

MeB – Pagine Elettroniche

Volume XVI

Gennaio 2013

numero 1

IL PUNTO SU

Il potenziale biologico del latte materno

Elena Uga, Ilaria Stasi, Diego Pampinella, Danila Tozzini, Alessandra Gueli, Salvatore Guercio Nuzio, Gianluca Così

SOC Pediatria, Ospedale S. Andrea, ASL Vercelli

Indirizzo per corrispondenza: elena.uga990@gmail.com

The biological potential of breast milk

Abstract

In addition to the well-known nutritional benefits for the baby, human milk plays a central role in the development of the immune system, as it contains many cell types and bioactive factors directly derived from the mother's immune system. Besides the direct role of defence from external bodies, all these factors are crucial in the development and modulation of the immune system of the child. Human milk is thus a complex set of immune-acting components that interact with the immune system of the newborn and vary from woman to woman and according to the phase of lactation. It is therefore essential to understand the importance of this complex food and its potential role in the development of the immune system, promotion of anti-infective mechanisms and regulation of tolerance and inflammatory response in early childhood.

Key words

Human milk, Immunological components, Bioactive molecules, Stem cells

Introduzione

Le cellule del sistema immune

I fattori bioattivi

Le cellule staminali

Conclusioni

Bibliografia

RIASSUNTO

Il latte materno, oltre ai noti vantaggi nutrizionali per il neonato, ricopre un ruolo centrale nello sviluppo del sistema immunitario, contenendo numerose tipologie cellulari nonché fattori bioattivi derivati direttamente dal sistema immune della madre. Tutti questi fattori, oltre a un ruolo diretto di difesa dagli organismi esterni, giocano un ruolo centrale nello sviluppo e nella modulazione del sistema immune del bambino. Il latte umano si rivela quindi un complesso insieme di componenti ad azione immunitaria che interagiscono fra loro e

con il sistema immune del neonato e variano da donna a donna e a seconda della fase di lattazione. È dunque fondamentale capire l'importanza di questo complesso alimento e il suo potenziale ruolo nello sviluppo del sistema immune, nel promuovere i meccanismi di difesa antiinfettivi, nella regolazione della tolleranza e della risposta infiammatoria nella prima infanzia.

INTRODUZIONE

Quando pensiamo al latte materno lo consideriamo innanzitutto, e correttamente, un alimento ricco di nutrienti “essenziali” e “vantaggiosi” sia per la mamma che per il bambino; secondo una recente posizione dell'OMS il latte materno resta la prima scelta per l'alimentazione dei lattanti nei primi sei mesi di vita e, con l'introduzione di cibi solidi complementari, fino a due anni e oltre (finché mamma e bambino lo desiderano)¹. Il latte materno è un materiale biologico di cui si va scoprendo una complessità sempre maggiore, soprattutto se vi si analizzano tutti quei fattori, cellulari e umorali, che non hanno un ruolo nutritivo ma sono causa di vantaggi biologici promuovendo la crescita tessutale, stimolando e regolando il sistema immunologico del lattante e stimolando un'attività diretta sui microorganismi². Il latte materno può, per le sue qualità e caratteristiche, essere ritenuto a tutti gli effetti una componente del sistema immunitario, in particolare del sistema immune “secretorio”, cioè di quella parte del sistema immune che comprende le superfici corporee (anche gli alveoli mammari intesi come ghiandole secernenti un fluido biologico) e che effettua la sua azione di difesa localmente^{3,4}. Nel latte non vengono secreti solo anticorpi e fattori bioattivi antinfettivi, ma migrano anche cellule del sistema immune che poi vanno ad esplicare la loro azione direttamente al livello del tratto gastrointestinale del lattante. Il ruolo del complesso sistema immune presente nel latte materno non si esaurisce quindi nella funzione antinfettiva; il lattante viene al mondo da un ambiente sterile e si trova improvvisamente a interagire con una popolazione di microorganismi “colonizzatori” pari a 10 volte il suo numero di cellule. I primi batteri commensali che il neonato incontra saranno differenti a seconda della modalità di parto (vaginale o da taglio cesareo) e di allattamento (al seno o al poppatoio). La complessa origine del “microbiota” del lattante viene quindi a essere modulata dai fattori immunitari presenti nel latte materno, con importanti ripercussioni sullo sviluppo e sulla crescita di tutto l'organismo⁵, nonché sul possibile sviluppo futuro di patologie immunomediate, quali le allergie o le patologie autoimmuni⁶. Nel latte materno sono stati inoltre riscontrati fattori ad azione antitumorale⁷ e la presenza di cellule staminali⁸ che aprono nuove possibilità di ricerca e utilizzo di questo ricchissimo fluido biologico.

