3,304 | 58,075 | 145,189 | |
| 5 | 3,104 | 48,554 | 121,384 | 2 |
| 11 | 1,619 | 22,036 | 55,089 | |
| 13 | 4,057 | 65,571 | 163,929 | |
| 15 | 3,834 | 61,589 | 153,973 | |
| 18 | 1,093 | 12,643 | 31,607 | |
| 20 | 2,751 | 42,25 | 105,625 | |
| 26 | 1,447 | 18,964 | 47,411 | |
| 21 | 3,632 | 57,982 | 144,955 | |
| 22 | 2,042 | 29,589 | 73,973 | |
| 23 | 1,865 | 26,429 | 66,071 | |
| 24 | 0,81 | 7,589 | 18,973 | |
| 25 | 1,962 | 28,161 | 70,402 | |
| 27 | 0,999 | 14,472 | 36,179 | 3 |
| 28 | 1,389 | 21,83 | 54,575 | |
| 29 | 0,564 | 6,264 | 15,66 | |
| 30 | 0,756 | 9,887 | 24,717 | |
| 31 | 3,759 | 66,547 | 166,368 | |
| 32 | 0,51 | 5,245 | 13,113 | |
| 33 | 0,778 | 10,302 | 25,755 | |
| 34 | 0,877 | 12,17 | 30,425 | |
| 36 | 1,434 | 22,679 | 56,698 | |

| Δείγματα | Απορροφήσεις -O.D (450nm) | Στελ IgA (ng/mL) | Σαρχ IgA (ng/mL) | * |
|----------|---------------------------|------------------|------------------|---|
| 37 | 1,873 | 28,981 | 72,452 | 4 |
| 38 | 0,568 | 3,885 | 9,712 | |
| 39 | 1,546 | 22,692 | 56,731 | |
| 40 | 1,261 | 17,212 | 43,029 | |
| 41 | 1,38 | 19,528 | 48,821 | 5 |
| 44 | 0,209 | -2,566 | -6,415 | |
| 47 | 2,419 | 39,132 | 97,83 | |
| 48 | 0,432 | 1,642 | 4,104 | |
| 43 | 3,926 | 77,674 | 194,185 | 6 |
| 45 | 1,881 | 33,217 | 83,043 | |
| 46 | 3,833 | 75,652 | 189,13 | |
| 51 | 2,747 | 52,043 | 130,109 | |
| 52 | 0,761 | 8,87 | 22,174 | 7 |
| 59 | 0,765 | 9,788 | 24,471 | |
| 57 | 1,941 | 32,404 | 81,01 | |
| 53 | 3,212 | 56,846 | 142,115 | |
| 54 | 1,057 | 15,404 | 38,51 | |
| 55 | 0,965 | 13,635 | 34,087 | |
| 60 | 1,455 | 23,058 | 57,644 | |
| 58 | 2,311 | 39,519 | 98,798 | |
| 42 | 3,931 | 70,673 | 176,683 | |
| 49 | 2,759 | 48,135 | 120,337 | |
| 50 | 1,439 | 22,75 | 56,875 | |
| 56 | 4,057 | 73,096 | 182,74 | |

* Στους παραπάνω πίνακες ο κάθε αριθμός αντιστοιχεί και σε μια εξίσωση της αντίστοιχης πρότυπης καμπύλης :

1: $y = 0,053x + 0,226$

4: $y = 0,052x + 0,366$

6: $y = 0,046x + 0,353$

2: $y = 0,056x + 0,385$

5: $y = 0,053x + 0,345$

7: $y = 0,052x + 0,256$

3: $y = 0,053x + 0,232$

8.2 Ανάλυση δεδομένων

Δεδομένα Ερωτηματολογίου

Όπως προαναφέρθηκε και στη πειραματική διαδικασία, για τη συγκεκριμένη μελέτη χρησιμοποιήθηκαν 54 δείγματα γάλακτος μητέρων, που είχαν συλλεχθεί από τη νεογνολογική κλινική του Αρεταίειου Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου.

Πριν τη δειγματοληψία, είχε συμπληρωθεί από τις συμμετέχουσες μητέρες ερωτηματολόγιο, το οποίο περιλαμβάνει τις εξής πληροφορίες: ημερομηνία γέννησης, ποσότητα μητρικού γάλακτος, χρόνος λήψης μητρικού γάλακτος, ηλικία, εθνικότητα, BMI προ και μετά κύησης, υποκείμενα νοσήματα, φαρμακευτική αγωγή προ και κατά την διάρκεια της κύησης, δίδυμος κύηση, αριθμός τοκετών, κάπνισμα, αλκοόλ, επιπλοκές κύησης, ηλεκτροκαρδιογράφημα νεογνού, φύλο, βάρος γέννησης και πληροφορίες σχετικά με τον COVID (νόσος, νοσηλεία, συμπτώματα, εμβόλιο, 2η δόση εμβολίου).

Ωστόσο, δεν επιλέχθηκαν όλα τα παραπάνω δεδομένα για περαιτέρω ανάλυση. Πιο συγκεκριμένα, επιλέχθηκαν να εξεταστούν ορισμένα ανθρωπομετρικά χαρακτηριστικά (νοσήματα - υποθυρεοειδισμός και επιπλοκές κύησης - θυρεοειδοπάθεια, σακχαρώδης διαβήτης κύησης), καθημερινές συνήθειες σχετικά με το κάπνισμα, καθώς και δεδομένα σχετικά με τη νόσο του κορονοϊού-COVID-19 και το εμβόλιο κατά αυτής. Αντιθέτως, δεν επιλέχθηκε να αναλυθούν πληροφορίες που δεν θα επηρέαζαν τα αποτελέσματα της προκειμένης έρευνας, όπως η ποσότητα του μητρικού γάλακτος, η ενδεχόμενη φαρμακευτική αγωγή πριν και κατά την διάρκεια της κύησης, και δεδομένα σχετικά με το νεογνό. Επιπλέον πληροφορίες που δεν συμπεριλήφθηκαν στην ερευνητική αυτή προσπάθεια είναι η εθνικότητα της κάθε μητέρας και η ενδεχόμενη κατανάλωση αλκοόλ. Στην πρώτη περίπτωση, η εθνικότητα που επικρατούσε ήταν η ελληνική, καθιστώντας αμελητέο τον αριθμό άλλων εθνικοτήτων. Τέλος, στην δεύτερη περίπτωση που αφορά το αλκοόλ, οι πληροφορίες του ερωτηματολογίου δεν ήταν επαρκείς. Στον **πίνακα 8.3** παρατίθενται τα στοιχεία του ερωτηματολογίου που επιλέχθηκαν να αναλυθούν.

