

©Borgis

Ewa Kamińska-El-Hassan¹, Agnieszka Mikulska¹, Joanna Wójtowicz², *Małgorzata Witkowska-Zimny¹

Komponenty komórkowe mleka kobiecego

Cellular components of human breastmilk

¹Zakład Biofizyki i Fizjologii Człowieka, Wydział Nauki o Zdrowiu, Warszawski Uniwersytet Medyczny

Kierownik Zakładu: prof. dr hab. med. Jacek Przybylski

²Klinika Pediatrii, Centrum Medyczne Kształcenia Podyplomowego, Warszawa

Kierownik Kliniki: dr hab. med. Teresa Jackowska, prof. nadzw. CMKP

Słowa kluczowe

mleko kobiece, komórki macierzyste, leukocyty, mikrobiom, bakterie probiotyczne

Keywords

human breastmilk, stem cells, leukocytes, microbiom, probiotic bacteria

Konflikt interesów

Conflict of interest

Brak konfliktu interesów
None

Adres/address:

*Małgorzata Witkowska-Zimny
Zakład Biofizyki i Fizjologii Człowieka
Wydział Nauki o Zdrowiu
Warszawski Uniwersytet Medyczny
ul. Chałubińskiego 5, 02-004 Warszawa
tel. +48 (22) 628-63-34
fax +48 (22) 628-78-46
mwitkowska@wum.edu.pl

WSTĘP

Mleko kobiece jest najlepszym pokarmem dla dziecka w początkowym etapie jego rozwoju. Podstawowe substraty, takie jak: białka, lipidy, węglowodany, witaminy i minerały, zostały przebadane i uznane za najbardziej optymalne pod względem rodzaju, składu, ilości i niezbędnych właściwości do wzrostu

Streszczenie

Mleko ludzkie stanowi optymalne źródło składników odżywczych i substancji aktywnie czynnych dla noworodka. Przez wiele lat mleko kobiece było traktowane i badane głównie pod względem wartości odżywczej, stąd dostępne są liczne analizy jego kaloryczności, jak również analizy składu białkowego, węglowodanowego, lipidowego, mineralnego oraz komórek odpornościowych i związków zwiększających bierną i czynną ochronę noworodka. Obecność w mleku komórek matki innych niż immunologiczne, takich jak komórki progenitorowe wraz z komórkami macierzystymi oraz bakterie symbiotyczne, otwiera naszą wiedzę na zupełnie nowe znaczenie karmienia naturalnego. Mleko kobiece zawiera heterogenną populację komórek obejmującą: leukocyty, komórki nabłonka w różnych stadiach rozwojowych, komórki macierzyste i progenitorowe. Co istotne, może być ono łatwo dostępnym, nieinwazyjnym, niebudzącym zastrzeżeń etycznych źródłem tych komórek, które mogą być pozyskiwane do wykorzystania w terapii komórkowej.

Obecność w mleku komórek matki innych niż immunologiczne, takich jak komórki progenitorowe wraz z komórkami macierzystymi oraz bakterie symbiotyczne, niewątpliwie odgrywa istotną rolę w rozwoju niemowlęcia, ale także otwiera naszą wiedzę na zupełnie nowe znaczenie karmienia naturalnego.

W bazach danych znajdują się nieliczne prace związane z analizą składu komórkowego mleka. Prezentowany artykuł podsumowuje aktualny stan wiedzy o komórkowych elementach mleka kobiecego.

Summary

Human breast milk is considered as the optimal nutrition for infants, providing essential nutrients and a variety of bioactive compounds. Less attention has been paid to the other components of breast milk, such as mother cells and bacteria. Recent breakthroughs confirm that breastmilk cellular composition is more heterogeneous than previously thought and that even stem cell are present. The presence of progenitors/stem cells in human milk generates numerous question and implication for breastfeeding, newborn and maternal health, but also opens a new perspective of future potential applications of these cells in regenerative medicine. Furthermore, breastmilk is also a source of commensal and beneficial bacteria, including lactic acid bacteria and bifidobacteria. Microbiome is presumed to colonize the infant gastrointestinal tract and for sure have therefore still unknown influence on infants health. This review summarizes the current knowledge of cells present in human breastmilk, such as leukocytes, epithelial cells, stem cells and also potential probiotic bacteria.

niemowlęcia, stanowiąc tym samym wzorzec składu pokarmu zastępczego. Właściwości odżywcze mleka kobiecego są znane od setek lat, ale obecnie pokarm kobiecy jest traktowany jako istotny lek w wielu zastosowaniach klinicznych. Jest to niewątpliwie związane z obecnością elementów komórkowych, które decydują o jego unikatowych właściwościach.

Przez niektórych autorów mleko ludzkie jest uznawane za biologicznie czynną, żywą tkankę (1, 2). Istnienie różnorodnych komórek matki w mleku ludzkim: leukocytów, komórek nabłonka w różnych stadiach rozwojowych, komórek macierzystych, progenitorowych oraz bakterii probiotycznych, wyznacza nowy kierunek badań nad laktacją i otwiera perspektywy dla nowych zastosowań mleka ludzkiego.

Całkowita zawartość komórek w mleku kobiecym jest największa w pierwszych dniach laktacji. Liczebność poszczególnych populacji komórek nie jest jednakowa i zależy od wielu czynników, w tym między innymi: okresu laktacji, stanu zdrowia matki, jej diety oraz predyspozycji genetycznych.

