

© Коллектив авторов, 2016

Д.Б. Мунблит<sup>1</sup>, А.И. Борушко<sup>2</sup>, М.С. Тренева<sup>3</sup>, А.Н. Пампура<sup>3</sup>

## ИММУНОЛОГИЧЕСКИЙ СОСТАВ ГРУДНОГО МОЛОКА И АЛЛЕРГИЧЕСКИЕ ЗАБОЛЕВАНИЯ: ЕСТЕСТВЕННЫЙ ПУТЬ К ПРОФИЛАКТИКЕ?

<sup>1</sup>Имперский колледж Лондона, г. Лондон, Великобритания; <sup>2</sup>ГУО «Белорусская медицинская академия последипломного образования», г. Минск, Беларусь; <sup>3</sup>Научно-исследовательский клинический институт педиатрии им. акад. Ю.Е. Вельтищева Российского национального исследовательского медицинского университета им. Н.И. Пирогова, Москва, РФ

Уникальность грудного молока (ГМ) общеизвестна. Его иммунные факторы способствуют становлению иммунной системы ребенка. Влияют ли аллергические заболевания (АЗ) матери, характеризующиеся Th2-направленностью иммунного ответа, на состав ГМ, опосредуя тем самым формирование АЗ ребенка? Обзор посвящен иммунологически активным компонентам ГМ, их особенностям у матерей с атопией/АЗ и возможному влиянию на дальнейшее развитие АЗ у детей.

**Ключевые слова:** молозиво, грудное молоко, иммунологически активные молекулы, цитокины, аллергия, дети, грудное вскармливание, факторы окружающей среды.

D.B. Munblit<sup>1</sup>, A.I. Borushko<sup>2</sup>, M.S. Treneva<sup>3</sup>, A.N. Pampura<sup>3</sup>

## IMMUNOLOGICAL COMPOSITION OF BREAST MILK AND ALLERGIC DISEASES: NATURAL WAY OF PREVENTION?

<sup>1</sup>Imperial College London, London, UK, <sup>2</sup>Belarusian Medical Academy of Postgraduate Education, Minsk, Belarus; <sup>3</sup>Clinical Pediatrics Scientific Research Institute named after Academician Yuriy Veltischev, Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia

The uniqueness of breast milk (BM) is well known. Its immune factors contribute to the formation of child's immune system. Do mother's allergic diseases (AD) characterized by Th2-oriented immune response affect BM composition there by mediating the AD formation in child? The review deals with the immunologically active components of BM, their peculiarities in mothers with atopy/AD and influence on AD development in children.

**Keywords:** foremilk, breast milk, immunologically active molecules, cytokines, allergy, children, breast-feeding, environmental factors.

### Защитный эффект грудного вскармливания: клинические исследования

Кормление исключительно грудным молоком (ГМ) (эксклюзивное грудное вскармливание – ГВ) рекомендовано ВОЗ в течение первого полугодия жизни [1]. Ряд авторов считает, что эксклюзивное ГВ в первые 4–6 месяцев жизни снижает риск развития аллергических заболева-

ний (АЗ) [2]. Однако протективный эффект ГВ в отношении АЗ является поводом для дискуссий. В течение последних десятилетий лет целый ряд исследований ставил перед собой задачу найти ответ на этот вопрос и несколько мета-анализов суммировали данные, полученные в результате этих исследований.

Так, Gdalevich и Mimouni [3, 4] провели два

### Контактная информация:

Мунблит Даниил Борисович – MD, MSc, отделение педиатрии, Имперский Колледж Лондона  
Адрес: Norfolk Place, St Mary's Campus, London W2 1PG, United Kingdom  
E-mail: daniel.munblit08@imperial.ac.uk

Статья поступила 2.02.16,  
принята к печати 28.04.16.

### Contact Information:

Munblit Daniil Borisovich – MD., MSc, Pediatrics Department, Imperial College London  
Address: Norfolk Place, St Mary's Campus, London W2 1PG, United Kingdom  
E-mail: daniel.munblit08@imperial.ac.uk

Received on Mar. 3, 2016.  
submitted for publication on Apr. 28, 2016.

мета-анализа, объединив результаты около 200 англоязычных статей (1966–1999 гг.) с широким спектром мнений: от протективного эффекта ГВ до положительной его ассоциации с атопией. Их результаты дают основание утверждать, что отмечается протективный эффект [OR=0,52, 95% CI 0,35–0,79] ГВ на протяжении 3 месяцев в отношении развития бронхиальной астмы у детей из группы риска по развитию АЗ [3], а также значительный защитный эффект [OR 0,58, 95% CI 0,41–0,92] ГВ в отношении развития атопического дерматита (АтД) у детей с атопией в семейном анамнезе [4]. Однако для рекомендации ГВ в качестве профилактики респираторной аллергии у детей при наличии ближайших родственников с АЗ в анамнезе [3] необходимы масштабные популяционные исследования, поскольку вне группы риска по развитию АЗ защитный эффект менее выражен [4].