Πίνακας 8.3 Πληροφορίες ερωτηματολογίου

| ΚΩΔΙΚΟΣ | ΒΜΙ | ΗΛΙΚΙΑ ΜΗΤΕΡΑΣ | ΥΠΟΚΕΙΜΕΝΑ ΝΟΣΗΜΑΤΑ | ΕΠΙΠΛΟΚΕΣ ΚΥΗΣΗΣ | ΚΑΠΝΙΣΜΑ | ΤΟΚΟΣ | ΝΟΣΟΣ | ΕΜΒΟΛΙΟ | Εβδομ.μετά τη 2 ^η δόση |
|---------|-------|----------------|--------------------------|--------------------------|---------------------------------|-------|-------|---------|-----------------------------------|
| COV+1 | 33 | 25 | ΟΧΙ | ΟΧΙ | ΟΧΙ | 1 | ΝΑΙ | ΟΧΙ | |
| COV+3 | 33,53 | 32 | ΥΠΟΘΥΡΕΟΕΙΔΙΣΜΟΣ | ΘΥΡΕΟΕΙΔΟΠΑΘΕΙΑ | ΔΙΑΚΟΠΗ ΣΤΗΝ ΚΥΗΣΗ | 2 | ΟΧΙ | MODERNA | 2 |
| COV+5 | 27,4 | 31 | ΟΧΙ | ΟΧΙ | ΟΧΙ | 2 | ΝΑΙ | ΟΧΙ | |
| COV+6 | 22,9 | 38 | ΟΧΙ | ΟΧΙ | ΔΙΑΚΟΠΗ ΠΡΟ ΚΥΗΣΗΣ | 2 | ΝΑΙ | ΟΧΙ | |
| COV+7 | | 32 | ΟΧΙ | ΣΔ ΚΥΗΣΗΣ | ΟΧΙ | 2 | ΝΑΙ | ΟΧΙ | |
| COV+8 | 31,11 | 30 | ΟΧΙ | ΘΥΡΕΟΕΙΔΟΠΑΘΕΙΑ | ΟΧΙ | 1 | ΝΑΙ | ΟΧΙ | |
| COV+10 | 31,6 | 41 | ΟΧΙ | ΟΧΙ | ΔΙΑΚΟΠΗ ΣΤΗΝ ΚΥΗΣΗ | 2 | ΝΑΙ | ΟΧΙ | |
| COV+11 | 33,78 | 27 | ΟΧΙ | ΟΧΙ | ΟΧΙ | 1 | ΟΧΙ | ΟΧΙ | |
| COV+12 | 29,3 | 37 | ΟΧΙ | ΟΧΙ | ΟΧΙ | 2 | ΟΧΙ | MODERNA | 0 |
| COV+13 | 30,3 | 30 | ΟΧΙ | ΟΧΙ | ΔΙΑΚΟΠΗ ΣΤΗΝ ΚΥΗΣΗ | 2 | ΝΑΙ | ΟΧΙ | |
| COV+15 | 28,71 | 36 | ΨΩΡΙΑΣΗ | ΟΧΙ | ΔΙΑΚΟΠΗ ΣΤΗΝ ΚΥΗΣΗ | 1 | ΟΧΙ | PFIZER | 1 |
| COV+16 | 30,76 | 34 | ΟΧΙ | ΘΥΡΕΟΕΙΔΟΠΑΘΕΙΑ | ΟΧΙ | 2 | ΟΧΙ | ΝΑΙ | 3 |
| COV+18 | 29,07 | 34 | ΟΧΙ | ΣΔ ΚΥΗΣΗΣ | ΟΧΙ | 1 | ΟΧΙ | PFIZER | 4 |
| COV+19 | 23,94 | 40 | ΟΧΙ | ΣΔ ΚΥΗΣΗΣ | ΔΙΑΚΟΠΗ ΣΤΗΝ ΚΥΗΣΗ | 1 | ΝΑΙ | ΟΧΙ | |
| COV+20 | 25 | 29 | ΥΠΟΘΥΡΕΟΕΙΔΙΣΜΟΣ | ΟΧΙ | ΟΧΙ | 3 | ΝΑΙ | ΟΧΙ | |
| COV+21 | 22,4 | 32 | ΥΠΟΘΥΡΕΟΕΙΔΙΣΜΟΣ | ΟΧΙ | ΟΧΙ | 1 | ΟΧΙ | PFIZER | 5 |
| COV+22 | 30 | 36 | ΥΠΟΘΥΡΕΟΕΙΔΙΣΜΟΣ | ΣΔ ΚΥΗΣΗΣ | ΟΧΙ | 2 | ΟΧΙ | PFIZER | 7 |
| COV+23 | 23,51 | 43 | ΟΧΙ | ΟΧΙ | 3 ΤΣΙΓΑΡΑ/ΜΗΝΑ ΕΩΣ 40 ΜΗΝΑ ΖΩΗΣ | 3 | ΟΧΙ | PFIZER | 30 |
| COV+24 | 24,22 | 43 | ΟΧΙ | ΟΧΙ | ΟΧΙ | 1 | ΟΧΙ | MODERNA | 5 |
| COV+25 | 28,76 | 33 | ΟΧΙ | ΟΧΙ | ΔΙΑΚΟΠΗ ΠΡΟ ΚΥΗΣΗΣ | 1 | ΟΧΙ | PFIZER | 9 |
| COV+26 | 33,91 | 34 | ΟΧΙ | ΣΔ ΚΥΗΣΗΣ | ΔΙΑΚΟΠΗ ΠΡΟ ΚΥΗΣΗΣ | 2 | ΝΑΙ | ΟΧΙ | |
| COV+27 | 34,53 | 36 | ΟΧΙ | ΟΧΙ | ΟΧΙ | 4 | ΟΧΙ | PFIZER | 8 |
| COV+28 | 29 | 46 | ΟΧΙ | ΟΧΙ | ΔΙΑΚΟΠΗ ΠΡΟ ΚΥΗΣΗΣ | 2 | ΟΧΙ | PFIZER | 8 |
| COV+29 | 37,3 | 32 | HASHIMOTO | ΘΥΡΕΟΕΙΔΟΠΑΘΕΙΑ ΚΥΗΣΗΣ | ΔΙΑΚΟΠΗ ΠΡΟ ΚΥΗΣΗΣ | 1 | ΟΧΙ | ΝΑΙ | |
| COV+30 | 24,6 | 35 | ΔΥΣΛΙΠΙΔΑΙΜΙΑ | ΟΧΙ | ΟΧΙ | 1 | ΟΧΙ | PFIZER | 15 |
| COV+31 | 26,93 | 37 | HASHIMOTO | ΣΔ ΚΥΗΣΗΣ | ΔΙΑΚΟΠΗ ΣΤΗΝ ΚΥΗΣΗ | 1 | ΟΧΙ | PFIZER | 8 |
| COV+32 | 25 | 25 | ΣΕΛ | ΟΧΙ | ΟΧΙ | 1 | ΟΧΙ | PFIZER | 9 |
| COV+33 | 40,7 | 52 | ΥΠ,ΕΡΥΘΗΜΑΤΩΔΕΣ ΕΞΑΝΘΗΜΑ | ΟΧΙ | ΟΧΙ | 1 | ΟΧΙ | PFIZER | |
| COV+34 | 44,29 | 32 | ΟΧΙ | ΟΧΙ | ΔΙΑΚΟΠΗ ΣΤΗΝ ΚΥΗΣΗ | 1 | ΟΧΙ | PFIZER | 4 |
| COV+36 | 42 | 37 | ΟΧΙ | ΟΧΙ | ΟΧΙ | 2 | ΟΧΙ | PFIZER | 7 |
| COV+37 | 24,02 | 37 | ΥΠΟΘΥΡΕΟΕΙΔΙΣΜΟΣ | ΣΔ ΚΥΗΣΗΣ | ΔΙΑΚΟΠΗ ΣΤΗΝ ΚΥΗΣΗ | 1 | ΝΑΙ | ΟΧΙ | |
| COV+38 | 25,7 | 34 | HASHIMOTO | ΟΧΙ | ΔΙΑΚΟΠΗ ΣΤΗΝ ΚΥΗΣΗ | 1 | ΝΑΙ | ΟΧΙ | |
| COV+39 | 23 | 34 | ΥΠΟΘΥΡΕΟΕΙΔΙΣΜΟΣ | ΟΧΙ | ΟΧΙ | 1 | ΟΧΙ | PFIZER | 12 |
| COV+40 | 26,2 | 38 | ΥΠΟΘΥΡΕΟΕΙΔΙΣΜΟΣ | ΟΧΙ | ΟΧΙ | 3 | ΝΑΙ | ΟΧΙ | |
| COV+41 | 31,89 | 37 | ΥΠΟΘΥΡΕΟΕΙΔΙΣΜΟΣ | ΟΧΙ | ΔΙΑΚΟΠΗ ΣΤΗΝ ΚΥΗΣΗ | 2 | ΟΧΙ | PFIZER | 12 |
| COV+42 | 30,5 | 30 | ΟΧΙ | ΘΥΡΕΟΕΙΔΟΠΑΘΕΙΑ | ΟΧΙ | 1 | ΟΧΙ | PFIZER | 8 |
| COV+43 | 23,8 | 43 | ΟΧΙ | ΟΧΙ-ΠΙΘΑΝΗ ΑΝΤΙΣΤΑΣΗ Σ Ι | ΔΙΑΚΟΠΗ ΠΡΟ ΚΥΗΣΗΣ | 3 | ΟΧΙ | PFIZER | 22 |
| COV+44 | 42,45 | 37 | ΥΠΟΘΥΡΕΟΕΙΔΙΣΜΟΣ | ΟΧΙ | ΔΙΑΚΟΠΗ ΣΤΗΝ ΚΥΗΣΗ | 1 | ΟΧΙ | PFIZER | 16 |
| COV+45 | 34,3 | 38 | HASHIMOTO | ΟΧΙ | ΔΙΑΚΟΠΗ ΣΤΗΝ ΚΥΗΣΗ | 3 | ΟΧΙ | PFIZER | 3 |
| COV+46 | 23,8 | 37 | ΥΠΟΘΥΡΕΟΕΙΔΙΣΜΟΣ | ΟΧΙ | 7 ΤΣΙΓΑΡΑ/ΜΕΡΑ | 1 | ΟΧΙ | PFIZER | 12 |
| COV+47 | 30,12 | 39 | ΟΧΙ | ΘΥΡΕΟΕΙΔΟΠΑΘΕΙΑ | ΔΙΑΚΟΠΗ ΠΡΟ ΚΥΗΣΗΣ | 2 | ΟΧΙ | PFIZER | 18 |
| COV+48 | 31,6 | 36 | ΟΧΙ | ΠΡΟΕΚΛΑΜΨΙΑ | ΟΧΙ | 1 | ΟΧΙ | PFIZER | 15 |
| COV+49 | 22,8 | 35 | ΟΧΙ | ΘΥΡΕΟΕΙΔΟΠΑΘΕΙΑ | ΟΧΙ | 2 | ΟΧΙ | PFIZER | 9 |
| COV+50 | 23 | 32 | ΟΧΙ | ΟΧΙ | ΟΧΙ | 1 | ΟΧΙ | PFIZER | 10 |
| COV+51 | 25,6 | 37 | ΟΧΙ | ΘΥΡΕΟΕΙΔΟΠΑΘΕΙΑ | ΔΙΑΚΟΠΗ ΣΤΗΝ ΚΥΗΣΗ | 2 | ΟΧΙ | PFIZER | 14 |
| COV+52 | 36 | 41 | ΟΧΙ | ΘΥΡΕΟΕΙΔΟΠΑΘΕΙΑ | ΔΙΑΚΟΠΗ ΣΤΗΝ ΚΥΗΣΗ | 2 | ΟΧΙ | ΝΑΙ | 14 |
| COV+53 | 22 | 36 | ΟΧΙ | ΟΧΙ | ΟΧΙ | 2 | ΟΧΙ | PFIZER | 9 |
| COV+54 | 26 | 39 | ΟΧΙ | ΟΧΙ | ΟΧΙ | 2 | ΟΧΙ | PFIZER | 11 |
| COV+55 | 28,6 | 36 | ΟΧΙ | ΟΧΙ | ΟΧΙ | 1 | ΟΧΙ | PFIZER | 16 |
| COV+56 | 30,12 | 32 | ΟΧΙ | ΣΔ ΚΥΗΣΗΣ | 5 ΤΣΙΓΑΡΑ/ΜΕΡΑ | 1 | ΟΧΙ | PFIZER | 12 |
| COV+57 | 21,6 | 38 | ΥΠΟΘΥΡΕΟΕΙΔΙΣΜΟΣ | ΣΔ ΚΥΗΣΗΣ | ΔΙΑΚΟΠΗ ΠΡΟ ΚΥΗΣΗΣ | 2 | ΟΧΙ | PFIZER | 15 |
| COV+58 | 24,6 | 32 | ΟΧΙ | ΟΧΙ | ΟΧΙ | 1 | ΟΧΙ | PFIZER | 15 |
| COV+59 | 27 | 28 | ΟΧΙ | ΣΔ ΚΥΗΣΗΣ | 5 ΤΣΙΓΑΡΑ/ΜΕΡΑ | 1 | ΟΧΙ | PFIZER | 11 |
| COV+60 | 26,4 | 29 | ΟΧΙ | ΣΔ ΚΥΗΣΗΣ | ΔΙΑΚΟΠΗ ΣΤΗΝ ΚΥΗΣΗ | 1 | ΟΧΙ | MODERNA | 23 |

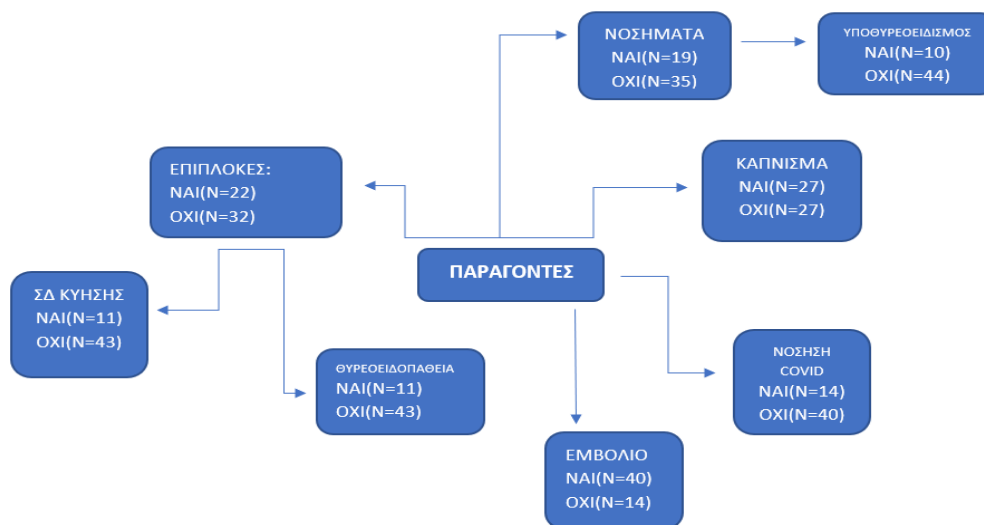
Για την περαιτέρω ανάλυση των δεδομένων του ερωτηματολογίου πραγματοποιήθηκε ποιοτική και ποσοτική ανάλυση, καθώς οι παράγοντες που επηρεάζουν τη συγκέντρωση των IgA αντισωμάτων είναι τόσο ποιοτικοί όσο και ποσοτικοί.