LE CELLULE DEL SISTEMA IMMUNE NEL LATTE MATERNO

TIPOLOGIA E FUNZIONI

Il latte materno contiene una quota rappresentativa di tutte le cellule coinvolte nella risposta immunitaria, sia quelle della

Tabella I. Tipologie cellulari presenti nel latte materno.

Conta totale	Colostro: 1-3 x 106/ml Latte maturo: 1-5 x 105/ml
Tipologie cellulari	Monociti-macrofagi: circa 60% Neutrofili: circa 25% Linfociti: circa 10% (80% linfociti T attivati)

CELLULE DELLA LINEA MIELOIDE

Della linea mieloide (fagociti) fanno parte i monociti e i granulociti neutrofili. Complessivamente le cellule mieloidi costituiscono più dell'80% della quota cellulare presente nel latte materno, sebbene sia la concentrazione che la percentuale delle varie popolazioni cellulari siano molto variabili a seconda della fase dell'allattamento. Complessivamente tutte le quote cellulari sono molto più alte nel colostro per poi ridursi nelle fasi successive della lattazione. In particolare in questa fase la conta leucocitaria effettuata sul colostro si avvicina a quella del sangue periferico variando da 500 a 8000 cellule/mm³, delle quali il 30-60% sono rappresentate da macrofagi. Quando l'allattamento si è stabilizzato e le giunzioni strette fra le cellule dell'alveolo mammario si sono chiuse, la quota leucocitaria nel latte materno si riduce drasticamente⁹. Il numero di neutrofili polimorfonucleati aumenta notevolmente in corso di infiammazione al seno (mastite) e questa quota, riversata nel latte materno, gioca probabilmente un ruolo protettivo nei confronti del neonato esercitando direttamente la propria attività fagocitica e battericida¹⁰. I macrofagi (CD14+) presenti nel latte materno hanno diverse funzioni: rilasciano componenti bioattive come lisozima, lattoferrina, IgA (ma non sono in grado di produrle), fattori del complemento, citochine; inoltre esercitano la loro attività fagocitica, battericida e di cellule presentanti l'antigene^{11,12}.

CELLULE DELLA LINEA LINFOIDE

La quota linfoidale (linfociti T e B) rappresenta circa il 4% di tutta la quota leucocitaria nelle prime fasi della lattazione; circa l'83% dei linfociti è rappresentato da cellule T che sembra possano migrare dal latte materno all'organismo del neonato mediando precocemente funzioni e sviluppo del sistema immunitario¹³. La quota percentualmente più elevata di CD8+ (che esprimono in superficie L-selectine e $\alpha 4\beta 7$ integrine) e di linfociti $\gamma\delta$ +, rispetto al comparto ematico, suggerisce che questi linfociti CD8+ siano selettivamente localizzati a livello del MALT della ghiandola mammaria¹². Le cellule CD4+ sono d'altro canto presenti nel latte materno in uno stato attivato (infatti esprimono recettori *markers* di attivazione come CD40L, sCD30 e il recettore per IL2); inoltre esprimono il CD45RO+, una proteina di superficie associata con i meccanismi di memoria immunologica¹⁴. È stato ipotizzato che

linea linfoidale (linfociti) che quelle della linea mieloide (fagociti) (Tabella I). Sebbene i fagociti, soprattutto i monociti-macrofagi, siano la quota cellulare più rappresentata nel latte materno, sono i linfociti a giocare un ruolo centrale nella modulazione della risposta immune del neonato³.