Bakterie symbiotyczne zasiedlające przewód pokarmowy oprócz kształtowania prawidłowej flory jelitowej są także pierwszymi antygenami stymulującymi fizjologiczne dojrzewanie układu immunologicznego. W niniejszej pracy zostaną omówione najważniejsze komponenty komórkowe ludzkiego mleka, mające znaczenie dla jego potencjalnego zastosowania terapeutycznego.

KOMÓRKI UKŁADU IMMUNOLOGICZNEGO W MLEKU KOBIECYM

Zawartość i funkcja immunoprotekcyjna komórek układu immunologicznego w mleku matki jest od wielu lat dobrze znana i intensywnie badana z uwzględnieniem zmian ilościowych uzależnionych od okresu laktacji, stanu zdrowia matki i innych czynników, przy czym najbogatsze w czynniki protekcyjne jest *colostrum* (siara). Komórki odpornościowe, takie jak limfocyty T i limfocyty B, makrofagi i neutrofile, a także przeciwciała, zwłaszcza wydzielnicza immunoglobulina A (slgA), odpowiadają za odporność bierną noworodka. Ponadto, inne czynniki immunomodulujące, takie jak czynniki wzrostu, cytokiny, chemokiny, oligosacharydy, mucyny, lizozymy (LY), laktoferyna (LA), laktoperoksydaza (LCP), polipeptyd bogaty w prolinę, wpływają korzystnie na niedojrzały układ odpornościowy noworodka, wzmacniają jego mechanizmy obronne oraz stymulują jego rozwój (3-5). Jednak badania Trend i wsp. wykazały, że leukocyty nie są najliczniejszą grupą komórek, jak dotąd sądzono. Wyniki z wykorzystaniem wielokolorowej cytometrii przepływowej dowodzą, że komórki te stanowią do 20% elementów komórkowych siary (6, 7). Zawartość leukocytów w sianie może osiągać 1×10^9 komórek/ml. Około 80% z nich stanowią makrofagi, które pochodzą z krwi matki, przedostając się przez gruczoł nabłonka. W wyniku działania IL-4 oraz stymulacji przez sfagocytowane składniki mleka, mają one zdolność przekształcania się w komórki dendrytyczne, zdolne do pobudzania limfocytów Th i Tc noworodka. Dzięki temu możliwa jest skuteczna ochrona przed patogenami i wspomaganie rozwoju niedojrzałego jeszcze układu odpornościowego dziecka (3, 4, 8-10). Leukocyty obecne w mleku po dostaniu się do układu pokarmowego dziecka przenikają barierę jelitową. Badania na modelu mysim wy-

kazały obecność leukocytów pochodzących z mleka w wątrobie oseska w 5. i 6. dniu po porodzie (5, 11). W kolejnych tygodniach laktacji zawartość leukocytów znacząco spada, osiągając średnio 0-2% wszystkich komórek mleka. Różnica w zawartości leukocytów w mleku przejściowym i dojrzłym zdrowych kobiet nie jest znacząca (7).

Makrofagi zawarte w sianie mają zdolność fagocytozy bez wcześniejszej opsonizacji, zawierają receptory dla laktoferyny i wydzielniczej IgA (slgA). Ponadto zawierają wewnątrzkomórkową slgA, która stanowi około 5-10% całkowitej slgA mleka i może zostać uwolniona po stymulacji błony komórkowej makrofaga. Makrofagi są źródłem prostaglandyn, uwalniają cytokiny, lizozym, laktoferynę, interleukiny (IL-1, IL-6) oraz czynnik martwicy nowotworów (TNF). Wykazują spontaniczną sekrecję IL-8, która działając na nie autokrynnie, dodatkowo nasila ich zdolność do fagocytozy i niszczenia patogenów. Monocyty zawarte w ludzkim mleku posiadają też funkcje komórek prezentujących antygeny, dzięki czemu odgrywają rolę w aktywacji limfocytów T (4).

Limfocyty zawarte w mleku kobiecym składają się w około 80% z komórek T i w około 20-25% z komórek B (8, 12). Badania wskazują na pochodzenie limfocytów z prekursorów wytwarzanych w kępkach Peyera i grudkach limfatycznych tkanki limfatycznej wiązanej z jelitami (ang. *gut associated lymphoid tissue* – GALT) oraz oskrzelami (ang. *bronchus associated lymphoid tissue* – BAL) (4, 13). Cytotoksyczna odpowiedź limfocytów zawartych w mleku jest niska. Komórki B ulegają w gruczole piersiowym końcowemu różnicowaniu w komórki plazmatyczne wydzielające IgA. Pomocne w tym procesie są zawarte w sianie: czynnik pomocniczy (alfa-HF) oraz komórki T i ich cytokiny, które stymulują komórki B do dojrzewania w komórki plazmatyczne wydzielające IgA (14).

Wszystkie komórki immunologiczne wchodzić we wzajemną sieć interakcji, by w efekcie bezpośrednio i pośrednio podnosić zdolność immunologiczną dziecka do ochrony przed zakażeniami, a także przyczyniać się do dojrzewania jego układu immunologicznego (15).