8.2.1 Επεξεργασία αποτελεσμάτων

Πρώτο βήμα για την ποιοτική ανάλυση αποτελεί ο διαχωρισμός των πληροφοριών του ερωτηματολογίου, με βάση την άμεση συσχέτιση τους με την παρούσα έρευνα, δηλαδή με τη συγκέντρωση IgA αντισωμάτων. Στην προσπάθεια αξιοποίησης των στοιχείων του ερωτηματολογίου, όσο το δυνατόν πιο αποτελεσματικά, πραγματοποιήθηκε μια κατηγοριοποίηση των απαντήσεων. Γενικά, οι ομάδες στηρίχτηκαν σε ποιοτικά χαρακτηριστικά και ο προσδιορισμός τους ήταν σε άμεση συσχέτιση, με την διατύπωση των πληροφοριών του ίδιου του ερωτηματολογίου, λαμβάνοντας υπόψη τόσο τον περιορισμό του μεγέθους του δειγματοχώρου, όσο και την εξασφάλιση ενός ικανοποιητικού αριθμού δειγμάτων σε κάθε ομάδα.

Αναλυτικότερα, όλοι οι ποιοτικοί παράγοντες (νοσήματα, υποθυρεοειδισμός, επιπλοκές, θυρεοειδοπάθεια κύησης, σακχαρώδης διαβήτης κύησης, κάπνισμα, COVID-19 και εμβόλιο κατά του SARS-CoV-2) αποτελούνται από 2 κατηγορίες το καθένα: ΝΑΙ, για την ύπαρξη του εν λόγω παράγοντα και ΟΧΙ, για την απουσία αυτού.

Προκειμένου να γίνει πλήρως κατανοητή η κάθε κατηγοριοποίηση, χρησιμοποιήθηκε το εξής διάγραμμα και προέκυψε ο παρακάτω πίνακας, στα οποία παρουσιάζονται οι κατηγορίες που πραγματοποιήθηκαν να αναλυθούν, και τα ποσοστά για την κάθε υποκατηγορία.



Πίνακας 8.4 Κατηγοριοποίηση ποιοτικών παραγόντων

| ΠΑΡΑΓΟΝΤΑΣ | ΚΑΤΗΓΟΡΙΑ 1 | ΚΑΤΗΓΟΡΙΑ 2 |
|-----------------------|-------------|-------------|
| Νοσήματα | ΝΑΙ (35,2%) | ΟΧΙ (64,8%) |
| Υποθυρεοειδισμός | ΝΑΙ (18,5%) | ΟΧΙ (81,5%) |
| Επιπλοκές | ΝΑΙ (40,7%) | ΟΧΙ (59,2%) |
| Θυρεοειδοπάθεια | ΝΑΙ (20,4%) | ΟΧΙ (79,6%) |
| Σακχ. Διαβήτης κύησης | ΝΑΙ (20,4%) | ΟΧΙ (79,6%) |
| Κάπνισμα | ΝΑΙ (50%) | ΟΧΙ (50%) |
| Εμβόλιο | ΝΑΙ (74,1%) | ΟΧΙ (25,9%) |
| COVID-19 | ΝΑΙ (25,9%) | ΟΧΙ (74,1%) |

Συνεπώς, έχοντας και τις συγκεντρώσεις των IgA αντισωμάτων, προκύπτει ο παρακάτω πίνακας, βασισμένος στην παραπάνω κατηγοριοποίηση των παραγόντων.

Πίνακας 8.5 : Ερωτηματολόγιο έπειτα από κατηγοριοποίηση

| ΚΩΔΙΚΟΣ | Caρχ IgA (ng/mL) | ΥΠΟΚΕΙΜΕΝΑ ΝΟΣΗΜΑΤΑ | ΥΠΟΘΥΡΕΙΔΙ ΣΜΟΣ | ΕΠΙΠΛΟΚΕΣ ΚΥΗΣΗΣ | ΘΥΡΕΟΕΙΔ ΟΠΑΘΕΙΑ | ΣΑΚΧ. ΔΙΑΒΗΤΗΣ | ΚΑΠΝΙΣΜΑ | COVID | ΕΜΒΟΛΙΟ |
|---------|------------------|---------------------|-----------------|------------------|------------------|----------------|----------|-------|---------|
| COV+1 | 86,085 | ΟΧΙ | ΟΧΙ | ΟΧΙ | ΟΧΙ | ΟΧΙ | ΟΧΙ | ΝΑΙ | ΟΧΙ |
| COV+3 | 180,66 | ΝΑΙ | ΝΑΙ | ΝΑΙ | ΝΑΙ | ΟΧΙ | ΝΑΙ | ΟΧΙ | ΝΑΙ |
| COV+5 | 121,384 | ΟΧΙ | ΟΧΙ | ΟΧΙ | ΟΧΙ | ΟΧΙ | ΟΧΙ | ΝΑΙ | ΟΧΙ |
| COV+6 | 166,604 | ΟΧΙ | ΟΧΙ | ΟΧΙ | ΟΧΙ | ΟΧΙ | ΝΑΙ | ΝΑΙ | ΟΧΙ |
| COV+7 | 22,642 | ΟΧΙ | ΟΧΙ | ΝΑΙ | ΟΧΙ | ΝΑΙ | ΟΧΙ | ΝΑΙ | ΟΧΙ |
| COV+8 | 42,453 | ΟΧΙ | ΟΧΙ | ΝΑΙ | ΝΑΙ | ΟΧΙ | ΟΧΙ | ΝΑΙ | ΟΧΙ |
| COV+10 | 119,340 | ΟΧΙ | ΟΧΙ | ΟΧΙ | ΟΧΙ | ΟΧΙ | ΝΑΙ | ΝΑΙ | ΟΧΙ |
| COV+11 | 55,089 | ΟΧΙ | ΟΧΙ | ΟΧΙ | ΟΧΙ | ΟΧΙ | ΟΧΙ | ΟΧΙ | ΟΧΙ |
| COV+12 | 170,377 | ΟΧΙ | ΟΧΙ | ΟΧΙ | ΟΧΙ | ΟΧΙ | ΟΧΙ | ΟΧΙ | ΝΑΙ |
| COV+13 | 163,929 | ΟΧΙ | ΟΧΙ | ΟΧΙ | ΟΧΙ | ΟΧΙ | ΝΑΙ | ΝΑΙ | ΟΧΙ |
| COV+15 | 153,973 | ΝΑΙ | ΟΧΙ | ΟΧΙ | ΟΧΙ | ΟΧΙ | ΝΑΙ | ΟΧΙ | ΝΑΙ |
| COV+16 | 180,660 | ΟΧΙ | ΟΧΙ | ΝΑΙ | ΝΑΙ | ΟΧΙ | ΟΧΙ | ΟΧΙ | ΝΑΙ |
| COV+18 | 31,607 | ΟΧΙ | ΟΧΙ | ΝΑΙ | ΟΧΙ | ΝΑΙ | ΟΧΙ | ΟΧΙ | ΝΑΙ |
| COV+19 | 145,189 | ΟΧΙ | ΟΧΙ | ΝΑΙ | ΟΧΙ | ΝΑΙ | ΝΑΙ | ΝΑΙ | ΟΧΙ |
| COV+20 | 105,625 | ΝΑΙ | ΝΑΙ | ΟΧΙ | ΟΧΙ | ΟΧΙ | ΟΧΙ | ΝΑΙ | ΟΧΙ |
| COV+21 | 144,955 | ΝΑΙ | ΝΑΙ | ΟΧΙ | ΟΧΙ | ΟΧΙ | ΟΧΙ | ΟΧΙ | ΝΑΙ |
| COV+22 | 73,973 | ΝΑΙ | ΝΑΙ | ΝΑΙ | ΟΧΙ | ΝΑΙ | ΟΧΙ | ΟΧΙ | ΝΑΙ |
| COV+23 | 66,071 | ΟΧΙ | ΟΧΙ | ΟΧΙ | ΟΧΙ | ΟΧΙ | ΝΑΙ | ΟΧΙ | ΝΑΙ |
| COV+24 | 18,973 | ΟΧΙ | ΟΧΙ | ΟΧΙ | ΟΧΙ | ΟΧΙ | ΟΧΙ | ΟΧΙ | ΝΑΙ |
| COV+25 | 70,402 | ΟΧΙ | ΟΧΙ | ΟΧΙ | ΟΧΙ | ΟΧΙ | ΝΑΙ | ΟΧΙ | ΝΑΙ |
| COV+26 | 47,411 | ΟΧΙ | ΟΧΙ | ΝΑΙ | ΟΧΙ | ΝΑΙ | ΝΑΙ | ΝΑΙ | ΟΧΙ |
| COV+27 | 36,179 | ΟΧΙ | ΟΧΙ | ΟΧΙ | ΟΧΙ | ΟΧΙ | ΟΧΙ | ΟΧΙ | ΝΑΙ |
| COV+28 | 54,575 | ΟΧΙ | ΟΧΙ | ΟΧΙ | ΟΧΙ | ΟΧΙ | ΝΑΙ | ΟΧΙ | ΝΑΙ |
| COV+29 | 15,660 | ΝΑΙ | ΟΧΙ | ΝΑΙ | ΝΑΙ | ΟΧΙ | ΝΑΙ | ΟΧΙ | ΝΑΙ |
| COV+30 | 24,717 | ΝΑΙ | ΟΧΙ | ΟΧΙ | ΟΧΙ | ΟΧΙ | ΟΧΙ | ΟΧΙ | ΝΑΙ |
| COV+31 | 166,368 | ΝΑΙ | ΟΧΙ | ΝΑΙ | ΟΧΙ | ΝΑΙ | ΝΑΙ | ΟΧΙ | ΝΑΙ |
| COV+32 | 13,113 | ΝΑΙ | ΟΧΙ | ΟΧΙ | ΟΧΙ | ΟΧΙ | ΟΧΙ | ΟΧΙ | ΝΑΙ |
| COV+33 | 25,755 | ΝΑΙ | ΟΧΙ | ΟΧΙ | ΟΧΙ | ΟΧΙ | ΟΧΙ | ΟΧΙ | ΝΑΙ |
| COV+34 | 30,424 | ΟΧΙ | ΟΧΙ | ΟΧΙ | ΟΧΙ | ΟΧΙ | ΝΑΙ | ΟΧΙ | ΝΑΙ |
| COV+36 | 56,698 | ΟΧΙ | ΟΧΙ | ΟΧΙ | ΟΧΙ | ΟΧΙ | ΟΧΙ | ΟΧΙ | ΝΑΙ |
| COV+37 | 72,452 | ΝΑΙ | ΝΑΙ | ΝΑΙ | ΟΧΙ | ΝΑΙ | ΝΑΙ | ΝΑΙ | ΟΧΙ |
| COV+38 | 9,712 | ΝΑΙ | ΟΧΙ | ΟΧΙ | ΟΧΙ | ΟΧΙ | ΝΑΙ | ΝΑΙ | ΟΧΙ |
| COV+39 | 56,731 | ΝΑΙ | ΝΑΙ | ΟΧΙ | ΟΧΙ | ΟΧΙ | ΟΧΙ | ΟΧΙ | ΝΑΙ |
| COV+40 | 43,029 | ΝΑΙ | ΝΑΙ | ΟΧΙ | ΟΧΙ | ΟΧΙ | ΟΧΙ | ΝΑΙ | ΟΧΙ |
| COV+41 | 48,821 | ΝΑΙ | ΝΑΙ | ΟΧΙ | ΟΧΙ | ΟΧΙ | ΝΑΙ | ΟΧΙ | ΝΑΙ |
| COV+42 | 176,683 | ΟΧΙ | ΟΧΙ | ΝΑΙ | ΝΑΙ | ΟΧΙ | ΟΧΙ | ΟΧΙ | ΝΑΙ |
| COV+43 | 194,185 | ΟΧΙ | ΟΧΙ | ΝΑΙ | ΟΧΙ | ΟΧΙ | ΝΑΙ | ΟΧΙ | ΝΑΙ |
| COV+45 | 83,043 | ΝΑΙ | ΟΧΙ | ΟΧΙ | ΟΧΙ | ΟΧΙ | ΝΑΙ | ΟΧΙ | ΝΑΙ |
| COV+46 | 189,13 | ΝΑΙ | ΝΑΙ | ΟΧΙ | ΟΧΙ | ΟΧΙ | ΝΑΙ | ΟΧΙ | ΝΑΙ |
| COV+47 | 97,830 | ΟΧΙ | ΟΧΙ | ΝΑΙ | ΝΑΙ | ΟΧΙ | ΝΑΙ | ΟΧΙ | ΝΑΙ |
| COV+48 | 4,104 | ΟΧΙ | ΟΧΙ | ΝΑΙ | ΟΧΙ | ΟΧΙ | ΟΧΙ | ΟΧΙ | ΝΑΙ |
| COV+49 | 120,336 | ΟΧΙ | ΟΧΙ | ΝΑΙ | ΝΑΙ | ΟΧΙ | ΟΧΙ | ΟΧΙ | ΝΑΙ |
| COV+50 | 56,875 | ΟΧΙ | ΟΧΙ | ΟΧΙ | ΟΧΙ | ΟΧΙ | ΟΧΙ | ΟΧΙ | ΝΑΙ |
| COV+51 | 130,109 | ΟΧΙ | ΟΧΙ | ΝΑΙ | ΝΑΙ | ΟΧΙ | ΝΑΙ | ΟΧΙ | ΝΑΙ |
| COV+52 | 22,174 | ΟΧΙ | ΟΧΙ | ΝΑΙ | ΝΑΙ | ΟΧΙ | ΝΑΙ | ΟΧΙ | ΝΑΙ |
| COV+53 | 142,115 | ΟΧΙ | ΟΧΙ | ΟΧΙ | ΟΧΙ | ΟΧΙ | ΟΧΙ | ΟΧΙ | ΝΑΙ |
| COV+54 | 38,510 | ΟΧΙ | ΟΧΙ | ΟΧΙ | ΟΧΙ | ΟΧΙ | ΟΧΙ | ΟΧΙ | ΝΑΙ |
| COV+55 | 34,067 | ΟΧΙ | ΟΧΙ | ΟΧΙ | ΟΧΙ | ΟΧΙ | ΟΧΙ | ΟΧΙ | ΝΑΙ |
| COV+56 | 182,740 | ΟΧΙ | ΟΧΙ | ΝΑΙ | ΟΧΙ | ΝΑΙ | ΝΑΙ | ΟΧΙ | ΝΑΙ |
| COV+57 | 81,010 | ΝΑΙ | ΝΑΙ | ΝΑΙ | ΟΧΙ | ΝΑΙ | ΝΑΙ | ΟΧΙ | ΝΑΙ |
| COV+58 | 98,800 | ΟΧΙ | ΟΧΙ | ΟΧΙ | ΟΧΙ | ΟΧΙ | ΟΧΙ | ΟΧΙ | ΝΑΙ |
| COV+59 | 24,471 | ΟΧΙ | ΟΧΙ | ΝΑΙ | ΝΑΙ | ΝΑΙ | ΝΑΙ | ΟΧΙ | ΝΑΙ |
| COV+60 | 57,644 | ΟΧΙ | ΟΧΙ | ΝΑΙ | ΟΧΙ | ΝΑΙ | ΝΑΙ | ΟΧΙ | ΝΑΙ |