В 2003 г. был проведен анализ 56 исследований о влиянии различных видов вскармливания на последующее развитие атопии у ребенка [5]. По его результатам, ГВ снижало риск развития обструктивного бронхита и АтД, а эксклюзивное ГВ – риск развития БА. 4 месяца ГВ усиливали защитные эффекты, которые сохранялись в первую декаду жизни. Длительность защитного эффекта дискутабельна: исследование ALSPAC установило его ослабевание к 7–8 годам в отношении развития обструктивного синдрома [6]. У детей с предрасположенностью к атопии и аллергией в семейном анамнезе защитные эффекты более выражены и могут снизить риск развития аллергии к белкам коровьего молока (БКМ) [5]. Интересно, что в 2004 г. авторы German Infant Nutritional Intervention (GINI) Program (3903 детей) пришли к схожим выводам: эксклюзивное ГВ может снизить риск развития АтД в сравнении с искусственным вскармливанием (ИВ) молочной смесью на основе БКМ у детей с историей АЗ в семейном анамнезе [7].

Одной из естественных проблем при исследовании ГВ является сложность рандомизации участников, что обусловлено этическими соображениями. Ни одно из вышеперечисленных исследований не являлось рандомизированным контролируемым. Единственное подобное исследование было проведено Kramer и соавт. в Беларуси. На большой выборке (17 046 пар мать–ребенок) был отмечен меньший риск развития АтД при длительном или эксклюзивном ГВ. Защитный эффект пролонгированного или эксклюзивного ГВ на развитие БА выявлен не был [8, 9]. За 6,5 лет наблюдения риск появления симптомов аллергии и диагноза АЗ, положительных результатов кожных прик-тестов не снизился. Наоборот, отмечен повышенный риск сенсибилизации к респираторным аллергенам [9].

Большинство исследований имеет методологические недостатки, поскольку «золотого стандарта» – проспективного рандомизированного контролируемого исследования – распределение

детей на группы ГВ или ИВ достичь невозможно и неэтично. Kramer и соавт. подчеркивают, что многие исследования, включенные в вышеупомянутые мета-анализы, обладают другими недостатками, например, не учитывают длительность и степень эксклюзивности ГВ, по-разному оценивают семейный аллергологический анамнез и АЗ [10]. На сегодняшний день нет достаточного объема данных для того, чтобы сделать выводы о взаимосвязи между ГВ и развитием аллергии.

#### Иммунологически активные компоненты ГМ

ГМ способствует становлению иммунитета новорожденного с самых первых дней жизни. Этому способствует присутствие в его составе макрофагов, нейтрофилов, лимфоцитов, эпителиальных клеток, иммуноглобулина А (IgA), антимикробных пептидов, факторов роста, протеинов, вовлеченных в процессинг антигенов и их презентирование [11]. В последние 10 лет в молозиве и ГМ обнаружили целый ряд цитокинов и иммунологически активных молекул [12]: интерлейкины 1, 2, 3, 4, 5, 6, 8, 10, 12, 13, интерферон  $\gamma$ , фактор некроза опухолей TNF $\alpha$ , растворимая форма гликопротеина CD14; трансформирующие факторы роста TGF $\alpha$  и TGF $\beta$ 1, 2 и 3, эпидермальный фактор роста EGF, фактор роста гепатоцитов HGF и другие иммунологически активные молекулы. Их функции и физиологические эффекты возможного влияния на иммунную систему грудного ребенка до сих пор недостаточно ясны [13, 14]. Имеются данные о сохранении функциональной активности цитокинов молозива и ГМ в агрессивной среде желудка [11]. Этому способствует наличие ингибиторов протеаз в ГМ, которые ограничивают активность пищеварительных энзимов [15, 16], тем самым предотвращая переваривание цитокинов и помогая им достигнуть кишечника [11].

Данные большого количества исследований показали, что уровни иммунологически активных молекул в молозиве (молоке, которое продуцируется в первые 4–5 дней после родов [17]) существенно выше по сравнению со зрелым ГМ [18–21]. Ряд ученых предполагает, что это объясняется более высокой потребностью новорожденного в высоких концентрациях факторов роста и цитокинов в течение первых дней жизни для более активного развития иммунной системы ребенка [22, 23].

Иммунологический состав ГМ человека очень сложен, одних только белков в ГМ насчитывается порядка 300 [11], и не ограничивается нижеперечисленными иммунологически активными компонентами. Ниже приведено краткое описание наиболее исследованных на сегодняшний день иммунологических маркеров, входящих в состав ГМ.