Wpływ infekcji u matki lub dziecka na zawartość komórek immunologicznych w mleku kobiecym

Badania sugerują, że na zawartość składników immunologicznych w mleku ma wpływ nie tylko stan zdrowia matki, ale także karmionego przez nią noworodka (16).

W czasie infekcji matki lub dziecka istotnie wzrasta zawartość niektórych składników immunologicznych, w tym leukocytów, makrofagów czy czynnika martwicy TNF α (9, 15). Odsetek leukocytów może osiągnąć nawet 94% wszystkich komórek. Po infekcji liczba leukocytów obniża się do wartości standardowych dla danego okresu laktacji. Sugeruje to możliwość wykorzystania badania składu komórkowego mleka kobiecego jako dodatkowego narzędzia do oceny stanu zdrowia kobiety lub karmionego noworodka (9, 17).

Wpływ czasu trwania ciąży na zawartość leukocytów w mleku kobiecym

Niektóre badania wskazują na występowanie zależności pomiędzy terminem porodu a zawartością leukocytów. Badanie Trend i wsp. oceniało zawartość leukocytów w mleku kobiet, które urodziły ekstremalnie przedwcześnie (< 28. tc), bardzo przedwcześnie (28.-31. tc), średnio przedwcześnie (32.-36. tc) oraz w terminie (37.-41. tc). Nie wykazano w nim różnic pomiędzy całkowitą zawartością leukocytów a terminem porodu, jednak zauważono zmienne wartości poszczególnych linii leukocytów w zależności od długości trwania ciąży. W siarze zawartość niecytotoksycznych limfocytów T oraz limfocytów B negatywnie korelowały z długością ciąży. W mleku przejściowym zawartość prekursorów komórek B była wyższa u kobiet, które urodziły ekstremalnie przedwcześnie. Ponadto, odsetek neutrofilii wzrastał wraz z długością trwania ciąży. Mleko dojrzałe charakteryzowało się znacząco niższymi wartościami komórek NK oraz cytotoksycznych komórek T w grupie kobiet rodzących < 28. tc, za to zawartość limfocytów B w tej grupie rodzących była wyższa (7).

Wyniki badań opublikowane na przełomie lat 80. i 90. nie wskazują tak jednoznacznych tendencji (18-21). Brak jednoznacznych rezultatów pokazuje potrzebę przeprowadzenia dobrze zaplanowanych metodologicznie badań na dużych populacjach kobiet rodzących w różnych terminach, by jednoznacznie określić związek długości trwania ciąży i obecności poszczególnych komórek immunologicznych w mleku kobiecym.

KOMÓRKI NABŁONKOWE, NABŁONKOWO-MIĘŚNIOWE ORAZ WYDZIELNICZE W MLEKU KOBIECYM

Mleko kobiece zawiera również całe spektrum komórek pochodzenia nieimmunologicznego, które wykazują różny poziom zróżnicowania. Są to: komórki macierzyste, komórki epitelialne (nabłonkowe), bardziej zróżnicowane mioepitelialne (nabłonkowo-mięśniowe) oraz laktocyty – komórki wydzielnicze mleka (22-24). Obecność w mleku komórek somatycznych pochodzących od matki jest dowodem, że mleko pełni wiele funkcji w życiu noworodka, nie tylko związanych z dostarczaniem składników odżywczych. Rola tych komponentów mleka nie jest jeszcze poznana (24).

Komórki epitelialne

Pęcherzyki wydzielnicze i przewody mleczne gruczołu sutkowego są wyścielane nabłonkiem. Nabłonek ten tworzą komórki epitelialne otoczone siecią komórek mioepitelialnych oraz błoną podstawną. Komórki mioepitelialne mają właściwości komórek mięśniowych i kurczą się podczas wydzielania mleka do przewodów mlecznych (25). Komórki mioepitelialne wykazują ekspresję cytokeratyny 14 (CK14) oraz aktyny mięśni gładkich SMA (ang. *smooth muscle actin*) (26). Można wyróżnić dwa rodzaje komórek epitelialnych gruczołu piersiowego: komórki nabłonka pęcherzyków wydzielniczych, z których część ulega zróżnicowaniu do laktocytów, oraz komórki epitelialne przewodów mlecznych (ryc. 1a-c). Komórki progenitorowe zlokalizowane są pomiędzy tymi dwiema populacjami i mogą ulegać zróżnicowaniu w kierunku obu tych rodzajów komórek (24, 27, 28).

Początkowo sądzono, że występowanie komórek epitelialnych w mleku jest konsekwencją zjawiska apoptozy. Jednakże późniejsze badania wykazały, że w większości komórki epitelialne wyizolowane z mleka są żywe, co wykazano w hodowlach *in vitro* (22). Przypuszcza się, że komórki epitelialne przechodzą z pęcherzyków i przewodów wydzielniczych do mleka w wyniku regulowanych hormonalnie przemian tych komórek albo dzięki siłom mechanicznym związanym z cyklami opróżniania i napełniania pęcherzyków mlekiem (29).