Στη συνέχεια της έρευνας αυτής και με την αρωγή των υπολογιστικών φύλλων Excel, υπολογίστηκαν η διάμεσος, ο μέσος όρος, η διακύμανση και η τυπική απόκλιση των IgA αντισωμάτων για κάθε υποκατηγορία ξεχωριστά, με απώτερο σκοπό την αντιπαραβολή και σύγκριση τους, για τον εντοπισμό διαφορών και ομοιοτήτων. Τα αποτελέσματα αυτά φαίνονται στον παρακάτω πίνακα:

Πίνακας 8.6 Ανάλυση ποιοτικών παραγόντων

| ΠΑΡΑΓΟΝΤΑΣ | ΚΑΤΗΓΟΡΙΑ 1 | ΚΑΤΗΓΟΡΙΑ 2 |
|-----------------------------|--------------------|--------------------|
| Νοσήματα | ΝΑΙ (N=19) | ΟΧΙ (N=35) |
| ΔΙΑΜΕΣΟΣ | 73,213 | 66,071 |
| ΔΙΑΚΥΜΑΝΣΗ | 3572,2136 | 3391,8559 |
| ΜΕΣΟΣ ΟΡΟΣ | 83,646 | 90,314 |
| ΤΥΠ ΑΠΟΚΛΙΣΗ | 59,7680 | 60,5762 |
| Υποθιροειδισμός | ΝΑΙ (N=10) | ΟΧΙ (N=44) |
| ΔΙΑΜΕΣΟΣ | 77,4915 | 57,2595 |
| ΔΙΑΚΥΜΑΝΣΗ | 3029,3407 | 3499,7479 |
| ΜΕΣΟΣ ΟΡΟΣ | 105,206 | 82,743 |
| ΤΥΠ ΑΠΟΚΛΙΣΗ | 55,0394 | 61,3568 |
| Επιπλοκές | ΝΑΙ (N=22) | ΟΧΙ (N=32) |
| ΔΙΑΜΕΣΟΣ | 77,492 | 56,875 |
| ΔΙΑΚΥΜΑΝΣΗ | 4286,554 | 3841,498 |
| ΜΕΣΟΣ ΟΡΟΣ | 94,107 | 79,948 |
| ΤΥΠ ΑΠΟΚΛΙΣΗ | 65,4718 | 54,2054 |
| Θυρεοειδοπάθεια | ΝΑΙ (N=9) | ΟΧΙ (N= 45) |
| ΔΙΑΜΕΣΟΣ | 120,336 | 61,858 |
| ΔΙΑΚΥΜΑΝΣΗ | 5061,415 | 2940,393 |
| ΜΕΣΟΣ ΟΡΟΣ | 107,747 | 80,088 |
| ΤΥΠ ΑΠΟΚΛΙΣΗ | 71,1436 | 55,4711 |
| Σακχ.Διαβήτης κύησης | ΝΑΙ (N=11) | ΟΧΙ (N=43) |
| ΔΙΑΜΕΣΟΣ | 72,452 | 68,237 |
| ΔΙΑΚΥΜΑΝΣΗ | 3197,477 | 3538,020 |
| ΜΕΣΟΣ ΟΡΟΣ | 82,319 | 86,917 |
| ΤΥΠ ΑΠΟΚΛΙΣΗ | 59,5419 | 60,2200 |
| Κάπνισμα | ΝΑΙ (N=27) | ΟΧΙ (N=27) |
| ΔΙΑΜΕΣΟΣ | 82,027 | 56,698 |
| ΔΙΑΚΥΜΑΝΣΗ | 3754,122 | 2897,145 |
| ΜΕΣΟΣ ΟΡΟΣ | 98,997 | 72,902 |
| ΤΥΠ ΑΠΟΚΛΙΣΗ | 61,2709 | 54,8301 |
| COVID | ΝΑΙ (N=14) | ΟΧΙ (N=40) |
| ΔΙΑΜΕΣΟΣ | 86,085 | 61,858 |
| ΔΙΑΚΥΜΑΝΣΗ | 2834,3267 | 3686,3962 |
| ΜΕΣΟΣ ΟΡΟΣ | 88,143 | 85,240 |
| ΤΥΠ ΑΠΟΚΛΙΣΗ | 53,2384 | 60,7157 |
| Εμβόλιο | ΝΑΙ (N=40) | ΟΧΙ (N=14) |
| ΔΙΑΜΕΣΟΣ | 66,071 | 79,269 |
| ΔΙΑΚΥΜΑΝΣΗ | 3758,870 | 2694,341 |
| ΜΕΣΟΣ ΟΡΟΣ | 86,784 | 85,782 |
| ΤΥΠ ΑΠΟΚΛΙΣΗ | 61,3096 | 51,9070 |

Όπως διαφαίνεται στον παραπάνω πίνακα, η κάθε υποκατηγορία διαφοροποιείται, ως προς τον μέσο όρο της στην ύπαρξη ή όχι του εν λόγω παράγοντα. Ωστόσο, δεν είναι δυνατή η εξαγωγή κάποιου εύλογου συμπεράσματος, διότι δεν γνωρίζουμε εάν είναι στατιστικά σημαντική η εκάστοτε διαφορά.

Για τον λόγο αυτό, με τη βοήθεια υπολογιστικών φύλλων Excel, πραγματοποιήθηκε το στατιστικό τεστ χ^2 για κάθε έναν από τους προαναφερθέντες παράγοντες (νοσήματα, υποθυρεοειδισμός, επιπλοκές, θυρεοειδοπάθεια κύησης, σακχαρώδης διαβήτης κύησης, κάπνισμα, νόσος COVID-19 και εμβόλιο κατά του SARS-CoV-2).

Πρώτο βήμα ήταν η κατηγοριοποίηση της συγκέντρωσης IgA αντισωμάτων, οι οποίες χωρίστηκαν σε 3 υποκατηγορίες : υψηλές τιμές, μεσαίες τιμές και χαμηλές τιμές. Αναλυτικότερα, οι χαμηλές τιμές αντιστοιχούν σε συγκεντρώσεις μικρότερες ή ίσες των 50 ng/mL, οι μεσαίες τιμές σε συγκεντρώσεις: 50-120 ng/mL και οι υψηλές τιμές σε συγκεντρώσεις μεγαλύτερες ή ίσες του 120 ng/mL.

Έπειτα, με βάση τις παραπάνω κατηγορίες των αντισωμάτων, χωρίστηκαν και οι προαναφερθέντες παράγοντες (νοσήματα, υποθυρεοειδισμός, επιπλοκές, θυρεοειδοπάθεια κύησης, σακχαρώδης διαβήτης κύησης, κάπνισμα, COVID-19 και εμβόλιο κατά του SARS-CoV-2) σε 2 κατηγορίες το καθένα: ΝΑΙ, για την ύπαρξη του εν λόγω παράγοντα και ΟΧΙ, για την απουσία αυτού.