**IL2** первично продуцируется активированными CD4+ Т-клетками. Осуществляет функцию регуляции пролиферации и поддержания подтипов Т- и NK-клеток. Наличие IL2 играет важную

роль в продолжительности жизни активированных Т-хелперных клеток и CD8+ цитотоксических Т-клеток. Всего несколько исследований определяли концентрации IL2 в молозиве/ГМ. Впервые его выявили Ustundag и соавт.: в молозиве матерей недоношенных детей уровень этого цитокина был выше по сравнению с молозивом матерей доношенных детей [19]. Эффект снижался на более поздних стадиях лактации и его влияние на развитие иммунной системы ребенка неясно. Наличие IL2 в ГМ выявляется более чем в 80% образцов молока в период с 15-го до 357-й день жизни [24].

**IL4** индуцирует дифференциацию Th0-хелперных клеток в Th2, выделяемый Th2-клетками IL4 индуцирует переключение продукции иммуноглобулинов В-клетками на класс IgE. Результаты определения IL4 в молозиве и ГМ у матерей с аллергией и без таковой противоречивы. Более высокие концентрации IL4 обнаружены в молозиве от матерей с аллергией [25]. Другие исследователи не обнаружили значимых различий, но IL4 чаще выявлялся в молозиве матерей с аллергией [26]. IL4 по сравнению с другими цитокинами молозива и ГМ обнаруживается реже, иногда только в 20% образцов молозива [27].

**IL5** продуцируется Th2- и тучными клетками и выполняет одну из ключевых ролей в продукции, активации и локализации эозинофилов. Сведения о IL5 молозива/ГМ в зависимости от аллергии матери содержатся лишь в нескольких исследованиях. Различий в зависимости от АД матери [28] или ее аллергии [25, 29] не выявлено. Уровни IL5 были низкими и в молозиве, и в ГМ и не изменялись значительно на первом году жизни [28]. В 1 мес IL5 обнаруживался менее чем в 10% образцов молозива/ГМ [25, 29]. Выявлена значительная корреляция между уровнями IL5 и IL10 в ГМ [25], что хорошо согласуется с существующим пониманием механизма взаимодействия цитокинов: IL10 подавляет продукцию IL12 и, соответственно, продукцию IFN $\gamma$ , устраняя одно из регуляторных влияний на активность Th2.

**IL10** оказывает выраженный противовоспалительный эффект, подавляя активацию макрофагов, Т-клеток, NK-клеток, что, в свою очередь, снижает синтез клеточных цитокинов и повышает выработку В-клетками IgG, IgA и IgM. IL10 присутствует не только в жидкой фракции ГМ, но и в жировом его слое. Иммунные свойства данного цитокина в молоке человека были продемонстрированы в экспериментальных исследованиях и проявлялись подавлением пролиферации лимфоцитов крови при добавлении человеческого ГМ; авторы отмечали, что это свойство утрачивается под действием анти-IL10-антител [30]. Существует разночтение в определении количества IL10 в молозиве/ГМ. Уровни исключительно ниже пороговых фиксировали Snijders и соавт. [31]. Шведские исследователи

выявили IL10 лишь в 12% образцов молозива и 6% – ГМ [25]. В противоположность им высокие концентрации IL10 обнаружены Garofallo в большинстве образцов молозива [32] и Marek и соавт. [26], выявившими IL10 во всех 76 случаях. Подобные различия в результатах могут объясняться временем взятия образцов. Высокие концентрации IL10 выявлены в молозиве в первые 24 ч или чуть позже, а в ГМ они снижались [32], в частности, в образцах молозива, полученных на 3–4-й день после родов [25]. Наличие АЗ у матери не связано с концентрацией IL10 в ГМ [26].

Источник **IL12** в человеческом молоке не известен. Возможно, это нейтрофилы, лимфоциты и макрофаги, которые можно обнаружить в первые месяцы лактации [33]. Предполагается, что у ребенка на ГВ под действием IL12 соблюдается баланс между Th2- и Th1-опосредованными ответами иммунной системы. Впервые IL12 в ГМ выявили в 1999 г. Вryan и соавт., обнаружившие этот цитокин в 62% образцов [34]. Взаимосвязи концентрации IL12 в ГМ с наличием атопии у матерей не установлено [31].

**IL13** первоначально описан как ингибитор продукции воспалительных цитокинов [35, 36]. Роль IL13 в молозиве неизвестна. Концентрация IL13 коррелирует с уровнями IL4, 5, 10 [25, 29]. IL13 обнаружен в 12 из 48 образцов (25%), в то время как Prokesova и соавт. обнаружили его почти во всех исследуемых образцах [28].