queste cellule T attivate di origine materna possano compensare l'immaturità funzionale delle cellule T del neonato e promuovere la loro maturazione. Inoltre questi linfociti maturi, che hanno già montato una risposta antigenica, potrebbero compensare la ancora non perfettamente funzionale capacità di presentare l'antigene dei macrofagi^{12,15}. È stato anche evidenziato come nei bambini allattati al seno vi sia una differenza immunofenotipica nelle sottopopolazioni linfocitarie, consistente in una diminuzione delle cellule CD4+:CD8+ a fronte di un aumento delle cellule NK¹⁶, con come diretta conseguenza il riscontro del fatto che il timo dei bambini allattati al seno risulta più grande di quello dei bambini allattati con formula¹⁷. Questo dato è un'ulteriore conferma al ruolo giocato dal latte materno nella modulazione e nello sviluppo del sistema immunitario del neonato.

Le cellule B rappresentano una piccola quota nel latte materno, ma il loro ruolo è fondamentale. Si tratta, contrariamente a quanto accade nel circolo periferico, soprattutto di cellule B mature attivate che esprimono il recettore CD38¹⁸, in grado di secernere anticorpi specifici contro i patogeni con cui è venuto a contatto l'organismo materno, tipici quindi dell'ambiente in cui vive il neonato. Questo importante ruolo è stato dimostrato da alcuni Autori¹⁹ che hanno evidenziato come nel latte di madri Nigeriane, residenti in una zona endemica per *Plasmodium falciparum*, fossero presenti elevati livelli di IgA specifiche contro questo patogeno. In questo modo il bambino riceve dalla madre, attraverso il latte, una protezione specifica contro i potenziali patogeni presenti nell'ambiente che lo circonda e risulta in grado di difendersi precocemente e attivamente da questa fonte di infezioni. La tipologia delle varie sottopopolazioni cellulari riscontrabili nel latte materno, e, di conseguenza, le modalità di modulazione del sistema immunitario del neonato, variano a seconda di fattori materni genetici ed ambientali. Ad esempio è stato riscontrato che nel colostro di madri sottoposte a taglio cesareo il numero di linfociti CD4+ è notevolmente ridotto²⁰; la diversa composizione cellulare del colostro e, di conseguenza, modulazione del sistema immunitario potrebbero essere alcuni dei fattori che espongono i nati da taglio cesareo a un maggior rischio di patologia (atopia, asma, obesità, diabete) in età adulta. Quindi, poiché il feto viene esposto in utero a una minima stimolazione antigenica, per un'adeguata capacità di rispondere ai patogeni il sistema immunitario del bambino deve essere "educato" nel periodo perinatale e immediatamente

successivo alla nascita. L'ambiente asettico uterino favorisce un assetto citochinico di tipo Th2²¹, il che contribuisce alla bassa competenza immunitaria del neonato alla nascita. Le popolazioni cellulari, in particolar modo i linfociti, presenti nel colostro forniscono quindi una prima difesa diretta contro i patogeni e contribuiscono poi attivamente alla modulazione e allo sviluppo del sistema immune.

I FATTORI BIOATTIVI NEL LATTE MATERNO

Siamo abituati a pensare al latte materno come al primo nutriente del neonato: specie-specifico, adeguato alle necessità di crescita e di sviluppo dei vari organi umani, costituito da componenti nutritive perfette in termini di caratteristiche nutrizionali e quantità di nutrienti. Oltre alle componenti nutritive, prima il colostro e poi il latte materno sono una ricchissima fonte di sostanze bioattive che in vario modo interagiscono sullo sviluppo del neonato agendo come componenti antinfettive, antiinfiammatorie e immunomodulanti (*Tabella II*). Alcuni di questi sono fattori direttamente dipendenti dal sistema immunitario, altri sono ormoni o enzimi che continuano a esercitare la loro azione dopo essere stati ingeriti con il latte materno. La principale componente bioattiva del latte materno è costituita dalla sua quota anticorpale, principalmente dalle IgA secretorie. Le SIgA costituiscono circa l'80% di tutte le Immunoglobuline presenti nelle secrezioni esocrine dell'organismo umano. Esse si legano specificamente ai patogeni a livello dell'intestino neonatale impedendo il loro passaggio attraverso le mucose. Queste IgA sono specificamente dirette verso i microorganismi presenti nell'intestino materno; in questo modo, qualora la madre venisse a contatto con un patogeno a livello intestinale, secernerebbe nel