Στον παρακάτω πίνακα παρουσιάζονται οι κατηγορίες που πραγματοποιήθηκαν, για την κάθε παράμετρο με βάση τις κατηγορίες των IgA αντισωμάτων :

Πίνακας 8.7 Ποιοτικοί παράγοντες με βάση την κατηγοριοποίηση των IgA αντισωμάτων

| ΠΑΡΑΓΟΝΤΑΣ | Χαμηλές τιμές IgA (N=17) | | Μεσαίες τιμές IgA (N=17) | | Υψηλές τιμές IgA (N=19) | |
|----------------------------------|-----------------------------|------------|-----------------------------|------------|----------------------------|------------|
| Νοσήματα | ΝΑΙ (N=7) | ΟΧΙ (N=12) | ΝΑΙ (N=6) | ΟΧΙ (N=11) | ΝΑΙ (N=4) | ΟΧΙ (N=13) |
| Υποθυρεοειδισμός | ΝΑΙ (N=3) | ΟΧΙ (N=16) | ΝΑΙ (N=5) | ΟΧΙ (N=12) | ΝΑΙ (N=3) | ΟΧΙ (N=14) |
| Επιπλοκές | ΝΑΙ (N=8) | ΟΧΙ (N=11) | ΝΑΙ (N=6) | ΟΧΙ (N=11) | ΝΑΙ (N=8) | ΟΧΙ (N=8) |
| Θυρεοειδοπάθεια | ΝΑΙ (N=4) | ΟΧΙ (N=15) | ΝΑΙ (N=2) | ΟΧΙ (N=15) | ΝΑΙ (N=4) | ΟΧΙ (N=13) |
| Σακχ. Διαβήτης κύησης | ΝΑΙ (N=4) | ΟΧΙ (N=15) | ΝΑΙ (N=2) | ΟΧΙ (N=15) | ΝΑΙ (N=3) | ΟΧΙ (N=13) |
| Κάπνισμα | ΝΑΙ (N=7) | ΟΧΙ (N=12) | ΝΑΙ (N=9) | ΟΧΙ (N=8) | ΝΑΙ (N=10) | ΟΧΙ (N=7) |
| COVID-19 | ΝΑΙ (N=5) | ΟΧΙ (N=14) | ΝΑΙ (N=5) | ΟΧΙ (N=12) | ΝΑΙ (N=4) | ΟΧΙ (N=13) |
| Εμβόλιο | ΝΑΙ (N=14) | ΟΧΙ (N=5) | ΝΑΙ (N=12) | ΟΧΙ (N=5) | ΝΑΙ (N=13) | ΟΧΙ (N=4) |

Η διαδικασία που πραγματοποιήθηκε καθώς και τα αποτελέσματα που προέκυψαν από το στατιστικό test χ^2 για τον παράγοντα νοσήματα διακρίνονται παρακάτω, με βάση την παραπάνω κατηγοριοποίηση:

Πίνακας 8.8 Στατιστικό test χ^2 για τα νοσήματα

| | ΥΨΗΛΕΣ | ΜΕΣΑΙΕΣ | ΧΑΜΗΛΕΣ | ΣΥΝΟΛΟ |
|---------------------|--------|---------|---------|--------|
| ΝΟΣΗΜΑ (ΝΑΙ) | 4 | 6 | 7 | 17 |
| ΟΧΙ | 13 | 11 | 12 | 36 |
| ΣΥΝΟΛΟ | 17 | 17 | 19 | 53 |

| EXPECTED | ΥΨΗΛΕΣ | ΜΕΣΑΙΕΣ | ΧΑΜΗΛΕΣ | ΣΥΝΟΛΟ |
|---------------------|----------------|---------------|---------|--------|
| ΝΟΣΗΜΑ (ΝΑΙ) | 5,4528 | 5,4528 | 6,0943 | 17 |
| ΟΧΙ | 11,5472 | 11,5472 | 12,9057 | 36 |
| ΣΥΝΟΛΟ | 17 | 17 | 19 | 53 |
| P | 0,65414 | >5% | | |

Νοσήματα

Παρόλο που από τον **πίνακα 8.6**, φάνηκε μια διαφορά των τιμών IgA μεταξύ της παρουσίας του παράγοντα νόσημα: ($83,6 \pm 59,8$) και της απουσίας αυτού: ($90,3 \pm 60,6$), από το στατιστικό test χ^2 , υπολογίστηκε ότι δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ της παρουσίας και απουσίας του παράγοντα αυτού, διότι η τιμή p ήταν μεγαλύτερη από το επίπεδο σημαντικότητας 5% (0,6541). Συνεπώς, η ύπαρξη των συγκεκριμένων νοσημάτων μεταξύ των μητέρων δεν επιδρά στην κατανομή των συγκεντρώσεων των IgA αντισωμάτων.

Αντίστοιχα, για τους υπόλοιπους παράγοντες προέκυψαν τα εξής αποτελέσματα:

Υποθυρεοειδισμός

Συγκεκριμένα για το νόσημα του υποθυρεοειδισμού, παρόλο που φάνηκε από τον **πίνακα 8.6** ότι υπάρχει μια διαφορά των τιμών IgA μεταξύ της παρουσίας του παράγοντα αυτού ($105,2 \pm 55,0$) και της απουσίας του ($82,7 \pm 61,4$), μέσω του στατιστικού test χ^2 , βρέθηκε ότι δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των 2 υποκατηγοριών. Συνεπώς, η ύπαρξη αυτού στα συγκεκριμένα δείγματα μητρικού γάλακτος, δεν επιδρά στην κατανομή των συγκεντρώσεων των IgA αντισωμάτων, διότι η τιμή p ήταν μεγαλύτερη από το επίπεδο σημαντικότητας 5% (0,5601).

Επιπλοκές

Αντιστοίχως, όσον αφορά στις επιπλοκές, παρόλο που φάνηκε από τον **πίνακα 8.6** ότι υπάρχει μια διαφορά των τιμών IgA μεταξύ της παρουσίας του παράγοντα αυτού ($94,1 \pm 65,5$) και της απουσίας του ($79,9 \pm 54,2$), μέσω του στατιστικού test χ^2 , υπολογίστηκε ότι δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των 2 υποκατηγοριών. Συνεπώς, η ύπαρξη αυτού στα συγκεκριμένα δείγματα μητρικού γάλακτος, δεν επιδρά στην κατανομή των συγκεντρώσεων των IgA αντισωμάτων, διότι η τιμή p ήταν μεγαλύτερη από το επίπεδο σημαντικότητας 5% (0,5776).

Θυρεοειδοπάθεια κύησης

Συγκεκριμένα για την επιπλοκή της θυρεοειδοπάθειας, φάνηκε ότι η παρουσία του παράγοντα αυτού ($107,7 \pm 71,1$) παρουσιάζει μια διαφορά των τιμών IgA σε σχέση με την απουσία του παράγοντα αυτού ($80,1 \pm 55,5$). Παρόλα αυτά, μέσω του στατιστικού τεστ χ^2 , υπολογίστηκε ότι δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ της παρουσίας και απουσίας των παραγόντων αυτών, δεδομένου ότι η τιμή p ήταν μεγαλύτερη από το 5% (0.6502), παρόλο που από τον **πίνακα 8.6** φάνηκε μια διαφορά μεταξύ τους.

Σακχαρώδης διαβήτης κύησης

Αντίθετα για τον σακχαρώδη διαβήτη κύησης, οι τιμές των IgA της παρουσίας του παράγοντα αυτού ($82,3 \pm 59,5$) δεν παρουσιάζουν μεγάλη διαφορά με την απουσία του ($86,9 \pm 60,2$). Συνεπώς, υπολογίστηκε ότι δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ της παρουσίας και απουσίας των παραγόντων αυτών, δεδομένου ότι η τιμή p ήταν μεγαλύτερη από το 5% (0.9137).

Κάπνισμα

Όσον αφορά στο κάπνισμα, παρόλο που φάνηκε από τον **πίνακα 8.6** ότι υπάρχει μια διαφορά των τιμών IgA μεταξύ των μητέρων που συνήθιζαν να καπνίζουν ($99,0 \pm 61,3$) και των μητέρων που δεν κάπνιζαν ($72,9 \pm 54,8$), μέσω του στατιστικού τεστ χ^2 , υπολογίστηκε ότι δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των 2 υποκατηγοριών. Συνεπώς, η ύπαρξη του παράγοντα κάπνισμα στα συγκεκριμένα δείγματα μητρικού γάλακτος, δεν επιδρά στην κατανομή των συγκεντρώσεων των IgA αντισωμάτων, διότι η τιμή p ήταν μεγαλύτερη από το επίπεδο σημαντικότητας 5% (0,3895).

Νόσος COVID-19

Ο παράγοντας αυτός φαίνεται ότι επηρεάζει τη διακύμανση των συγκεντρώσεων των IgA αντισωμάτων, δεδομένου ότι υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των τιμών IgA μεταξύ της παρουσίας και απουσίας της νόσου COVID-19, καθώς η τιμή p υπολογίστηκε κατά πολύ μικρότερη από το 5% ($6,21E-14$).

Το παραπάνω αποτέλεσμα σε συνδυασμό με τον **πίνακα 8.6** υποδηλώνει ότι οι τιμές των IgA αντισωμάτων είναι στατιστικά σημαντικά μεγαλύτερες στις μητέρες που είχαν νοσήσει από κορωνοϊό SARS-CoV-2 ($88,1 \pm 53,2$), σε αντίθεση με αυτές που δεν είχαν νοσήσει ($85,2 \pm 60,7$).

Εμβόλιο κατά του SARS-CoV-2

Σε αντίθεση με τη νόσο, το εμβόλιο κατά του SARS-CoV-2 φάνηκε ότι δεν έχει σημαντική επίδραση στη διακύμανση των συγκεντρώσεων των IgA αντισωμάτων καθώς η τιμή p υπολογίστηκε μεγαλύτερη από το 5% ($0,9271$), παρόλο που φάνηκε μια μικρή διαφορά των τιμών IgA από τον **πίνακα 8.6**, μεταξύ των μητέρων που είχαν εμβολιαστεί ($86,8 \pm 61,3$) και αυτών που ήταν ανεμβολίαστες ($85,8 \pm 51,9$). Επομένως, δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ της παρουσίας και απουσίας του παράγοντα αυτού.

8.2.2 Αναλύσεις διακύμανσης

Πέρα από την έρευνα και ανάλυση ποιοτικών δεδομένων που πραγματοποιήθηκε, απαραίτητη κρίθηκε και η ποσοτική ανάλυση για τα δεδομένα του ερωτηματολογίου που είναι ποσοτικά, όπως ο δείκτης μάζας σώματος (BMI), η ηλικία της μητέρας, ο αριθμός τόκων και η ημερομηνία πραγματοποίησης της 2ης δόσης του εμβολίου κατά του κορωνοϊού. Για αυτόν τον λόγο, πραγματοποιήθηκε ανάλυση διακύμανσης δύο παραγόντων χωρίς αλληλεπίδραση (ANOVA) για τους παραπάνω ποσοτικούς παράγοντες του ερωτηματολογίου, σε σχέση με την συγκέντρωση των IgA αντισωμάτων. Η ανάλυση αυτή έγινε με την βοήθεια των υπολογιστικών φύλλων Excel και έτσι προέκυψαν τα εξής αποτελέσματα:

8.9 Εφαρμογή ANOVA για το BMI

| ΑΝΑΛΥΣΗ ΔΙΑΚΥΜΑΝΣΗΣ (ANOVA) | | | | | | |
|-----------------------------|----------|-------------------|------------|---------|--------|------------|
| Προέλευση διακύμανσης | SS | βαθμοί ελευθερίας | MS | F | τιμή-P | κριτήριο F |
| Γραμμές | 83423,66 | 51 | 1635,7581 | 0,9091 | 0,6326 | 1,5920 |
| Στήλες | 88664,05 | 1 | 88664,0483 | 49,2742 | 0,0000 | 4,0304 |
| Σφάλμα | 91769,41 | 51 | 1799,4003 | | | |
| Σύνολο | 263857,1 | 103 | | | | |

Από τον παραπάνω πίνακα ANOVA, συμπεραίνουμε ότι η διαφορά BMI μεταξύ των μητέρων δεν επιδρά στην κατανομή των συγκεντρώσεων των IgA αντισωμάτων, διότι η τιμή p ήταν μεγαλύτερη από το 5% (0,6) και επιπλέον το $F(=0,9091)$ είναι μικρότερο από το στατιστικό F (1,592).