**IFN $\gamma$**  синтезируют CD4+ и CD8+ Т-клетки и NK-клетки. Он оказывает широкий спектр иммунорегуляторных эффектов на различные типы клеток. Под его влиянием усиливается ингибция Th2. IFN $\gamma$  также обнаруживали в молозиве и ГМ [37, 38], однако данные очень отличаются. Так, в исследовании Botcher и соавт. IFN $\gamma$  определялся менее чем в 10% образцов [25], а в работе Rudloff и соавт. не определялся ни в одном из 42 образцов [27]. В противоположность предыдущим исследованиям, Prokesova и соавт. удалось обнаружить IFN $\gamma$  в каждом опытном образце [28], что вновь поднимает вопрос о значительном варьировании содержания цитокинов в молозиве у различных исследователей.

**TGF $\beta$**  выполняет множественные функции в различных клеточных популяциях: вовлечен в эмбриогенез, канцерогенез и иммунный ответ [39]. В настоящее время обнаружены 3 типа белков, относящихся к семейству TGF $\beta$ . TGF $\beta$ 1 в наибольшей степени экспрессируется клетками иммунной системы [40]. Существует предположение о том, что TGF $\beta$  ГМ может снижать риск развития АЗ в дальнейшем [41]. В недавнем систематическом обзоре Oddy и соавт. анализируются сведения о взаимосвязи TGF $\beta$  человеческого молока с последующими иммунологическими особенностями детей [42]. В 8 из 12 исследований обнаружена взаимосвязь TGF $\beta$ 1 или TGF $\beta$ 2 в молозиве или ГМ с протективным эффектом в отношении развития АЗ.

Высокая гетерогенность результатов может объясняться различиями исследуемых популяций, дизайна, методологии, источников молока, изотипами TGF $\beta$ , времени сбора образцов, различиями в возрасте оценки проявлений аллергии, и, наконец, неэквивалентностью последних. Тем не менее, авторы констатируют, что TGF $\beta$  ГМ – важный иммунный фактор поддержания гомеостаза кишечника, регуляции воспаления, развития аллергии и формирования толерантности.

Потенциальный протективный эффект TGF $\beta$  от развития аллергии позволяет предположить, что возможно использование TGF $\beta$  в качестве активной добавки. В опытах на мышах было показано, что пероральное назначение TGF $\beta$  способно влиять на активность слизистой оболочки кишечника и запускать индукцию развития толерантности к высоким дозам антигена в диете [43]. Пероральное назначение TGF $\beta$  одновременно с аллергеном потенциально может являться рациональным подходом в первичной профилактике аллергопатологии у детей [44].

**Растворимый CD14 (sCD14)** – гликозил-фосфатидилинозитол-связанный белок клеточной мембраны (mCD14), чаще экспрессируемый на зрелых моноцитах. Функционирует как ко-рецептор для бактериальных липополисахаридов (ЛПС) и запускает воспалительный ответ. Savilahti и соавт. изучали влияние sCD14 молозива (наравне с IgA и TGF $\beta$ ) на развитие атопии у детей до 4 лет. Из 4676 детей были отобраны две группы, отличавшиеся по продолжительности ГВ (3,5 мес или 2 нед), которые затем были разделены на подгруппы в зависимости от наличия или отсутствия атопии. Установлено, что дети с симптомами атопии и сенсibilизацией к 4 годам получали молозиво со значительно более низкими концентрациями sCD14, чем те, у которых сенсibilизации не было. Jones и соавт. оценивали уровни sCD14 в ГМ и последующее развитие экземы [45]. Авторами было обнаружено, что дети, имевшие экзему в 3 месяца, получали ГМ с более низким содержанием sCD14, чем дети без экземы.

#### **Факторы способные оказать влияние на иммунные составляющие молозива/ГМ**

В течение последних 20 лет ученые активно изучают влияние различных факторов окружающей среды и материнских факторов на иммунологический состав ГМ. Данные большого количества исследований дают основания полагать, что такие факторы, как страна проживания [46], диета [47, 48], курение [49] оказывают влияние на иммунологический состав ГМ.

Недавно опубликованные данные исследования Sozanska и соавт. подчеркивают важность влияния факторов окружающей среды на развитие АЗ [50]. Данное исследование показало, что резкое повышение распространенности атопии в Польше за очень короткий промежуток времени было ассоциировано со снижением контакта с

фермерским образом жизни в результате введения новых агрокультурных законов на территории Евросоюза. Иммунологический состав ГМ также отличается в зависимости от места проживания матери. Так, ученые из Скандинавии обнаружили более высокие уровни TGF $\beta$  в ГМ у женщин из Мали [51] по сравнению с женщинами из Швеции, а Peroni и соавт. показали, что уровни TGF $\beta$  и IL10 выше в ГМ у матерей, проживающих в сельской местности, по сравнению с матерями, живущими в городской среде [21]. Обращает на себя внимание разница в уровнях регуляторных цитокинов в ГМ матерей, проживающих в разных населенных пунктах. Это может быть дополнительным защитным механизмом, объясняющим более низкий риск развития АЗ у детей, проживающих в местности с более высокой бактериальной нагрузкой.