proprio latte dei fattori di difesa diretta e specifica²². Infatti le madri di lattanti con infezioni sistemiche presentano livelli più elevati di IgA nel proprio latte²³. In aggiunta alle IgA tutte le altre classi di immunoglobuline, incluse le IgD, possono essere prodotte negli alveoli mammari e riversate nel latte materno²⁴. Le immunoglobuline, insieme a una quota della componente cellulare, costituiscono quindi il sistema immune "acquisito" del latte materno, capace di fornire una protezione mirata verso patogeni specifici dell'ambiente in cui la diade madre-bambino vive. Esiste nel latte materno anche un sistema immune "innato", capace di fornire una prima linea di difesa, rapida e aspecifica, contro i patogeni. Di questo sistema fanno parte sostanze multifunzionali (la lattoferrina, l'alfa-lattoalbumina, il lisozima e gli acidi grassi), gli oligosaccaridi, gli acidi nucleici e altri agenti immunomodulanti fra i quali svariate citochine e chemochine. La lattoferrina è una proteina legante il ferro e appartiene alla famiglia delle transferrine. È presente nel colostro ad una concentrazione di 5-7 g/l, quantità che decresce nel latte maturo e che è invece ancor più alta nel latte delle mamme che hanno partorito pretermine²⁵. La lattoferrina inibisce l'adesione cellulare di patogeni quali *Escherichia coli*²⁶ e, in presenza di IgA e bicarbonato, favorisce l'assorbimento intestinale di ferro riducendo la patogenicità di microorganismi, quali *Salmonella*, *E. Colie Candida*, che necessitano di ferro per sopravvivere²⁷. Inoltre la lattoferrina ha la capacità di entrare nel nucleo dei leucociti e bloccare la trascrizione del fattore NF-kB, che controlla la produzione di citochine proinfiammatorie, agendo in questo modo in senso antinfiammatorio²². La lattalbumina è una delle principali costituenti proteiche del latte umano e fa parte del complesso enzimatico deputato, negli alveoli mammari, alla sintesi del lattosio¹¹.

Tabella II. Componenti non cellulari immunoattive nel latte materno.

Fattori immunitari specifici	SIgA, IgG, IgM, IgE, IgD, componenti secretorie, antigeni di istocompatibilità Citochine, chemochine e recettori IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12, IL-13, IL-16, IL-18, IFN- γ , TNF- α , G-CSF, M-CSF, GM-CSF, TGF- β 1 e 2, sCD14, Toll Like receptor
Fattori dell'immunità innata	Complemento, lattoferrina, lisozima, interferon, oligosaccaridi, acidi grassi, monogliceridi, alfafetoproteina Neutrofili: circa 25% Linfociti: circa 10% (80% linfociti T attivati)
Prebiotici, fattori bifidogeni, oligosaccaridi	
Ormoni e fattori di crescita	Prolattina, cortisolo, insulina, tiroxina, prostaglandine, eritropoietina
Altri	Proteine carrier, enzimi, nucleotidi, LCPUFA, HAMLET

Di recente è stato scoperto come un complesso costituito da alfa-lattoalbumina (ALA) e acido oleico, denominato HAMLET7, sia in grado, in vitro, di esercitare una potente azione battericida contro Gram-positivi (come *Streptococcus pneumoniae*)²⁸. È stato allo stesso tempo e sorprendentemente evidenziato come questo complesso sia in grado di indurre l'apoptosi cellulare, in vitro, di cellule tumorali, senza esercitare lo stesso effetto sulle cellule sane²⁹. Nel complesso HAMLET la lattalbumina è presente in forma parzialmente distesa, e questa conformazione è stabilizzata dall'acido