Laktocyty

Laktocyty, czyli komórki wydzielnicze pęcherzyków, w znacznej większości są pochodzenia pęcherzykowego. Niewielka liczba laktocytów występuje w obszarze łączącym pęcherzyk z przewodem mlecznym, a więc może być pochodzenia przewodowego, choć nie znaleziono dowodów potwierdzających tę hipotezę (24, 27). Powstają z wewnętrznej warstwy komórek epitelialnych w czasie ciąży i laktacji. Biorą udział w syntezie wydzielanego mleka. Przyjmuje się, że liczba laktocytów w mleku kobiecym waha się w przedziale od 10 do 28% ogólnej liczby komórek. Duża rozbieżność jest wynikiem zarówno różnic indywidualnych, jak i zastosowanych technik oznaczania w poszczególnych badaniach (24, 27).

Laktocyty wykazują ekspresję cytokeratyny 18 (CK18), podobnie jak komórki epitelialne pęcherzyków



Ryc. 1a-c. Morfologia komórek epitelialnych (strzałki) i laktocytów izolowanych z mleka kobiecego w hodowlach *in vitro*
Źródło: wyniki własne

wydzielniczych. Innymi markerami charakterystycznymi dla laktocytów są α -LA i EPCAM (białko adhezji komórkowej w nabłonku), których poziom wzrasta w czasie laktacji (30). Zaobserwowano negatywną zależność pomiędzy wskaźnikiem masy ciała BMI (ang. *body mass index*) matki karmiącej a ekspresją CK18. Sugeruje to, iż kobiety z większym BMI mają mniej komórek epitelialnych odpowiedzialnych za syntezę mleka. Z innych badań wynika, że otyłość występująca u kobiet przed zajściem w ciążę może prowadzić do różnego rodzaju powikłań w okresie karmienia, takich jak opóźniona laktogeneza, mniejsza ilość mleka czy krótszy okres karmienia piersią. Problemy te są spowodowane obniżoną ekspresją CD18.

Znaczące zwiększenie się objętości piersi pomiędzy okresem przed ciążą a czasem po porodzie jest związane z podwyższeniem się poziomu α -LA i EPCAM. Przeprowadzone badania sugerowały, że niekoniecznie prowadzi to do zwiększenia liczby laktocytów, a pośrednio do większej produkcji mleka, choć duża zmiana objętości piersi może skutkować większą ilością mleka (30-32).

Komórki macierzyste obecne w mleku kobiecym

Komórki macierzyste wykrywane w mleku (ang. *human breastmilk stem cells* – hBSCs) pochodzą z tkanek gruczołu sutkowego. Mają właściwości bardzo zbliżone do embrionalnych komórek macierzystych i innych komórek pluripotencjalnych (29, 33, 34). Komórki macierzyste znajdujące się w gruczole sutkowym (ang. *mammary stem cells* – MaSCs) posiadają zdolność różnicowania w kierunku dwóch rodzajów pierwotnych komórek nabłonkowych gruczołu – mioepitelialnych i komórek pęcherzyków wydzielniczych obejmujących podtyp przewodowy i pęcherzykowy (24, 27). Komórki macierzyste nabłonka gruczołowego mają olbrzymią zdolność do ekspansji w okresie ciąży i laktacji, a także duże zdolności regeneracyjne gruczołu sutkowego (35). Są obecne w gruczole sutkowym w stanie spoczynku w niewielkich ilościach, ale ulegają aktywacji w okresie ciąży i laktacji, podlegając intensywnej kontrolowanej proliferacji i różnicowaniu (34, 36). Zmiany hormonalne związane z ciążą i laktacją regulują aktywność genów pluripotencji w komórkach macierzystych gruczołu sutkowego, powodując tworzenie się i rozrost przewodów mlecznych i pęcherzyków wydzielniczych (24, 33, 37). Komórki macierzyste, oprócz udziału w rozwoju gruczołu, przechodzą też z tkanek gruczołu do mleka i najprawdopodobniej odgrywają istotną rolę w rozwoju tkanek i narządów u dziecka. Mleko kobiece zawiera zarówno komórki macierzyste pluripotencjalne, czyli zdolne do różnicowania we wszystkie komórki organizmu z trzech listków zarodkowych – hBSCs, jak i komórki progenitorowe, będące na różnych późniejszych etapach różnicowania. Pierwsze doniesienia dotyczące obecności komórek macierzystych w mleku opublikował zespół Petera Hartmanna w 2007 roku (24, 38). Testy *in vitro* potwierdziły zdolność tych komórek do różnicowania

nie tylko w komórki gruczołu mlekowego, ale także w inne rodzaje komórek i tkanek (23, 39), m.in. w komórki tkanki nerwowej, hepatocyty, osteoblasty, chondrocyty czy kardiomiocyty (24, 33, 34).

Na podstawie wielu prac scharakteryzowano ekspresję białek występujących w komórkach macierzystych, a także w komórkach nabłonka gruczołu sutkowego. Pozwoliło to ustalić grupy markerów typowych dla poszczególnych populacji komórek macierzystych i progenitorowych. W toku badań nabłonka gruczołu sutkowego i mleka zidentyfikowano szereg białek, których poziom ekspresji jest charakterystyczny dla poszczególnych rodzajów komórek. Markery te mogą służyć do określenia poszczególnych populacji zarówno komórek macierzystych, jak i dojrzałych komórek nabłonka (33, 40).