Диетические предпочтения, распространенные в конкретном географическом регионе, могут также влиять на иммунологический состав ГМ, что показали Urwin и соавт., отметив более высокие концентрации sCD14, sIgA и TGF $\beta$ 1 в молозиве женщин, проживающих в речных и озерных регионах Китая по сравнению с другими регионами [48], что, по всей видимости, связано с большим количеством рыбы в диете. Необходимо отметить, что диета матери может влиять как на уровни цитокинов, так и на состав жирных кислот [52]. Так, применение определенных пробиотиков во время беременности и лактации, а именно *L. rhamnosus HN001* или *B. lactis HN019*, приводит к повышению уровней IFN $\gamma$  в пуповинной крови, TGF $\beta$ 1 и IgA в ГМ и более низким уровням sCD14 в плазме в сравнении с группой плацебо [53]. У женщин, употреблявших *L. rhamnosus GG*, *L. acidophilus La-5* и *B. animalis subsp. lactis Bb-12* с 36-й недели беременности до 3 месяцев постнатально во время ГВ, снижалась частота развития АтД у их детей в сравнении с группой плацебо [54]. Существуют противоречивые сведения о корреляции повышенного уровня  $\omega$ -3 длинноцепочечных полиненасыщенных жирных кислот (ПНЖК) в молозиве с сенсibilизацией к пищевым и ингаляционным аллергенам к 6-му и 24-му месяцу жизни [55]. Манифестацию аллергии связывают с соотношением линолевой и арахидоновой кислот в диете, употреблением  $\omega$ -3 ПНЖК и модификацией экспрессии ферментов. Рыбий жир в рационе беременной женщины снижает цитокиновый ответ на аллергены и способствует менее тяжелому течению АтД у ребенка в сравнении с оливковым маслом, которое использовалось в качестве плацебо [56]. В ГМ матерей при наличии атопии у их детей уровни  $\omega$ -3 были низкими [57–59]. Необходимы дальнейшие исследования, в т.ч. взаимосвязи активности и биодоступности  $\omega$ -3 и  $\omega$ -6 длинноцепочечных ПНЖК во время ГВ с развитием атопии у детей [60].

Гигиеническая гипотеза по-прежнему остается основным объяснением возрастающей рас-

пространности АЗ [61]. Количество предыдущих родов [62] и способ рождения ребенка [63] могут влиять не только на риск развития АЗ, но и на иммунологический профиль молозива и ГМ. Авторы исследования, проведенного в Бразилии, отмечают, что в молозиве повторнорожавших женщин концентрации IgA и IgM выше в сравнении с первородящими. Интересно, что подобный эффект отмечается при кесаревом сечении по сравнению с естественными родами [64]. Также при анализе данных исследований, проведенных на сегодняшний день, можно проследить определенную закономерность – уровни цитокинов в молоке повторнородящих матерей выше по сравнению с первородящими [65–67]. Можно предположить, что повышенный уровень ряда цитокинов, в особенности регуляторных, таких как IL10, является дополнительным объяснением сниженного риска развития АЗ с каждым последующим рожденным ребенком.

Иммунотоксичность табачного дыма обще-

известна. Данные ряда исследований показывают, что наличие табачного дыма в окружении беременной может влиять на иммунологическую функцию молочных желез. Так, итальянские ученые выявили значительное снижение уровня провоспалительного цитокина IL1 $\alpha$  в молозиве курящих матерей [49].

### Заключение

Воздействие ГМ на иммунную систему ребенка, особенно на первом году жизни, является чрезвычайно важным для понимания влияния ГВ на последующее развитие атопии и аллергии. Изучение факторов окружающей среды и материнских факторов, которые могут влиять на иммунологический состав ГМ, представляется очень перспективным направлением, поскольку состав ГМ может быть модулируем приемом различных добавок, что в свою очередь может привести к снижению риска развития АЗ у ребенка.