oleico (grasso insaturo, componente predominante nel latte materno)³⁰; la forma nativa di ALA, ripiegata, non è in grado di effettuare attività battericida né antitumorale⁷. Gli acidi grassi polinsaturi a catena lunga (PUFA) presenti nella dieta, come l'arachidonico e il docoesanoico, sono noti modulatori del sistema immune dell'adulto³². La loro quota nel latte umano è piccola, ma è stato di recente suggerito un loro ruolo nell'immunomodulazione del neonato³³. Il lisozima, una delle maggiori componenti della frazione serica del latte umano, ha un'azione sia battericida che antinfiammatoria³. Questo

enzima, molto più abbondante nel latte materno (400 ug/ml) che in quello bovino, aumenta progressivamente fino a raggiungere la massima attività a circa sei mesi di vita³¹. Questo incremento, che lo differenzia dagli altri fattori antinfettivi presenti nel latte umano, fornisce una protezione supplementare al momento dell'introduzione dei cibi solidi, quando il rischio di contrarre infezioni gastrointestinali aumenta. Gli oligosaccaridi presenti nel latte materno impediscono ai patogeni di aderire alla mucosa intestinale agendo come analoghi che bloccano i recettori delle superfici epiteliali³; la loro presenza, oltre a impedire l'adesione dei batteri alla superficie intestinale, esplica un'azione prebiotica favorendo la proliferazione di bifidobatteri e lattobacilli^{34,35}.

La presenza di nucleotidi nella dieta del neonato attraverso il latte materno promuove la proliferazione linfocitaria, l'attività NK e l'attivazione dei macrofagi. Si è visto inoltre come questa quota proteica favorisca lo sviluppo dell'immunità mucosale e favorisca la risposta TH1 modulando la maturazione delle cellule B36. Sebbene la risposta infiammatoria sia un importante meccanismo di difesa contro i patogeni esterni un suo eccesso comporterebbe ridotto intake di nutrienti e danno intestinale; quindi le varie citochine presenti nel latte umano sembrerebbero smorzare la risposta infiammatoria. Fra le citochine ad azione antinfiammatoria riscontrabili nel latte umano è reperibile l'IL-10, potente immunosoppressore, prodotto dalle cellule alveolari mammarie³⁷, ma anche da linfociti e macrofagi presenti nel latte³⁸. IL-10 smorza la risposta TH1, inibendo così il rilascio di citochine pro-infiammatorie. Altra citochina a funzione antinfiammatoria presente nel latte materno è il TGF β che, oltre a smorzare la risposta infiammatoria, promuove il ripristino delle cellule intestinali danneggiate da fattori infiammatori o da agenti infettivi^{39,40}. Varie citochine ad azione pro-infiammatoria (IL-1, IL-6, IL-8, TNF α) sono state riscontrate nel latte umano¹², tuttavia recettori solubili antagonisti di IL-1 e IL-6 presenti nel latte umano legano nel lume intestinale queste citochine riducendone l'attività⁴¹. I potenziali effetti antinfiammatori di IL-8 sono invece modulati dall'abbondante presenza di IL-10.

LE CELLULE STAMINALI NEL LATTE MATERNO

Negli ultimi anni la comunità scientifica ha mostrato molto interesse per la presenza di cellule staminali nel latte materno. La presenza di cellule staminali nella ghiandola mammaria è nota da oltre cinquant'anni⁴², quando fu dimostrata la rigenerazione dell'intera ghiandola mammaria murina trapiantando cuscinetti di grasso provenienti dagli alveoli mammari di topi. Altri Autori⁴³ più recentemente hanno dimostrato che le cellule staminali mammarie derivano dal compartimento sopra-basale dell'epitelio duttale del tessuto ghiandolare mammario umano. È quindi nota la presenza di cellule staminali nel tessuto ghiandolare mammario che peraltro, nel corso della vita di una donna, mostra una notevole variabilità e capacità di proliferazione e involuzione, passando dalla fase infantile a quella di sviluppo puberale per poi maturare durante la gravidanza assumendo la capacità di produrre latte e involvere al termine dell'allattamento per poi proliferare di nuovo sotto lo stimolo di un allattamento successivo. Oltre che nel tessuto