8.10 Εφαρμογή ANOVA για την ηλικία

| ΑΝΑΛΥΣΗ ΔΙΑΚΥΜΑΝΣΗΣ (ANOVA) | | | | | | |
|-----------------------------|----------|-------------------|------------|---------|--------|------------|
| Προέλευση διακύμανσης | SS | βαθμοί ελευθερίας | MS | F | τιμή-P | κριτήριο F |
| Γραμμές | 89554,3 | 52 | 1722,1982 | 0,9988 | 0,5018 | 1,5847 |
| Στήλες | 68187,06 | 1 | 68187,0559 | 39,5442 | 0,0000 | 4,0266 |
| Σφάλμα | 89664,95 | 52 | 1724,3259 | | | |
| Σύνολο | 247406,3 | 105 | | | | |

Αντίστοιχα, από την παραπάνω ανάλυση διακύμανσης (ANOVA), συμπεραίνουμε ότι ούτε η διαφορά ηλικίας μεταξύ των μητέρων επιδρά στην κατανομή των συγκεντρώσεων των IgA αντισωμάτων, διότι η τιμή p ήταν μεγαλύτερη από το 5% (0,5) και επιπλέον το $F(=0,999)$ είναι μικρότερο από το στατιστικό $F(1,582)$.

8.11 Εφαρμογή ANOVA για τον αριθμό τοκετών

| ΑΝΑΛΥΣΗ ΔΙΑΚΥΜΑΝΣΗΣ (ANOVA) | | | | | | |
|-----------------------------|----------|-------------------|-------------|----------|--------|------------|
| Προέλευση διακύμανσης | SS | βαθμοί ελευθερίας | MS | F | τιμή-P | κριτήριο F |
| Γραμμές | 89241,41 | 52 | 1716,1810 | 1,0067 | 0,4905 | 1,5847 |
| Στήλες | 188453,7 | 1 | 188453,6656 | 110,5412 | 0,0000 | 4,0266 |
| Σφάλμα | 88651,05 | 52 | 1704,8279 | | | |
| Σύνολο | 366346,1 | 105 | | | | |

Από την παραπάνω ανάλυση διακύμανσης (ANOVA), συμπεραίνουμε ότι ούτε η διαφορά στον αριθμό τοκετών μεταξύ των μητέρων επιδρά στην κατανομή των συγκεντρώσεων των IgA αντισωμάτων, διότι η τιμή p ήταν μεγαλύτερη από το 5% (0,5) και επιπλέον το $F(=1,007)$ είναι μικρότερο από το στατιστικό $F(1,585)$.

8.12 Εφαρμογή ANOVA για την 2η δόση εμβολίου

| ΑΝΑΛΥΣΗ ΔΙΑΚΥΜΑΝΣΗΣ (ANOVA) | | | | | | |
|-----------------------------|----------|-------------------|----------|---------|--------|------------|
| Προέλευση διακύμανσης | SS | βαθμοί ελευθερίας | MS | F | τιμή-P | κριτήριο F |
| Γραμμές | 65074,53 | 36 | 1807,626 | 0,9273 | 0,5890 | 1,7430 |
| Στήλες | 115782,8 | 1 | 115782,8 | 59,3928 | 0,0000 | 4,1132 |
| Σφάλμα | 70179,87 | 36 | 1949,441 | | | |
| Σύνολο | 251037,2 | 73 | | | | |

Από τον παραπάνω πίνακα ANOVA, συμπεραίνουμε ότι η διαφορά μεταξύ των ημερομηνιών για τη 2η δόση του εμβολίου, δεν επιδρά στην κατανομή των συγκεντρώσεων των IgA αντισωμάτων, διότι η τιμή p ήταν μεγαλύτερη από το 5% (0,6) και επιπλέον το $F(0,9273)$ είναι μικρότερο από το στατιστικό $F(1,7430)$.

9. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Συγκεντρωτικά, η συγκεκριμένη ερευνητική μελέτη έδειξε ότι δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των συγκεντρώσεων IgA και των ανθρωπομετρικών χαρακτηριστικών που μελετήθηκαν (BMI, ηλικία), του αριθμού τοκετών, των νοσημάτων (υποθυρεοειδισμός), των επιπλοκών (θυρεοειδοπάθεια, σακχαρώδης διαβήτης) και του εμβολίου κατά του κορωνοϊού SARS-CoV-2. Αντιθέτως, υπολογίστηκε ότι μεταξύ του παράγοντα νόσησης από SARS-CoV-2 και των συγκεντρώσεων IgA υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά και άρα η παρουσία ή η απουσία του, επηρεάζει τη διακύμανση των αντισωμάτων αυτών. Συγκεκριμένα, βρέθηκε ότι οι μητέρες που νόσησαν από την εν λόγω λοίμωξη του αναπνευστικού, παρουσίαζαν αυξημένα επίπεδα IgA αντισωμάτων.

Ωστόσο, η παρούσα έρευνα ενέχει ορισμένους περιορισμούς, καθώς ο αριθμός των δειγμάτων ήταν περιορισμένος (54) και η επαναληψιμότητα ήταν χαμηλή, δεδομένου ότι κάθε δείγμα αναλύθηκε μία φορά, λόγω περιορισμένου αριθμού βοθρίων. Ενδέχεται, επίσης, τα αποτελέσματα να περιέχουν τυχαία σφάλματα που πιθανόν να προέκυψαν κατά τη διεξαγωγή του πειράματος. Συνεπώς, λόγω του εκτενούς εύρους μεταβλητότητας των τιμών IgA υπάρχει μια επιφύλαξη κατά την αξιολόγηση της ακρίβειας των αποτελεσμάτων, καθιστώντας απαραίτητη την βιβλιογραφική ανασκόπηση.

Οι *Atsuko Kawano* και *Yoko Emori* το 2013, μέτρησαν τα επίπεδα εκκριτικού IgA (SIgA) στο ανθρώπινο γάλα 91 μητέρων μετά τον τοκετό, χρησιμοποιώντας τη μέθοδο ELISA, την ημέρα 3 μετά τον τοκετό και τις εβδομάδες 1, 2, 3, 4, 8 και 12. Σημειώθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά στη συγκέντρωση SIgA μεταξύ πρωτότοκων και πολύτεκνων μητέρων, κατά τις τρεις πρώτες μέρες μετά τον τοκετό, με τις πρώτες να υπερσχύουν σε SIgA. Έπειτα από το διάστημα αυτό δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφοροποιήσεις μεταξύ πρωτότοκων και πολύτεκνων μητέρων. Επιπλέον, υπολόγισαν ότι η συγκέντρωση SIgA μειώθηκε σταδιακά κατά την περίοδο των 12

εβδομάδων, με το υψηλότερο επίπεδο να καταγράφεται την ημέρα 3. Την εβδομάδα 4, τα επίπεδα SIgA μειώθηκαν στο μισό των αρχικών επιπέδων. Αν και η διαφορά στη συγκέντρωση από τη μία εβδομάδα στην άλλη ήταν αξιοσημείωτη, η μείωση της συγκέντρωσης ήταν ταχεία τις πρώτες 4 εβδομάδες αλλά σταδιακά από την εβδομάδα 4 έως την εβδομάδα 12.

Το 2012 οι *Pamela Bachour et al.*, πραγματοποίησαν ένα πείραμα, στο οποίο εξέτασαν δείγματα γάλακτος μεταβατικού και ώριμου γάλακτος από 23 μητέρες που θηλάζουν και είναι καπνίστριες και 43 θηλάζουσες μη καπνίστριες μητέρες. Προσδιορίστηκαν οι συγκεντρώσεις πρωτεϊνών, λιπιδίων και SIgA καθώς και η πυκνότητα του γάλακτος και το γενικό προφίλ πρωτεΐνης. Οι 2 αυτές ομάδες των μητέρων συγκρίθηκαν για διαφορές στη μέση τιμή της ηλικίας, του δείκτη μάζας σώματος (BMI) και του σταδίου γαλουχίας. Η ανάλυση δεν αποκάλυψε στατιστικά σημαντικές διαφορές στον μέσο όρο μεταξύ των δύο ομάδων για όλες τις παραπάνω μεταβλητές που αναλύθηκαν. Ωστόσο, φανέρωσε μια μείωση στην περιεκτικότητα σε SIgA στο γάλα καπνιστριών, αλλά βρέθηκε ότι δεν είναι στατιστικά σημαντική, πιθανώς λόγω του εκτενούς εύρους μεταβλητότητας του SIgA μεταξύ των δειγμάτων σε κάθε ομάδα. Αντίθετα, μελέτη των *Maureen Groer et al* έδειξε πως καπνίστριες μητέρες είχαν υψηλότερα επίπεδα SIgA γάλακτος από τις μη καπνίστριες, γεγονός που θα μπορούσε εν μέρει να οφείλεται σε υψηλότερα ποσοστά λοίμωξης του αναπνευστικού στις μητέρες που καπνίζουν.

Σε μελέτη των *M. Ryan Pace et al.*, το 2020 συλλέχθηκαν 37 δείγματα γάλακτος από 18 γυναίκες που διαγνώστηκαν πρόσφατα με COVID-19. Το γάλα αναλύθηκε για IgA και IgG χρησιμοποιώντας ELISA. Όλα τα δείγματα γάλακτος περιείχαν IgA και IgG ειδικά για τον SARS-CoV-2 και σημειώθηκαν ισχυρές συσχετίσεις μεταξύ των επιπέδων IgA και IgG με SARS-CoV-2. Μια επιπλέον έρευνα των *Hai-qiong Yu et al*, έδειξε πως υπάρχει μία σημαντική θετική συσχέτιση μεταξύ των επιπέδων των ειδικά για SARS-CoV-2 IgA και των αποτελεσμάτων σε βαρέως πάσχοντες ασθενείς με COVID-19.

Το 2021 οι *Lisa Burry, et al.*, απέδειξαν ότι υπάρχουν αντισώματα ειδικής δέσμευσης και εξουδετέρωσης του SARS-CoV-2 στο μητρικό γάλα μετά τον μητρικό εμβολιασμό, ότι τα επίπεδα IgA αυξάνονται γρήγορα, καθώς και ότι οι συγκεντρώσεις αντισωμάτων του μητρικού γάλακτος ήταν σημαντικά χαμηλότερες από ό,τι στον μητρικό ορό. Ακόμη μια μελέτη των *Sivan Haia Perl et al* υποστηρίζει την γρήγορη αύξηση των επιπέδων αντισωμάτων IgA, ειδικών για τον SARS-CoV-2 στο μητρικό γάλα. στην οποία, αποδείχθηκε ότι ο μέσος όρος των αντισωμάτων αυτών ήταν σημαντικά αυξημένος 2 εβδομάδες μετά το πρώτο εμβόλιο, καθώς το 61,8% των δειγμάτων βρέθηκαν θετικά, ενώ αυξήθηκε στο 86,1% την τέταρτη εβδομάδα. Επιπλέον, απέδειξαν ότι τα επίπεδα αντισωμάτων IgA των συμμετεχόντων μετά την πρώτη δόση του εμβολίου ήταν συγκρίσιμα με αυτά που παρατηρήθηκαν σε συμμετέχοντες με μόλυνση.