### Литература

1. WHO, Global Strategy for Infant and Young Child Feeding, The Optimal Duration of Exclusive Breastfeeding, 2001. World Health Organization: Geneva, 2001.
2. Arshad SH. Primary prevention of asthma and allergy. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2005; 116 (1): 3–14.
3. Gdalevich M, Mimouni D, Mimouni M. Breast-feeding and the risk of bronchial asthma in childhood: a systematic review with meta-analysis of prospective studies. *J. Pediatr.* 2001; 139 (2): 261–266.
4. Gdalevich M, Mimouni D, David M, Mimouni M. Breast-feeding and the onset of atopic dermatitis in childhood: a systematic review and meta-analysis of prospective studies. *J. Am. Acad. Dermatol.* 2001; 45 (4): 520–527.
5. van Odiijk J, Kull I, Borres MP, et al. Breastfeeding and allergic disease: a multidisciplinary review of the literature (1966–2001) on the mode of early feeding in infancy and its impact on later atopic manifestations. *Allergy.* 2003; 58 (9): 833–843.
6. Elliott L, Henderson J, Northstone K, et al. Prospective study of breast-feeding in relation to wheeze, atopy, and bronchial hyperresponsiveness in the Avon Longitudinal Study of Parents and Children (ALSPAC). *J. Allergy Clin. Immunol.* 2008; 122 (1): 49–54.
7. Laubereau B, Brockow I, Zirngibl A, et al. Effect of breast-feeding on the development of atopic dermatitis during the first 3 years of life—results from the GINI-birth cohort study. *J. Pediatr.* 2004; 144 (5): 602–607.
8. Kramer MS, Chalmers B, Hodnett ED, et al. Promotion of Breastfeeding Intervention Trial (PROBIT): a randomized trial in the Republic of Belarus. *JAMA.* 2001; 285 (4): 413–420.
9. Kramer MS, Matush L, Vanilovich I, et al. Effect of prolonged and exclusive breast feeding on risk of allergy and asthma: cluster randomised trial. *BMJ.* 2007; 335 (7624): 815.
10. Kramer MS. Does breast feeding help protect against atopic disease? Biology, methodology, and a golden jubilee of controversy. *J. Pediatr.* 1988; 112 (2): 181–190.
11. D'Alessandro A, Scaloni A, Zolla L. Human milk proteins: an interactomics and updated functional overview. *J. Proteome. Res.* 2010; 9 (7): 3339–3373.
12. Playford RJ, Macdonald CE, Johnson WS. Colostrum and milk-derived peptide growth factors for the treatment of gastrointestinal disorders. *Am. J. Clin. Nutr.* 2000; 72 (1): 5–14.
13. Garofalo RP, Goldman AS. Cytokines, chemokines, and colony-stimulating factors in human milk: the 1997 update. *Biol. Neonate.* 1998; 74 (2): 134–142.
14. Lawrence RM, Pane CA. Human breast milk: current concepts of immunology and infectious diseases. *Curr. Probl. Pediatr. Adolesc. Health Care.* 2007; 37 (1): 7–36.
15. Lonnerdal B. Nutritional and physiologic significance of human milk proteins. *Am. J. Clin. Nutr.* 2003; 77 (6): 1537S–1543S.
16. Chowanadisai W, Lonnerdal B. Alpha(1)-antitrypsin and antichymotrypsin in human milk: origin, concentrations, and stability. *Am. J. Clin. Nutr.* 2002; 76 (4): 828–833.
17. Darragh A, Lonnerdal B. Human Milk, in *Encyclopedia of Dairy Sciences*. Second Ed. Elsevier, 2011: 581–590.
18. Takahata Y, Takada H, Nomura A, et al. Interleukin 18 in human milk. *Pediatr. Res.* 2001; 50 (2): 268–272.
19. Ustundag B, Yilmaz E, Dogan Y, et al. Levels of cytokines (IL1-beta, IL2, IL6, IL8, TNF-alpha) and trace elements (Zn, Cu) in breast milk from mothers of preterm and term infants. *Mediators Inflamm.* 2005; (6): 331–336.
20. Rigotti E, Piacentini GL, Ressa M, et al. Transforming growth factor-beta and interleukin-10 in breast milk and development of atopic diseases in infants. *Clin. Exp. Allergy.* 2006; 36 (5): 614–618.
21. Peroni DG, Pescolliderung L, Piacentini GL, et al. Immune regulatory cytokines in the milk of lactating women from farming and urban environments. *Pediatr. Allergy. Immunol.* 2010; 21 (6): 977–982.
22. Verhasselt V. Neonatal tolerance under breastfeeding influence: the presence of allergen and transforming growth factor-beta in breast milk protects the progeny from allergic asthma. *J. Pediatr.* 2010; 156 (2) (Suppl.): 16–20.
23. Munblit D, Boyle RJ, Warner JO. Factors affecting breast milk composition and potential consequences for development of the allergic phenotype. *Clin. Exp. Allergy.* 2015; 45 (3): 583–601.
24. Bryan DL, Forsyth KD, Gibson RA, Hawkes JS. Interleukin 2 in human milk: a potential modulator of lymphocyte development in the breastfed infant. *Cytokine.* 2006; 33 (5): 289–293.
25. Bottcher MF, Jenmalm MC, Garofalo RP, Bjorksten B. Cytokines in breast milk from allergic and nonallergic mothers. *Pediatr. Res.* 2000; 47 (1): 157–162.
26. Marek A, Zagiński M, Liberek A, et al. TGF-beta 1, IL10 and IL4 in colostrum of allergic and nonallergic mothers. *Acta Biochim. Pol.* 2009; 56 (3): 411–414.
27. Rudloff S, Niehues T, Rutsch M, et al. Inflammation markers and cytokines in breast milk of atopic and nonatopic women. *Allergy.* 1999; 54 (3): 206–211.
28. Prokesova L, Ladinova-Zadnikova R, Zizka J, et al. Cytokine levels in healthy and allergic mothers and their children during the first year of life. *Pediatr. Allergy. Immunol.* 2006; 17 (3): 175–183.
29. Bottcher MF, Jenmalm MC, Bjorksten B. Cytokine, chemokine and secretory IgA levels in human milk in relation to atopic disease and IgA production in infants. *Pediatr. Allergy. Immunol.* 2003; 14 (1): 35–41.
30. Garofalo R. Cytokines in human milk. *J. Pediatr.* 2010; 156 (2) (Suppl.): 36–40.
31. Snijders BE, Damoiseaux JG, Penders J, et al. Cytokines and soluble CD14 in breast milk in relation with