ghiandolare mammario la presenza di cellule staminali è però ben documentata anche nell'eterogenea popolazione di cellule presenti nel latte materno e messe in coltura^{44,45}; questa scoperta apre molte prospettive di studio sul possibile ruolo di queste cellule, che dalla madre attraverso il latte passano all'intestino del bambino, e sul possibile utilizzo del latte materno come fonte di cellule staminali². Le cellule staminali isolate dal latte materno sono di origine mesenchimale (esprimendo in superficie marcatori tipici della linea mesenchimale come il CD44, il CD29 e SCA-1)⁴⁶. Queste cellule rappresentano il 10-15% del totale di cellule isolate dal latte umano e, messe in coltura, aumentano fino al 90%. Si tratta di cellule multipotenti che possono generare linee cellulari diverse: lipidiche, cartilaginee, osteitiche e neuronali. In questa coltura altamente eterogenea sono state identificate anche cellule staminali ematopoietiche (identificabili anche nel sangue del lattante) che sono in grado di rispondere ad uno stimolo immunologico⁴⁴. La presenza di cellule materne nel torrente ematico del lattante non sarebbe quindi solo attribuibile allo scambio placentare pre-natale, ma questo scambio continuerebbe anche dopo la nascita utilizzando come "mezzo di trasporto" il latte materno; questa popolazione cellulare multipotente sarebbe poi in grado di trasferirsi dal torrente ematico ai vari organi e tessuti creando una sorta di "micro-chimerismo"⁴⁷. Queste acquisizioni, che aprono un grande capitolo di possibile ricerca futura, darebbero al latte materno un ruolo centrale nell'indurre modificazioni fenotipiche trasmesse con un meccanismo di ereditarietà diverso da quello mendeliano, centrato sul DNA⁴⁸. Oltre al possibile ruolo che le cellule staminali presenti nel latte materno potrebbero avere nella modulazione immunologica e fenotipica dell'organismo del lattante la loro scoperta apre numerosi spunti di riflessione e ricerca sul loro possibile utilizzo. Una possibile applicazione terapeutica delle cellule staminali emopoietiche isolate dal latte materno o dal colostro potrebbe essere quella di accelerare la maturazione e la competenza del sistema immunitario in corso di sepsi². Da un punto di vista di medicina rigenerativa per gravi patologie come il morbo di Parkinson o le degenerazioni spinali, il latte materno potrebbe essere un'ottima fonte, semplice, poco invasiva e facilmente reperibile, per estrarre cellule staminali mesenchimali⁴⁶.

CONCLUSIONI

Il medico Ibn Sina (noto in Occidente come Avicenna, 980-1037 D.C.) descrisse il latte materno come "sangue bianco". In effetti il latte materno viene secreto dagli alveoli mammari a partire dal sangue materno che in essi circola e proprio come il sangue è un alimento che, oltre ai primari e fondamentali fattori nutritivi, contiene una lunga e complessa serie di fattori immunitari ad azione difensiva e immunomodulante che giocano un ruolo nei meccanismi di difesa del neonato verso i patogeni, ma anche nello sviluppo del sistema immune del neonato e nella protezione dall'insorgenza di patologie immunomediata. La sopravvivenza dei piccoli che assumono latte materno come unico loro cibo provoca una forte pressione selettiva sulla evoluzione genetica e biochimica dell'allattamento, portando alla comparsa di componenti che promuovono la salute e la sopravvivenza². È inoltre noto

che i geni precursori, preposti alla sintesi delle proteine del latte, giungono a indurre modifiche che comportano vantaggi protettivi per il lattante⁴⁹. Le conoscenze dei fattori bioattivi e della componente cellulare secreta nel latte materno e di conseguenza assunta dal lattante sono lontanissime dall'essere esaustive, ma il loro studio dà spazio a innumerevoli ipotesi di immunomodulazione e interazione fra l'organismo materno e quello del bambino e getta i presupposti per iniziare a comprendere i complessi meccanismi alla base del fisiologico sviluppo del sistema immune.