Είναι σημαντικό να αναφερθεί ότι τα IgA είναι αντισώματα που πρωτίστως αυξομειώνονται στην παρουσία λοιμώξεων και για τον λόγο αυτό δεν μπορεί να γίνει άμεση σύγκριση μεταξύ των βιβλιογραφικών τιμών και των αποτελεσμάτων που υπολογίστηκαν στην παρούσα έρευνα, παρά μόνο προσεγγιστικά. Συνεπώς, τα αποτελέσματα δεν πρέπει να ερμηνεύονται ως το αριθμητικό αποτέλεσμα μιας μεμονωμένης ανάλυσης, αλλά σε σχέση με το ατομικό, οικογενειακό ιστορικό και τα κλινικά ευρήματα.

Επιπλέον, όσες πληροφορίες αφορούν τη νόσο του κορωνοϊού SARS-CoV-2 και το εμβόλιο κατά αυτής, δεν μπορεί να είναι απόλυτες, καθώς η πανδημία αυτή είναι μια δυναμική κατάσταση και τα δεδομένα μεταβάλλονται διαρκώς. Ακόμη, το γεγονός ότι βρέθηκε συσχέτιση με τη νόσο COVID-19 και όχι με το εμβόλιο κατά αυτής μπορεί να οφείλεται στην ημερομηνία διεξαγωγής του εμβολίου. Πράγματι, ο μέσος όρος των εβδομάδων που είχαν περάσει από την 2η δόση του εμβολίου στις μητέρες που εξετάσαμε, ήταν 10. Συνεπώς, ενδέχεται να είχαν μειωμένα αντισώματα λόγω αυτού, αφού, με βάση τη βιβλιογραφία, τα IgA αντισώματα παραμένουν αυξημένα μέχρι και 6 εβδομάδες μετά τη 2η δόση.

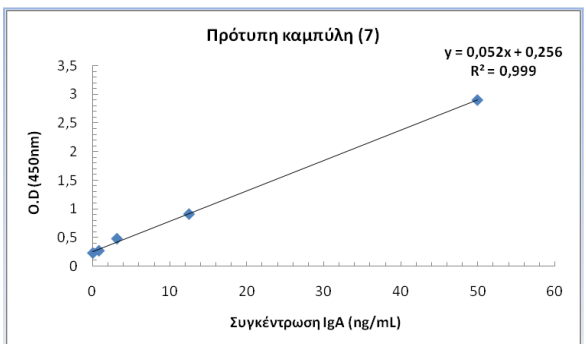
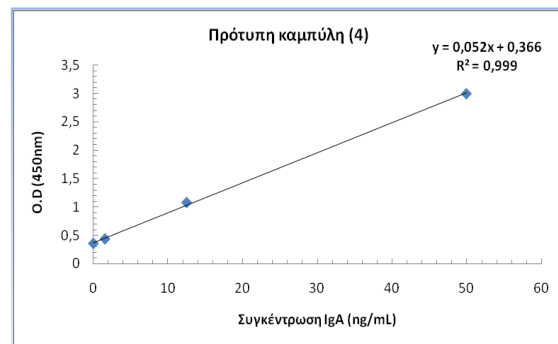
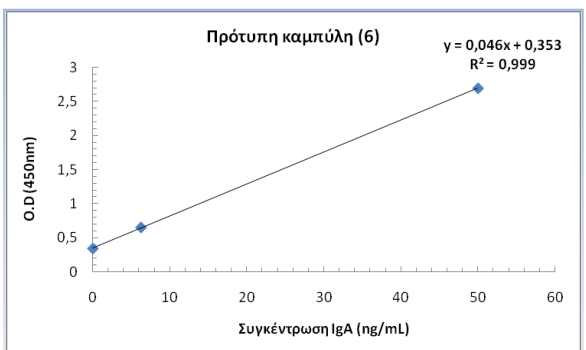
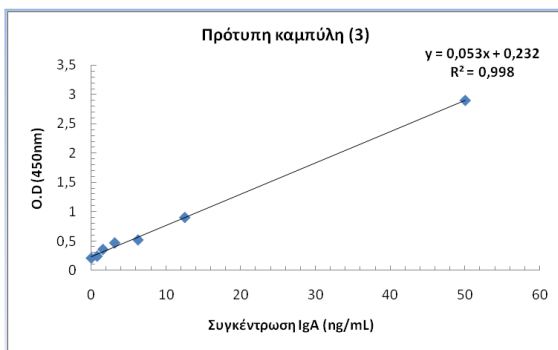
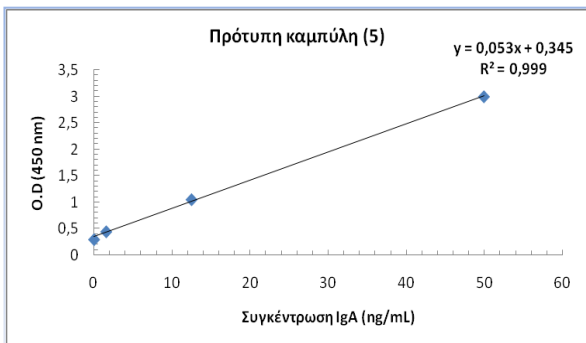
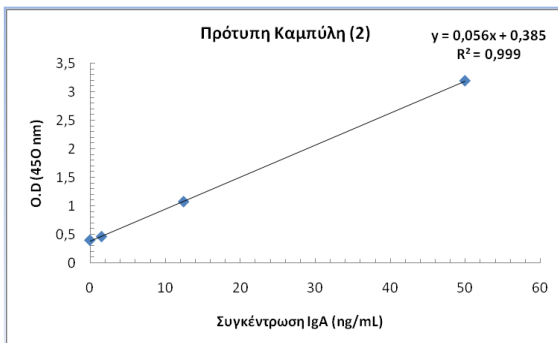
Συμπερασματικά, έπειτα από την αξιολόγηση των αποτελεσμάτων της παρούσας εργασίας, αλλά και της ανασκόπησης των βιβλιογραφικών δεδομένων, καταλήγουμε στο συμπέρασμα ότι η συγκέντρωση των IgA αντισωμάτων του μητρικού γάλακτος επηρεάζεται κυρίως από την κατάσταση της μητρικής ανοσίας, όπως αυτή που αποκτά έπειτα από τη νόσηση από τον κορωνοϊό SARS-CoV-2, αλλά αρκετές άλλες μεταβλητές ενδέχεται να την επηρεάσουν.

Λόγω των ανωτέρω διαπιστώσεων, περαιτέρω έρευνα θα πρέπει να επικεντρωθεί σε εξατομικευμένες επιμορφωτικές παρεμβάσεις τόσο σε υγιείς όσο και σε πάσχουσες μητέρες από διάφορες χρόνιες ή άλλες ασθένειες, ακόμη και σε μητέρες με καθημερινές ανθυγιεινές συνήθειες (κάπνισμα, αλκοόλ). Η μεταφορά εξειδικευμένων IgA αντισωμάτων μέσω του μητρικού γάλακτος, κατά την διάρκεια των πρώτων 6 μηνών αποκλειστικού θηλασμού, χρήζει περαιτέρω επιστημονικής έρευνας, διότι μένει να αποδειχθεί η άμεση συσχέτιση λοιμώξεων, επιπλοκών, νοσημάτων και ανθυγιεινών συνηθειών της μητέρας με την μεταφορά ενισχυμένης ή εξασθενημένης ανοσίας στο νεογνό, μέσω των αντισωμάτων αυτών. Με αυτόν τον τρόπο, η παρουσία υψηλότερων ποσοτήτων ανοσοσφαιρινών και συγκεκριμένα των IgA, θα μπορούσε να προτείνει καλύτερη προστασία έναντι διαφόρων ασθενειών, όπως λοιμώξεις και διαταραχές του γαστρεντερικού σωλήνα, δυσασπορρόφηση, δυσανεξία στη λακτόζη, κοιλιοκάκη, ελκώδης κολίτιδα, οζώδης λεμφοειδής υπερπλασία, αλλεργικές διαταραχές, κακοήθης πολλαπλασιασμός και φλεγμονώδεις ασθένειες του εντέρου.

Αυτή η μελέτη παρέχει μια σημαντική ευκαιρία να εξελίξουμε τις γνώσεις μας για την εξασφάλιση ανοσίας από λοιμώξεις, όπως ο COVID-19, στο νεογνό κατά τους πρώτους μήνες ζωής του, είτε μέσω ανάπτυξης IgA αντισωμάτων των μητέρων λόγω νόσησης είτε λόγω εμβολιασμού τους. Τέλος, η πλήρης κατανόηση της επίδρασης της υγείας της μητέρας στο ανοσοποιητικό του νεογνού τόσο κατά την εγκυμοσύνη, όσο και κατά τον θηλασμό, θα ανοίξει νέα κεφάλαια έρευνας σχετικά με τις ενδεχόμενες προληπτικές ιδιότητες του ανθρώπινου γάλακτος σε ήπιας ή βαριάς μορφής ασθένειας.

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑΤΑ

Παράρτημα Α : Πρότυπες καμπύλες IgA αντισωμάτων στο μητρικό γάλα



- εικ.1:** 12 δείγματα μητρικού γάλακτος, 4 πρότυπα με συγκεντρώσεις: 0, 1,56, 12,5, 50 ng/mL
- εικ.2:** 9 δείγματα, 7 πρότυπα με συγκεντρώσεις: 0, 0,78, 1,56, 3,13, 6,25, 12,5 και 50 ng/mL,
- εικ.3:** 4 δείγματα μητρικού γάλακτος, 4 πρότυπα με συγκεντρώσεις: 0, 1,56, 12,5 και 50 ng/mL,
- εικ. 4:** 4 δείγματα μητρικού, 4 πρότυπα με συγκεντρώσεις: 0, 1,56, 12,5 και 50 ng/mL,
- εικ. 5:** 5 δείγματα μητρικού γάλακτος, 3 πρότυπα με συγκεντρώσεις: 0, 6,25 και 50 ng/mL,
- εικ. 6:** 11 δείγματα μητρικού, 5 πρότυπα με συγκεντρώσεις: 0, 0,78, 3,13, 12,5 και 50 ng/mL.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Ελληνική βιβλιογραφία

Ζάχου, Θέμις. "Μητρικός θηλασμός, Νεογνολογία, Χ." *Κώσταλος, Τόμος Α΄* (1996) σελ: 217-236.

Καλλιόπη Γ., Δριτσάκου "Η επίδραση του μητρικού γάλακτος και της τεχνητής εντερικής σίτισης σε πρόωρα νεογνά που νοσηλεύονται σε μονάδα εντατικής θεραπείας". Doctoral dissertation, Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο. Τμήμα Επιστήμης Διαιτολογίας-Διατροφής (2017)

Ξενόγλωσση βιβλιογραφία

Adkins, Becky, Claude Leclerc, and Stuart Marshall-Clarke. "Neonatal adaptive immunity comes of age." *Nature Reviews Immunology* 4.7 (2004): 553-564.

Albrecht, Marie, and Petra Clara Arck. "Vertically transferred immunity in neonates: mothers, mechanisms and mediators." *Frontiers in Immunology* 11 (2020): 555.

Andreas, Nicholas J., Beate Kampmann, and Kirsty Mehning Le-Doare. "Human breast milk: A review on its composition and bioactivity." *Early human development* 91.11 (2015): 629-635.