- atopic manifestations in mother and infant (KOALA Study). *Clin. Exp. Allergy*. 2006; 36 (12): 1609–1615.
32. *Garofalo R, Chheda S, Mei F, et al.* Interleukin 10 in human milk. *Pediatr. Res.* 1995; 37 (4) (Pt. 1): 444–449.
33. *Smith CW, Goldman AS.* The cells of human colostrum. I. In vitro studies of morphology and functions. *Pediatr. Res.* 1968; 2 (2): 103–109.
34. *Bryan DL, Hawkes JS, Gibson RA.* Interleukin 12 in human milk. *Pediatr. Res.* 1999; 45 (6): 858–859.
35. *Minty A, Chalon P, Derocq JM, et al.* Interleukin 13 is a new human lymphokine regulating inflammatory and immune responses. *Nature*. 1993; 362 (6417): 248–250.
36. *McKenzie AN, Culpepper JA, de Waal Malefyt R, et al.* Interleukin 13, a T-cell-derived cytokine that regulates human monocyte and B-cell function. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1993; 90 (8): 3735–3739.
37. *Bocci V, von Bremen K, Corradeschi F, et al.* Presence of interferon-gamma and interleukin-6 in colostrum of normal women. *Lymphokine Cytokine Res.* 1993; 12 (1): 21–24.
38. *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 (4): 306–313.
39. *Blobe GC, Schiemann WP, Lodish HF.* Role of transforming growth factor beta in human disease. *N. Engl. J. Med.* 2000; 342 (18): 1350–1358.
40. *Li MO, Wan YY, Sanjabi S, et al.* Transforming growth factor-beta regulation of immune responses. *Annu Rev. Immunol.* 2006; 24: 99–146.
41. *Kalliomaki M, Ouwehand A, Arvilommi H, et al.* Transforming growth factor-beta in breast milk: a potential regulator of atopic disease at an early age. *J. Allergy. Clin. Immunol.* 1999; 10 (6): 1251–1257.
42. *Oddy WH, Rosales F.* A systematic review of the importance of milk TGF-beta on immunological outcomes in the infant and young child. *Pediatr. Allergy. Immunol.* 2010; 21 (1) (Pt. 1): 47–59.
43. *Ando T, Hatsushika K, Wako M, et al.* Orally administered TGF-beta is biologically active in the intestinal mucosa and enhances oral tolerance. *J. Allergy. Clin. Immunol.* 2007; 120 (4): 916–923.
44. *Nakao A.* The role and potential use of oral transforming growth factor-beta in the prevention of infant allergy. *Clin. Exp. Allergy*. 2010; 40 (5): 725–730.
45. *Jones CA, Holloway JA, Popplewell EJ, et al.* Reduced soluble CD14 levels in amniotic fluid and breast milk are associated with the subsequent development of atopy, eczema, or both. *J. Allergy. Clin. Immunol.* 2002; 109 (5): 858–866.
46. *Orivuori L, Loss G, Roduit C, et al.* Soluble immunoglobulin A in breast milk is inversely associated with atopic dermatitis at early age: the PASTURE cohort study. *Clin. Exp. Allergy*. 2014; 44 (1): 102–112.
47. *Kuitunen M, Kukkonen AK, Savilahti E.* Impact of maternal allergy and use of probiotics during pregnancy on breast milk cytokines and food antibodies and development of allergy in children until 5 years. *Int. Arch. Allergy. Immunol.* 2012; 159 (2): 162–170.
48. *Urwin HJ, Miles EA, Noakes PS, et al.* Salmon consumption during pregnancy alters fatty acid composition and secretory IgA concentration in human breast milk. *J. Nutr.* 2012; 142 (8): 1603–1610.
49. *Zanardo V, Nicolussi S, Cavallin S, et al.* Effect of maternal smoking on breast milk interleukin-1alpha, beta-endorphin, and leptin concentrations and leptin concentrations. *Environ. Health Perspect.* 2005; 113 (10): 1410–1413.