Wykazano ekspresję markera komórek macierzystych integryny- α 6 (CD49f) i cytokeratyny 5 (CK5) (30, 38). Uważa się, że ekspresja cytokeratyny 5 (CK5) jest wysoko specyficzna dla tych komórek. Rozróżnienie pomiędzy poszczególnymi rodzajami komórek macierzystych jest możliwe w oparciu o ekspresję cytokeratyn, ponieważ CK19 jest charakterystyczna dla niewielkiej populacji komórek epitelialnych przewodów mlecznych, CK18 – dla komórek pęcherzyków wydzielniczych, natomiast CK14 – dla komórek mioepitelialnych. Niektórzy badacze wskazują na istnienie komórek wykazujących podwójną ekspresję CK19/CK14 i CK18/CK14, gdyż marker CK14 jest charakterystyczny dla komórek hBSCs i komórek progenitorowych mioepitelialnych (25, 26). Poziom ekspresji CD24 świadczy o miejscu pochodzenia komórek w ramach nabłonka (40). Obecność CD29 świadczy o istotnych możliwościach regeneracyjnych gruczołu (35).

Zidentyfikowano ponadto markery pluripotencji hBSCs: OCT4, SOX2 i NANOG, właściwe dla komórek na bardzo wczesnym etapie różnicowania (24).

Na podstawie ekspresji markerów komórek mezenchymalnych: STRO-1, CD73, CD90 i CD105 wyróżniono także obecność mezenchymalnych komórek macierzystych w mleku (ang. *mesenchymal stem cells* – MSCs). Należy jednak zachować ostrożność w wyciąganiu wniosków. Nie wszystkie wyżej wymienione markery są charakterystyczne tylko dla MSCs. Ponadto markery te mogą być aktywne podczas procesów transformacji zachodzących w gruczole sutkowym, a związanych z transdiferencjacją (przeróżnicowaniem) komórek epitelialnych w kierunku komórek mezenchymalnych (24, 33).

Z przeprowadzonych doświadczeń na myszach wynika, że komórki macierzyste przechodzą do krwioobiegu dziecka i są obecne w różnych jego organach, takich jak: wątroba, trzustka, żołądek, śledziona, nerki, grasica czy mózg. Znajdowano też te komórki u dorosłych myszy (29). Niektóre komórki pochodzące z mleka po pewnym czasie nie wykazywały ekspresji markerów charakterystycznych dla komórek macierzystych, co może sugerować, że uległy zróżnicowaniu i integracji z tkankami nowego gospodarza (34).

Zdolność komórek macierzystych do integracji bądź różnicowania w ramach tkanek, do których trafiają

w organizmie dziecka, wciąż jest przedmiotem badań. Mogą one brać udział w ich dojrzewaniu, utrzymaniu homeostazy, regeneracji organów dziecka na wczesnym etapie rozwoju (24, 34).

BAKTERIE PROBIOTYCZNE OBECNE W MLEKU MATKI

Analiza mikrobiomu człowieka wykluczyła obowiązujący przez lata dogmat o sterylności mleka kobiecego, a bakterie probiotyczne w ludzkim mleku stały się od niedawna przedmiotem licznych badań. Według definicji FAO/WHO probiotyki to „żywe drobnoustroje, które podane w odpowiedniej ilości wywierają korzystny wpływ na zdrowie gospodarza” (41). Obecnie uważa się, że to właśnie mleko matki jest jednym ze źródeł pozyskiwanej własnej społeczności komensali już na bardzo wczesnym etapie życia człowieka. Szacuje się, że niemowlę karmione piersią otrzymuje tą drogą około 10^7 - 10^8 bakterii dziennie (42). Rodzaje izolowanych szczepów probiotycznych bakterii z mleka zdrowych kobiet podsumowuje tabela 1. Wśród bakterii znajdujących się w ludzkim mleku najczęściej identyfikowano te należące do gatunków *Staphylococcus*, *Acinetobacter*, *Streptococcus*, *Pseudomonas*, *Lactococcus*, *Enterococcus* i *Lactobacillus* (43). Niektóre z nich, takie jak *Staphylococcus*, *Corynebacterium* czy *Propionibacterium* izolowane ze skóry, również często występują w ludzkim mleku, a ich obecność prawdopodobnie zapobiega kolonizacji karmionego dziecka przez patogeny, m.in. *Staphylococcus aureus* (44). Istnieją jednak różnice międzypopulacyjne i osobnicze, które mogą wynikać z genetycznych, kulturowych, środowiskowych lub dietetycznych uwarunkowań (42, 45). Obecność bakterii w mleku jest niezależna od wieku ciąży lub sposobu porodu (46). W badaniach przeprowadzonych w 2016 roku dotyczących obecności bakterii mlekowych z rodzaju *Bifidobacterium* i *Lactobacillus* w mleku kobiecym nie znaleziono korelacji między ich zawartością a rodzajem porodu, natomiast wykazano, że niska liczebność bakterii *Bifidobacterium* w mleku matki była skorelowana z wyższym wskaźnikiem BMI sprzed ciąży (47).