Bibliografia

- World Health Organisation. Exclusive reastfeeding for six months best for babies everywhere. Statement, Jan 15, 2011.
- Biasini A, Stella M, Conti E, et al. Il potenziale biologico del latte umano: non solo nutrizione. Quaderni acp 2011;18:70-3.
- Riordan J. Breastfeeding and human lactation (Third edition). Jones & Bartlett Publishers, 2005.
- Brandtzaeg PD. The Mucosal Immune System and Its Integration with the Mammary Glands. J Pediatr 2010;156:S8-15.
- Walker A. Breast milk as the gold standard for protective nutrients. J Pediatr 2010;156:S3-7.
- Schack-Nielsen L, Michaelsen KF. Breast feeding and future health. Curr Opin Clin Nutr Metab Care 2006;9(3):289-96.
- Hakansson AP, Roche-Hakansson H, Mossberg AK, Svanborg C. Apoptosis-like death in bacteria induced by HAM-LET, a human milk lipid-protein complex. PLoS One 2011;6:e17717.
- Patki S, Kadam S, Chandra V, Bhonde R. Human breast milk is a rich source of multipotent mesenchymal stem cells. Hum Cell 2010;23:35-40.
- Ho FC, Wong RL, Lawton JW. Human colostrum and breast milk cells. A light and electron microscopic study. Acta Paediatr Scand 1979;68:389-96.
- Buescher ES. Human milk anti-inflammatory component contents during acute mastitis. Cell Immunol 2001;210:87-95.
- Newburg DS. Innate immunity and human milk. J Nutr 2005;135:1308-12.
- Field CJ. The immunological components of human milk and their effect on immune development in infants. J Nutr 2005;135:1-4.
- Wirt DP, Adkins LT, Palkowetz K, Schmalstieg FC, Goldman AS. Activated and memory T lymphocytes in human milk. Cytometry 1992;13:282-90.
- Eglinton BA, Robertson DM, Cummins AG. Phenotype of T cells, their soluble receptor levels, and cytokine profile of human breast milk. Immunol Cell Biol 1994;72:306-13.
- Hanson LA, Korotkova M, Lundin S, et al. The transfer of immunity from mother to child. Ann. NY Acad Sci 2003;987:199-206.
- Hawkes JS, Neumann MA, Gibson RA. The effect of breast feeding on lymphocyte subpopulations in healthy term infants at 6 months of age. Pediatr Res 1999;45:648-51.
- Hasselbalch H, Engelmann MD, Ersboll AK, Jeppesen DL, Fleischer-Michaelsen K. Breast-feeding influences thymic size in late infancy. Eur J Pediatr 1999; 58:964-7.
- Tuailon E, Valea D, Becquart P et al. Human Milk-Derived B Cells: A Highly Activated Switched Memory Cell Population Primed to Secrete Antibodies. J Immunol 2009;182:7155-62.
- Kassim OO, Ako-Anai AK, Torimiro SE, Hollowell GP, Okoye VC, Martin SK. Inhibitory factors in breastmilk, maternal and infant sera against in vitro growth of Plasmodium falciparum malaria parasite. J Trop Pediatr 2000;46:92-6.
- Jin YY, Wei Zhao, Cao RM, Xi Wang, Wu SM, Chen TX. Characterization of immunocompetent cells in human milk of Han Chinese. J Hum Lact 2011;27:155-62.
- Cummins AG, Thompson FM. Postnatal changes in mucosal immune response: a physiological perspective of breast feeding and weaning. Immunol. Cell Biol 1997;75:419-29.
- Feist N, Berger D, Speer CP. Anti-endotoxin antibodies in human milk: correlation with infection of the newborn. Acta pediatr 2000;89:1087-92.
- Hanson LA. Session 1: Feeding and infant development breast-feeding and immune function. Proc Nutr Soc 2007;66:384-96.
- Litwin SD, Zehr BD, Insel RA. Selective concentration of IgD class-specific antibodies in human milk. Clin exp immunol 1990;80:262-67.
- Ronayne De Ferrer PA, Baroni A, Sambucetti ME, Lopez NE, Ceriani-Cernadas JM. Lactoferrin levels in term and preterm milk. J Amer college Nutr 2000;19:370-73.
- De Araujo AN, Giugliano LG. Lactoferrin and free secretory component of human milk inhibits the adhesion of enteropathic Escherichia coli to HeLa Cells. BMC microbiology 2001;1:25.
- Borgnolo G, Barbone F, Scornavacca G, Franco D, Vinci A, Iuculano F. A case-control study of Salmonella gastrointestinal infection in Italian children. Acta paediatrica 1996;85:804-8.
- Håkansson A, Svensson M, Mossberg AK, et al. A folding variant of alpha-lactalbumin with bactericidal activity against Streptococcus pneumoniae. Mol Microbiol 2000;35:589-600.
- Svensson M, Hakansson A, Mossberg AK, Linse S, Svanborg C. Conversion of alpha-lactalbumin to a protein inducing apoptosis. Proc Natl Acad Sci USA 2000;97:4221-6.
- Svensson M, Mossberg AK, Pettersson J, Linse S, Svanborg C. Lipids as cofactors in protein folding: stereospecific lipid-protein interactions are required to form HAMLET (human alpha-lactalbumin made lethal to tumor cells). Protein Sci 2003;12:2805-14.
- Prentice A, Prentice AM, Cole TJ, Paul AA, Whitehead RG. Breast milk antimicrobial factors of rural Gambian mothers. Acta paediatrica Scand 1984;73(6):796-812.
- Calder PC, Grimble RF. Polyunsaturated fatty acids, inflammation and immunity. Eur J Clin Nutr 2002;56:S14-S19.
- Field CJ, Clandinin MT, Van Aerde JE. Polyunsaturated fatty acids and T-cell function: implications for the neonate.