50. *Sozanska B, Blaszczyk M, Pearce N, Cullinan P.* Atopy and allergic respiratory disease in rural Poland before and after accession to the European Union. *J. Allergy. Clin. Immunol.* 2014; 133 (5): 1347–1353.
51. *Holmlund U, Amoudruz P, Johansson MA, et al.* Maternal country of origin, breast milk characteristics and potential influences on immunity in offspring. *Clin. Exp. Immunol.* 2010; 162 (3): 500–509.
52. *Prescott SL, Dunstan JA.* Prenatal fatty acid status and immune development: the pathways and the evidence. *Lipids*. 2007; 42 (9): 801–810.
53. *Prescott SL, Wickens K, Westcott L, et al.* Supplementation with *Lactobacillus rhamnosus* or *Bifidobacterium lactis* probiotics in pregnancy increases cord blood interferon-gamma and breast milk transforming growth factor-beta and immunoglobulin A detection. *Clin. Exp. Allergy*. 2008; 38 (10): 1606–1614.
54. *Dotterud CK, Storro O, Johnsen R, Oien T.* Probiotics in pregnant women to prevent allergic disease: a randomized, double-blind trial. *Br. J. Dermatol.* 2010; 163 (3): 616–623.
55. *Stoney RM, Woods RK, Hosking CS, et al.* Maternal breast milk long-chain n-3 fatty acids are associated with increased risk of atopy in breastfed infants. *Clin. Exp. Allergy*. 2004; 34 (2): 194–200.
56. *Dunstan JA, Mori TA, Barden A, et al.* Fish oil supplementation in pregnancy modifies neonatal allergen-specific immune responses and clinical outcomes in infants at high risk of atopy: a randomized, controlled trial. *J. Allergy. Clin. Immunol.* 2003; 112 (6): 1178–1184.
57. *Reichardt P, Muller D, Posselt U, et al.* Fatty acids in colostrum from mothers of children at high risk of atopy in relation to clinical and laboratory signs of allergy in the first year of life. *Allergy*. 2004; 59 (4): 394–400.
58. *Duchen K, Casas R, Fageras-Bottcher M, et al.* Human milk polyunsaturated long-chain fatty acids and secretory immunoglobulin A antibodies and early childhood allergy. *Pediatr. Allergy. Immunol.* 2000; 11 (1): 29–39.
59. *Kankaanpaa P, Nurmela K, Erkkila A, et al.* Polyunsaturated fatty acids in maternal diet, breast milk, and serum lipid fatty acids of infants in relation to atopy. *Allergy*. 2001; 56 (7): 633–638.
60. *Enke U, Seyfarth L, Schleussner E, Markert UR.* Impact of PUFA on early immune and fetal development. *Br. J. Nutr.* 2008; 100 (6): 1158–1168.
61. *Strachan DP.* Hay fever, hygiene, and household size. *BMJ*. 1989; 299 (6710): 1259–1260.
62. *Strachan DP.* Family size, infection and atopy: the first decade of the «hygiene hypothesis». *Thorax*. 2000; 55 (Suppl. 1): 2–10.
63. *Prior E, Santhakumaran S, Gale C, et al.* Breastfeeding after cesarean delivery: a systematic review and meta-analysis of world literature. *Am. J. Clin. Nutr.* 2012; 95 (5): 1113–1135.
64. *Striker GA, Casanova LD, Nagao AT.* [Influence of type of delivery on A, G and M immunoglobulin concentration in maternal colostrum]. *J. Pediatr. (Rio J.)*. 2004; 80 (2): 123–128.
65. *Walter J, Kuhn L, Ghosh MK, et al.* Low and undetectable breast milk interleukin-7 concentrations are associated with reduced risk of postnatal HIV transmission. *J. Acquir. Immune. Defic. Syndr.* 2007; 46 (2): 200–207.
66. *Groer MW, Shelton MM.* Exercise is associated with elevated proinflammatory cytokines in human milk. *J. Obstet. Gynecol. Neonatal. Nurs.* 2009; 38 (1): 35–41.
67. *Amoudruz P, Holmlund U, Schollin J, et al.* Maternal country of birth and previous pregnancies are associated with breast milk characteristics. *Pediatr. Allergy. Immunol.* 2009; 20 (1): 19–29.