Obecność bakterii w mleku kobiecym nie jest przypadkową kontaminacją i z pewnością ma znaczenie dla prawidłowego zasiedlenia organizmu nowo narodzonego dziecka fizjologiczną florą bakteryjną. Badania wskazują, że wybrane bakterie z matczynej mikroflory przewodu pokarmowego przemieszczają się aktywnie do czynnego laktacyjnie gruczołu sutkowego. Sugerowane jest istnienie szlaku jelitowo-sutkowego (ang. *entero-mammary pathway*). W ten mechanizm zaangażowane są komórki dendrytyczne i komórki CD18+ (48, 49). Boix-Amoros i wsp. potwierdzili obecność żywych bakterii przemieszczających się i obecnych w warstwie/macierzy zewnątrzkomórkowej komórek immunologicznych (42). W innym badaniu przeprowadzonym na ciężarnych i karmiących myszach obserwowano translokację bakterii symbiotycznych z jelita do węzłów chłonnych krez-

ki i gruczołów sutkowych (50). Z pewnością zmiany anatomiczne, fizjologiczne zachodzące w czasie ciąży i po porodzie w gruczołach piersiowych sprzyjają formowaniu się tej specyficznej mikrobioty. Uważa się, że przemieszczanie się bakterii symbiotycznych do tkanek pozajelitowych karmionego noworodka jest korzystne fizjologicznie u zdrowych osobników i może być związane z dojrzewaniem układu odpornościowego. Z analizy danych literaturowych wynika, że obecność w diecie wyselekcjonowanych bakterii mlekowych ma właściwości immunomodulujące, poprawiające perystaltykę jelit i przeciwdziałające występowaniu alergii. Karmienie mlekiem kobiecym zmniejsza częstość powikłań, poprawia wyniki i obniża koszty leczenia chorych noworodków, w tym wcześniaków. Skomplikowana sieć interakcji występujących między mikrobiomem a organizmem człowieka może mieć bardzo istotny wpływ na kondycję zdrowotną noworodka, ale także ma swoje konsekwencje w życiu dorosłym. Ciekawe obserwacje dotyczą wpływu mikrobiomu na rozwój i czynność mózgu, powstawanie chorób neurologicznych oraz na rolę mikrobiomu w otyłości i w zapaleniu nieswoistym i infekcyjnym jelit. Ważną dziedziną badań jest wpływ zmian środowiska na mikrobiom i rozwój chorób cywilizacyjnych, zwłaszcza cukrzycy i celiakii (51, 52). Jeśli więc uznać nieoceniony wpływ karmienia naturalnego na właściwe kształtowanie się mikrobioty i kondycję zdrowotną człowieka, może być ono uważane za archetyp funkcjonalnego żywienia.

Tab. 1. Najważniejsze bakterie probiotyczne izolowane z mleka zdrowych kobiet

Gatunek	Rodzaj	Piśmiennictwo
<i>Lactobacillus</i>	<i>L. plantarum</i>	(53, 54)
	<i>L. gasseri</i> CECT5714	(48, 55)
	<i>L. salivarius</i> CECT5713	(48, 55)
	<i>L. fermentum</i> CECT5716	(55)
	<i>L. reuteri</i>	(54)
	<i>L. rhamnosus</i>	(54)
	<i>L. acidophilus</i>	(56)
<i>Bifidobacterium</i>	<i>B. longum</i>	(50, 54, 57)
	<i>B. breve</i>	(54)
	<i>B. lactis</i>	(54)
	<i>B. adolescentis</i>	(58)

PODSUMOWANIE

Niewątpliwie istnieje zależność między komórkowym składem mleka a stanem zdrowia ssącego niemowlęcia. Wydaje się jednak, że komórki zawarte w mleku matki odgrywają znacznie większą rolę, niż się do tej pory wydawało.

Europejska Komisja Żywności Europejskiego Towarzystwa Gastroenterologii, Hepatologii i Żywności Dzieci (European Society for Pediatric Gastroenterology Hepatology and Nutrition – ESPGHAN) zaleca korzystanie z ludzkiego mleka dawczyń

u wcześniaków, gdy ilość mleka ich własnych matek nie jest wystarczająca (59). Z tego też powodu, w ostatnich latach na całym świecie reaktywowane są banki mleka kobiecego. Należy jednak pamiętać, że wiele opisanych właściwości terapeutycznych związków pochodzących z mleka ludzkiego i siary dotyczy mleka świeżego, użytego bezpośrednio po odciążeniu, a nie mleka pasteryzowanego i rozmrażanego.

Obecnie wciąż nie znamy i nie rozumiemy związku między składnikami odżywczymi mleka, jego mikro-

biotą, komórkami nabłonkowymi a ich wpływem na zdrowie noworodka. Potrzebne są także dalsze badania, aby zrozumieć dokładny charakter komórek macierzystych/progenitorowych w nim obecnych i zbadać ich potencjalne zastosowania kliniczne. Biorąc pod uwagę skład, funkcję, bogactwo składników biologicznych oraz zawartość składników komórkowych, mleko kobiece może być traktowane jako unikalny produkt o właściwościach terapeutycznych, a popularyzacja karmienia piersią powinna uwzględniać także najnowsze wyniki badań.