- Lipids 2001;36:1025-32.
- McVeagh P, Miller JB. Humanmilk oligosaccharides: only the breast. *J Paediatr child Healt* 1997;33:281-6.
 - Forchielli ML, Walker WA. Therole of gut-associated lymphoid tissues and mucosal defence. *Br J Nutr* 2005;93:S41-8.
 - Aggett P, Leach JL, Rueda R, MacLean J. Innovationin infant formula development: a reassessment of ribonucleotides in 2002. *Nutrition* 2003;19:375-84.
 - Garofalo R, Chheda S, Mei F, et al. Interleukin-10in human milk. *R Pediatr Res* 1995;37:444-9.
 - Kelly D, Coutts AG. Earlynutrition and the development of immune function in the neonate. *Proc Nutr Soc* 2000;59:177-85.
 - Letterio JJ, Geiser AG, Kulkarni AB, Roche NS, Sporn MB, Roberts AB. Maternal rescueof transforming growth factor-beta 1 null mice. *Science* 1994;264:1936-8.
 - Donnet-Hughes A, Duc N, Serrant P, Vidal K, Schiffrin EJ. Bioactivemolecules in milk and their role in health and disease: the role of transforming growth factor-beta. *Immunol Cell Biol* 2000;78:74-9.
 - Filteau SM. Milk components with immunomodulatory potential. *Adv NutrRes* 2001;10:327-50.
 - Deome KB, Faulkin LJ Jr, Bern HA, Blair PB. Development of mammary tumorsfrom hyperplastic alveolar nodules transplanted into gland-free mammary fat pads of female C3H mice. *Cancer Res* 1959;19:515-20.
 - Gudjonsson T, Villadsen R, Nielsen HL, et al. Isolation, immortalization, and characterization of a human breast epithelial cell line with stem cell properties. *Genes Dev* 2002;16:693-706.
 - Patki S, Kadam S, Chandra V, Bhonde R. Humanbreast milk is a rich source of multipotent mesenchymal stem cells. *Hum Cell* 2010;23:35-40.
 - Fan Y, Chong YS, Choolani AM, Cregan MD, Chan JKY. Unravellingthe Mystery of Stem/Progenitor Cells in Human Breast Milk. *PLoS One* 2010;5:e14421.
 - Cregan MD, Fan Y, Appelbee A, et al. Identificationof nestin-positive putative mammary stem cells in Human breast milk. *Cell tissue res* 2007;329:129-36.
 - Maloney S. Microchimerismof maternal origin persist into adult life. *J Clin Investig* 1999;104:41-7.
 - Maurel MC, Kanellopoulos L. Heredityventuring beyond genetics. *Biol reproduction* 2008;79:2-8.
 - German JB, Schanbacher FL, Lonnerdal B, et al. Internationalmilk genomics consortium. *Trends Food Science & Technology* 2006;17:656-61.