Atyeo, Caroline, et al. "COVID-19 mRNA vaccines drive differential antibody Fc-functional profiles in pregnant, lactating, and nonpregnant women." *Science Translational Medicine* 13.617 (2021): eabi8631.

Bachour, Pamela, et al. "Effects of smoking, mother's age, body mass index, and parity number on lipid, protein, and secretory immunoglobulin A concentrations of human milk." *Breastfeeding Medicine* 7.3 (2012): 179-188.

Ballard, Olivia, and Ardythe L. Morrow. "Human milk composition: nutrients and bioactive factors." *Pediatric Clinics* 60.1 (2013): 49-74.

Beavis, Kathleen G., et al. "Evaluation of the EUROIMMUN Anti-SARS-CoV-2 ELISA Assay for detection of IgA and IgG antibodies." *Journal of Clinical Virology* 129 (2020): 104468.

Boudry, Gaëlle, et al. "Role of intestinal transporters in neonatal nutrition: carbohydrates, proteins, lipids, minerals, and vitamins." *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition* 51.4 (2010): 380-401.

Brandtzaeg, Per. "The mucosal immune system and its integration with the mammary glands." *The Journal of pediatrics* 156.2 (2010): S8-S15.

Bzikowska-Jura, Agnieszka, et al. "Maternal nutrition and body composition during breastfeeding: association with human milk composition." *Nutrients* 10.10 (2018): 1379.

Cacho, Nicole Theresa, and Robert M. Lawrence. "Innate immunity and breast milk." *Frontiers in immunology* 8 (2017): 584.

Chen, Lingli, et al. "Alteration of the colostrum whey proteome in mothers with gestational hypothyroidism." *Plos one* 13.10 (2018): e0205987.

Delves, Peter J., and Ivan M. Roitt. "The immune system." *New England journal of medicine* 343.1 (2000): 37-49.

Demers-Mathieu, Veronique, et al. "Comparison of human milk immunoglobulin survival during gastric digestion between preterm and term infants." *Nutrients* 10.5 (2018): 631.

Demmelair, Hans, and Berthold Koletzko. "Lipids in human milk." *Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism* 32.1 (2018): 57-68.

Dogaru, Cristian M., et al. "Breastfeeding and childhood asthma: systematic review and meta-analysis." *American journal of epidemiology* 179.10 (2014): 1153-1167.

Donovan, Sharon M. "Human milk proteins: composition and physiological significance." *Human milk: composition, clinical benefits and future opportunities* 90 (2019): 93-101.

França, Eduardo Luzía, et al. "Transfer of maternal immunity to newborns of diabetic mothers." *Clinical and Developmental Immunology* 2012 (2012).

Garwolińska, Dorota, et al. "Chemistry of human breast milk—A comprehensive review of the composition and role of milk metabolites in child development." *Journal of agricultural and food chemistry* 66.45 (2018): 11881-11896.

Gridneva, Zoya, et al. "Carbohydrates in human milk and body composition of term infants during the first 12 months of lactation." *Nutrients* 11.7 (2019): 1472.

Haneberg, B. "Immunoglobulins in feces from infants fed human or bovine milk." *Scandinavian Journal of Immunology* 3.2 (1974): 191-197.

Hanson, L. Å. "The mother-offspring dyad and the immune system." *Acta paediatrica* 89.3 (2000): 252-258.

Hanson, L. A., Marina Korotkova, and Esbjörn Telemo. "Human milk: Its components and their immunobiologic functions." *Mucosal Immunology* (2005): 1795-1827.

Hanson, Lars A., and Jan Winberg. "Breast milk and defence against infection in the newborn." *Archives of Disease in Childhood* 47.256 (1972): 845.

Hanson, Lars Å., and Marina Korotkova. "The role of breastfeeding in prevention of neonatal infection." *Seminars in neonatology*. Vol. 7. No. 4. WB Saunders, 2002.

Hanson, Lars Å., et al. "The transfer of immunity from mother to child." *Annals of the New York Academy of Sciences* 987.1 (2003): 199-206.

Haschke, Ferdinand, Nadja Haiden, and Sagar K. Thakkar. "Nutritive and bioactive proteins in breastmilk." *Annals of Nutrition and Metabolism* 69.Suppl. 2 (2016): 16-26.

Håversen, L. A., et al. "Anti-inflammatory activities of human lactoferrin in acute dextran sulphate-induced colitis in mice." *Scandinavian journal of immunology* 57.1 (2003): 2-10.

Howie, Peter W., et al. "Protective effect of breast feeding against infection." *British medical journal* 300.6716 (1990): 11-16.

- Jenness, Robert. "The composition of human milk." *Seminars in perinatology*. Vol. 3. No. 3. 1979.
- Kaingade, Pankaj, et al. "Breast milk cell components and its beneficial effects on neonates: need for breast milk cell banking." *Journal of Pediatric and Neonatal Individualized Medicine (JPNIM)* 6.1 (2017): e060115-e060115.
- Kang, Liane J., et al. "Maternal depressive symptoms linked to reduced fecal Immunoglobulin A concentrations in infants." *Brain, Behavior, and Immunity* 68 (2018): 123-131.
- Kaplan, Davut Sinan, et al. "Colostrum immunoglobulins and oxidative capacity may be affected by infant sex and maternal age and parity." *Turkish Journal of Medical Sciences* 49.1 (2019): 87-92.
- Kaplan, Davut Sinan. "İlk gün kolostrumunda immünglobulin a, immünglobulin M düzeyleri ve oksidatif kapasitelerin annenin yaşı, doğum sayısı, bebek cinsiyeti ile ilişkisinin araştırılması." (2013).
- Kawano, Atsuko, and Yoko Emori. "Changes in maternal secretory immunoglobulin a levels in human milk during 12 weeks after parturition." *American Journal of Human Biology* 25.3 (2013): 399-403.
- Kennedy, David O. "B vitamins and the brain: mechanisms, dose and efficacy—a review." *Nutrients* 8.2 (2016): 68.
- Larry C. Daniels, et al. "Preliminary study of how alcohol consumption during pregnancy affects immune components in breast milk and blood of postpartum women." *Alcohol and alcoholism* 32.5 (1997): 581-589.
- Lawrence, Robert M., and Ruth A. Lawrence. "Breast milk and infection." *Clinics in perinatology* 31.3 (2004): 501-528.
- Le Doare, Kirsty, et al. "Mother's milk: a purposeful contribution to the development of the infant microbiota and immunity." *Frontiers in Immunology* 9 (2018): 361.
- Lewis, Zachery T., et al. "Maternal fucosyltransferase 2 status affects the gut bifidobacterial communities of breastfed infants." *Microbiome* 3.1 (2015): 1-21.
- Lisa Burry, et al. "Role of maternal COVID-19 vaccination in providing immunological protection to the newborn." *Pharmacotherapy: The Journal of Human Pharmacology and Drug Therapy* (2021).
- Lönnerdal, Bo. "Bioactive proteins in breast milk." *Journal of paediatrics and child health* 49 (2013): 1-7.
- Lönnerdal, Bo. "Nutritional and physiologic significance of human milk proteins." *The American journal of clinical nutrition* 77.6 (2003): 1537S-1543S.
- Luque, Veronica, et al. "Early programming by protein intake: the effect of protein on adiposity development and the growth and functionality of vital organs." *Nutrition and metabolic insights* 8 (2015): NMI-S29525.
- Macpherson, A. J., et al. "The immune geography of IgA induction and function." *Mucosal immunology* 1.1 (2008): 11-22.
- Martin, Camilia R., Pei-Ra Ling, and George L. Blackburn. "Review of infant feeding: key features of breast milk and infant formula." *Nutrients* 8.5 (2016): 279.

Meng, Xuanyi, et al. "The profile of human milk metabolome, cytokines, and antibodies in inflammatory bowel diseases versus healthy mothers, and potential impact on the newborn." *Journal of Crohn's and Colitis* 13.4 (2019): 431-441.

Nadaf, Maria Isabel Valdomir, et al. "Passive acquisition of anti-Staphylococcus aureus antibodies by newborns via transplacental transfer and breastfeeding, regardless of maternal colonization." *Clinics* 71 (2016): 687-694.

Newburg, David S., and W. Allan Walker. "Protection of the neonate by the innate immune system of developing gut and of human milk." *Pediatric research* 61.1 (2007): 2-8.

Nikniaz, Leila, et al. "Effects of synbiotic supplementation on breast milk levels of IgA, TGF- β 1, and TGF- β 2." *Journal of Human Lactation* 29.4 (2013): 591-596.

Ogra, Pearay L., David K. Rassin, and Roberto P. Garofalo. "Human milk." *Infectious diseases of the fetus and newborn infant* (2006): 211.

Palmeira, Patricia, and Magda Carneiro-Sampaio. "Immunology of breast milk." *Revista da Associação Médica Brasileira* 62 (2016): 584-593.

Palmeira, Patricia, et al. "Transfer of antibodies across the placenta and in breast milk from mothers on intravenous immunoglobulin." *Pediatric Allergy and Immunology* 20.6 (2009): 528-535.

Parkin, Jacqueline, and Bryony Cohen. "An overview of the immune system." *The Lancet* 357.9270 (2001): 1777-1789.

Perl, Sivan Haia, et al. "SARS-CoV-2-specific antibodies in breast milk after COVID-19 vaccination of breastfeeding women." *Jama* 325.19 (2021): 2013-2014.

Ramiro-Cortijo, David, et al. "Breast milk lipids and fatty acids in regulating neonatal intestinal development and protecting against intestinal injury." *Nutrients* 12.2 (2020): 534.

Romeu-Nadal, M., et al. "Rapid high-performance liquid chromatographic method for Vitamin C determination in human milk versus an enzymatic method." *Journal of Chromatography B* 830.1 (2006): 41-46.

Skaug, Kjell, et al. "HLAMYDIAL SECRETORY IgA ANTIBODIES IN HUMAN MILK." *Acta Pathologica Microbiologica Scandinavica Series C: Immunology* 90.1-6 (1982): 21-25.

Snoeck, Veerle, Iain R. Peters, and Eric Cox. "The IgA system: a comparison of structure and function in different species." *Veterinary research* 37.3 (2006): 455-467.

Uren, Tania K., et al. "Vaccine-induced protection against gastrointestinal bacterial infections in the absence of secretory antibodies." *European journal of immunology* 35.1 (2005): 180-188.

Weaver, Lawrence T., et al. "Human milk IgA concentrations during the first year of lactation." *Archives of disease in childhood* 78.3 (1998): 235-239.

Wold, Agnes E., and Lars Å. Hanson. "Defense factors in human milk." *Current Opinion in Gastroenterology* 10.6 (1994): 652-658.

Yel, Leman. "Selective IgA deficiency." *Journal of clinical immunology* 30.1 (2010): 10-16.

Yu, Hai-qiong, et al. "Distinct features of SARS-CoV-2-specific IgA response in COVID-19 patients." *European Respiratory Journal* 56.2 (2020).

Διαδίκτυο

https://repository.kallipos.gr/bitstream/11419/3674/1/02_chapter_8.pdf

<https://link.springer.com/protocol/10.1385%2F0-89603-062-8%3A317>

<https://www.abcam.com/human-iga-elisa-kit-ab196263.html>

http://www.peramed.com/peramed/docs/ZK010.R_EN.pdf