PIŚMIENNICTWO

- O'Hare EM, Wood A, Fiske E: Human milk banking. *Neonatal Netw* 2013; 32(3): 175-183.
- Bernatowicz-Łojko U: Rola pokarmu kobiecego w profilaktyce i leczeniu. *Post Neonatol* 2008; 2: 142-143.
- Ballad O, Morrow A: Human milk composition: nutrients and bioactive factors. *Pediatr Clin North Am* 2013; 60(1): 49-74. DOI: 10.1016/j.pcl.2012.10.1002.
- Borysiewicz-Sańczyk H, Szczepański M: Komórki mleka kobiecego. *Post Neonatol* 2009; 1(15): 13-18.
- Rak K, Bronkowska M: Immunologiczne znaczenie siary. *Hygeia Public Health* 2014; 49(2): 249-254.
- Hassiotou F, Geddes D: Immune cell-mediated protection of the mammary gland and the infant during breastfeeding. *Adv Nutr* 2015; 6(3): 267-275.
- Trend S, de Jong E, Lloyd M et al.: Leukocyte populations in human preterm and term breast milk identified by multicolour flow cytometry. *PLoS ONE* 2015; 10(8): e0135580.
- Field C: The immunological components of human milk and their effect on immune development in infants. *J Nutr* 2005; 135: 1-4.
- Hassiotou F, Hepworth A, Metzger P et al.: Maternal and infant infections stimulate a rapid leukocyte response in breastmilk. *Clin Trans Immunology* 2013; 2: e3. DOI: 10.1038/cti.2013.1031.
- Islam N, Ahmed L, Khan N et al.: Immune components (IgA, IgM, IgG immune cells) of colostrum of Bangladeshi mothers. *Pediatr Int* 2006; 48: 543-548.
- Zhou L, Yoshimura Y, Huang Y et al.: Two independent pathways of maternal cell transmission to offspring: through placenta during pregnancy and by breast-feeding after birth. *Immunology* 2000; 101: 570-581.
- Peroni D, Chirumbolo S, Veneri D et al.: Colostrum-derived B and T cells as an extra-lymphoid compartment of effector cell populations in humans. *J Matern Fetal Neonatal Med* 2013; 26: 137-142.
- Chernishov V, Slukvin I: Mucosal immunity of the mammary gland and immunology of mother/newborn interrelation. *Arch Immunol Ther Exp* 1990; 38: 145-164.
- Xanthou M: Immune protection of human milk. *Biol Neonate* 1998; 74: 121-133.
- Riskin A, Almog M, Peri R et al.: Changes in immunomodulatory constituents of human milk in response to active infection in the nursing infant. *Pediatr Res* 2012; 71: 220-225. DOI: 10.1038/pr.2011.1034.
- Bryan DL, Hart PH, Forsyth K, Gibson R: Immunomodulatory constituents of human milk change in response to infant bronchiolitis. *Pediatr Allergy Immunol* 2007; 18(6): 495-502.
- He Y, Lawlor N, Newburg D: Human Milk Components Modulate Toll-Like Receptor-Mediated Inflammation. *Adv Nutr* 2016; 7(1): 102-111.
- Dawarkadas A, Saha K, Mathur N: A comparative study of cells and anti-microbial proteins in colostrum of mothers delivering pre- and full-term babies. *J Trop Pediatr* 1991; 37(5): 214-219.
- Goldmann A, Garza C, Nichols B et al.: Effects of prematurity on the immunologic system in human milk. *J Pediatr* 1982; 101(6): 901-905.
- Jain N, Mathur N, Sharma V, Dwarkadas A: Cellular composition including lymphocyte subsets in preterm and full term human colostrum and milk. *Acta Paediatr Scand* 1991; 80(4): 395-399.
- Rodriguez C, Subiza J, Mateos P et al.: Comparative functional study of colostrum macrophages from mothers delivering preterm and at term. *Acta Paediatr Scand* 1989; 78(3): 337-341.
- Alsaweed M, Hepworth A, Lefevre C et al.: Human milk microRNA and total RNA differ depending on milk fractionation. *J Cell Biochem* 2015; 116(10): 2397-2407.
- Hassiotou F, Beltran A, Chetwynd E et al.: Breastmilk is a novel source of stem cells with multilineage differentiation potential. *Stem Cells* 2012; 30(10): 2164-2174.
- Hassiotou F, Geddes D, Hartmann P: Cells in human milk: state of the science. *J Hum Lact* 2013; 29(2): 171-182.
- Hassiotou F, Geddes D: Anatomy of the human mammary gland: current status of knowledge. *Clin Anat* 2013; 26(1): 29-48.
- Villadsen R, Fridriksdottir AJ, Ronnov-Jessen L et al.: Evidence for a stem cell hierarchy in the adult human breast. *J Cell Biol* 2007; 177(1): 87-101.
- Indumathi S, Dhanasekaran M, Rajkumar J, Sudarsanam D: Exploring the stem cell and non-stem cell constituents of human breast milk. *Cyto-technology* 2013; 65(3): 385-393.
- Tiede B, Kang Y: From milk to malignancy: the role of mammary stem cells in development, pregnancy and breast cancer. *Cell Res* 2011; 21(2): 245-257.
- Pichiri G, Lanzano D, Piras M et al.: Human breast milk stem cells: a new challenge for perinatologists. *JPNM* 2016; 5(1): 1-7.
- Twigger A, Hepworth A, Lai C et al.: Gene expression in breastmilk cells is associated with maternal and infant characteristics. *Sci Rep* 2015; 5: 12933.
- Bocker W, Moll R, Poremba C et al.: Common adult stem cells in the human breast give rise to glandular and myoepithelial cell lineages: a new cell biological concept. *Lab Invest* 2002; 82(6): 737-746.
- Amir L, Donath S: A systematic review of maternal obesity and breastfeeding intention, initiation and duration. *BMC Pregnancy Childbirth* 2007; 7: 9.
- Hassiotou F, Hartmann P: At the dawn of a new discovery: the potential of breast milk stem cells. *Adv Nutr* 2014; 5(6): 770-778.
- Kakulas F: Breast milk: a source of stem cells and protective cells for the infant. *Infant* 2015; 11(6): 187-191.
- Shackleton M, Vaillant F, Simpson K et al.: Generation of a functional mammary gland from a single stem cell. *Nature* 2006; 439(7072): 84-88.
- Sun W, Kang K, Morita I et al.: High susceptibility of a human breast epithelial cell type with stem cell characteristics to telomerase activation and immortalization. *Cancer Res* 1999; 59(24): 6118-6123.
- Visvader J: Keeping abreast of the mammary epithelial hierarchy and breast tumorigenesis. *Genes Dev* 2009; 23(22): 2563-2577.
- Bregan M, Fan Y, Appelbee A et al.: Identification of nestin-positive putative mammary stem cells in human breastmilk. *Cell Tissue Res* 2007; 329(1): 129-136.
- Young R: Control of the embryonic stem cell state. *Cell* 2011; 144(6): 940-954.
- Joshi P, Jackson H, Beristain A et al.: Progesterone induces adult mammary stem cell expansion. *Nature* 2010; 465(7299): 803-807.
- Health and Nutritional Properties of Probiotics in Food including Powder Milk with Live Lactic Acid Bacteria: Report of a Joint FAO/WHO Expert Consultation on Evaluation of Health and Nutritional Properties of Probiotics in Food Including Powder Milk with Live Lactic Acid Bacteria, 2001.
- Boix-Amoros A, Collado M, Mira A: Relationship between milk microbiota, bacterial load, macronutrients, and human cells during lactation. *Front Microbiol* 2016; 7: 492.
- Martin R, Langa S, Reviriego C et al.: Human milk is a source of lactic acid bacteria for the infant gut. *J Pediatr* 2003; 143(6): 754-758.
- Iwase T, Uehara Y, Shinji H et al.: *Staphylococcus epidermidis* Esp inhibits *Staphylococcus aureus* biofilm formation and nasal colonization. *Nature* 2010; 465(7296): 346-349.
- Cabrera-Rubio R, Collado M, Laitinen K et al.: The human milk microbiome changes over lactation and is shaped by maternal weight and mode of delivery. *Am J Clin Nutr* 2012; 96(3): 544-551.
- Urbaniak C, Angelini M, Gloor G, Reid G: Human milk microbiota profiles in relation to birthing method, gestation and infant gender. *Microbiome* 2016; 4: 1.
- Qian L, Song H, Cai W: Determination of *Bifidobacterium* and *Lactobacillus* in breast milk of healthy women by digital PCR. *Benef Microbes* 2016; 7(4): 559-569.

48. Langa S, Maldonado-Barragan A, Delgado S et al.: Characterization of *Lactobacillus salivarius* CECT 5713, a strain isolated from human milk: from genotype to phenotype. *Appl Microbiol Biotechnol* 2012; 94(5): 1279-1287.
49. Rescigno M, Urbano M, Valzasina B et al.: Dendritic cells express tight junction proteins and penetrate gut epithelial monolayers to sample bacteria. *Nat Immunol* 2001; 2(4): 361-367.
50. Perez P, Dore J, Leclerc M et al.: Bacterial imprinting of the neonatal immune system: lessons from maternal cells? *Pediatrics* 2007; 119(3): e724-732.
51. Cho I, Blaser M: The human microbiome: at the interface of health and disease. *Nat Rev Genet* 2012; 13(4): 260-270.
52. Tamburini S, Shen N, Wu H, Clemente J: The microbiome in early life: implications for health outcomes. *Nat Med* 2016; 22(7): 713-722.
53. Martin R, Langa S, Reviriego C et al.: The commensal microflora of human milk: new perspectives for food bacteriotherapy and probiotics. *Trends Food Sci Technol* 2004; 15(3-4): 121-127.
54. Soto A, Martin V, Jimenez E et al.: Lactobacilli and bifidobacteria in human breast milk: influence of antibiotherapy and other host and clinical factors. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2014; 59(1): 78-88.
55. Olivares M, Diaz-Ropero M, Martin R et al.: Antimicrobial potential of four Lactobacillus strains isolated from breast milk. *J Appl Microbiol* 2006; 101(1): 72-79.
56. Heikkila M, Saris P: Inhibition of *Staphylococcus aureus* by the commensal bacteria of human milk. *J Appl Microbiol* 2003; 95(3): 471-478.
57. Gronlund M, Gueimonde M, Laitinen K et al.: Maternal breast-milk and intestinal bifidobacteria guide the compositional development of the *Bifidobacterium* microbiota in infants at risk of allergic disease. *Clin Exp Allergy* 2007; 37(12): 1764-1772.
58. Martin R, Jimenez E, Heilig H et al.: Isolation of bifidobacteria from breast milk and assessment of the bifidobacterial population by PCR-denaturing gradient gel electrophoresis and quantitative real-time PCR. *Appl Environ Microbiol* 2009; 75(4): 965-969.
59. Liu X, Ding Z: Medical application of breast milk banks. *Zhongguo Dang Dai Er Ke Za Zhi* 2014; 16(7): 674-678.

otrzymano/received: 07.08.2017
zaakceptowano/accepted: 30.08.2017